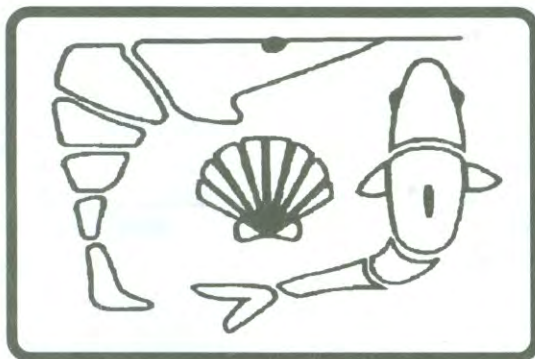




EL SABER DE MIS HIJOS  
HARÁ MI GRANDEZA

**UNIVERSIDAD DE SONORA**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ACUACULTURA**



**VARIABILIDAD GENÉTICA DE UN LINAJE CULTIVADO Y UNA POBLACIÓN  
FERAL DE LA TILAPIA DEL NILO, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758),  
DEL ESTADO DE OAXACA**

**T E S I S**

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

Presenta:

**ALFREDO VELASCO MURILLO**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



“El saber de mis hijos  
hará mi grandeza”



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

# CONTENIDO

|  |     |
|--|-----|
| <b>RESUMEN.</b>  | i   |
| <b>ABSTRACT.</b>   | ii  |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS.</b>                                  | iii |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS.</b>                                   | iv  |
| <b>I.-INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.</b>                     | 1   |
| <b>II.-OBJETIVOS.</b>                                      | 9   |
| II.1.-Objetivo general.                                    | 9   |
| II.2.-Objetivos particulares.                              | 9   |
| <b>III.-MATERIALES Y MÉTODOS.</b>                          | 10  |
| III.1.-Especímenes y obtención de muestras.                | 9   |
| III.2.-Extracción de proteínas.                            | 10  |
| III.3.-Electroforesis de alozimas.                         | 11  |
| III.4.-Revelado de enzimas.                                | 11  |
| III.5.-Interpretación de zimogramas.                       | 13  |
| III.6.- Análisis de resultados.                            | 13  |
| <b>IV.-RESULTADOS.</b>                                     | 15  |
| <b>V.-DISCUSIONES.</b>                                     | 30  |
| <b>VI.-CONCLUSIONES.</b>                                   | 35  |
| <b>VII.-RECOMENDACIONES.</b>                               | 36  |
| <b>VIII.-LITERATURA CITADA.</b>                            | 37  |
| <b>IX.- APENDICES.</b>                                     | 49  |
| IX.1.-Soluciones de revelado para los sistemas enzimáticos | 49  |
| IX.2.- Soluciones amortiguadoras para electroforesis       | 54  |

## RESUMEN.

En la presa Benito Juárez del estado de Oaxaca se encuentra establecida la tilapia *Oreochromis niloticus* y presenta parámetros de producción inadecuados a pesar de tener un origen acuícola. Con el objetivo de medir la variabilidad genética de estos organismos y compararla con la de los organismos producidos en un laboratorio de alevinaje, se realizó un estudio a nivel de alozimas. Se colectaron 59 individuos en la presa (denominada “población feral”) y 58 organismos provenientes del Centro Acuícola Jalapa del Marqués (denominada “población cultivada”). Se analizaron 13 sistemas enzimáticos y proteínas generales para revelar 27 loci con 65.4% de polimorfismo para la población feral y 53.8% para la cultivada. Los loci considerados polimórficos con el criterio del 0.95 fueron *AAT\**, *ADH-1\**, *EST-1\**, *EST-2\**, *EST-3\**, *GAP-1\**, *GAP-2\**, *IDH\**, *LDH-2\**, *LDH-3\**, *MEZ-1\**, *MEZ-2\**, *ODH\**, *PGM-2\**, *XDH\**, *PTO-3\** y *PTO-4\**. La heterocigosis promedio observada fue de  $0.044 \pm 0.003$  para los organismos ferales y de  $0.012 \pm 0.005$  para los cultivados siendo ambas significativamente diferentes. En ambas muestras la heterocigosis observada fue significativamente menor a la esperada. La mayoría de los loci polimórficos se encontraron en desequilibrio de Hardy-Weinberg por deficiencia de heterocigotos. Esto influyó en el índice de endogamia *Fis* que presentó un valor promedio del 83.9%. De los 17 loci polimórficos, seis presentaron diferencias en la distribución de las frecuencias alélicas, lo que indica que ambas muestras tienen una estructura genética poblacional diferente. De hecho, se puede decir que de la diversidad total, el 4.2% se debe a diferencias genéticas, de acuerdo al índice *Fst*. Se concluye que las tilapias provenientes de la presa Benito Juárez y las del laboratorio de producción tienen una variabilidad genética inadecuada lo que repercute en la economía del sector social que depende de este recurso.



## ABSTRACT

In the Benito Juárez dam in Oaxaca, México, the tilapia *Oreochromis niloticus* is an established fishery resource with bad production parameters besides its hatchery origin. The objective of this study was to measure the allozyme genetic variability of the tilapia from the Benito Juárez dam and from a hatchery facility. Fifty nine organisms were sampled from the dam (called “wild population”) and fifty eight from Centro Acuícola Jalapa del Marquez (called “cultured population”). Thirteen enzymatic systems and general proteins revealed 27 loci with polymorphisms of 65.4% for wild population and 53.8% for cultured population. The polymorphic loci at 0.95 criterion were *AAT\**, *ADH-1\**, *EST-1\**, *EST-2\**, *EST-3\**, *GAP-1\**, *GAP-2\**, *IDH\**, *LDH-2\**, *LDH-3\**, *MEZ-1\**, *MEZ-2\**, *ODH\**, *PGM-2\**, *XDH\**, *PTO-3\** and *PTO-4\**. The mean observed heterozygosity was  $0.044\pm 0.003$  for wild organisms, and  $0.012\pm 0.005$  for the cultured ones, with statistical differences among them. In both samples, the observed heterozygosity was lower than expected. The majority of the polymorphic loci were out of Hardy-Weinberg equilibrium because of a heterozygote deficiency. This influenced the *Fis* inbreeding index which showed a mean value of 83.9%. From 17 polymorphic loci, six showed differences in allelic frequencies, evidencing differences in population genetic structure. In this way, 4.2% of total diversity is attributable to genetic differences among samples according to *Fst*. The tilapias from Benito Juarez dam and the hatchery facility had an inadequate genetic variability with adverse effects over the people that use this resource.

## ÍNDICE DE TABLAS

| TABLA |  | PÁGINA |
|-------|--|--------|
| I     | Sistemas enzimáticos, número asignado por la Comisión de Enzimas <sup>+</sup> (No. C.E.), loci revelados, tejidos y soluciones amortiguadoras, utilizados para el análisis de alozimas en el estudio de variabilidad genética en <i>Oreochromis niloticus</i> .  | 12     |
| II    | Variabilidad genética de <i>Oreochromis niloticus</i> en dos poblaciones analizadas en la presa benito Juárez del Estado de Oaxaca.  | 16     |
| III   | Heterocigosis observada ( <i>Ho</i> ) y esperada ( <i>He</i> ) para dos poblaciones de <i>Oreochromis niloticus</i> de la presa Benito Juárez del Estado de Oaxaca.  | 17     |
| IV    | Frecuencias alélicas de los loci polimorficos y valores de significancia de la prueba <i>G</i> de dos poblaciones de tilapia del Estado de Oaxaca.   | 18     |
| V     | Frecuencia observada (F.O.), frecuencia esperada (F.E.), prueba de bondad de ajuste de $\chi^2$ para el equilibrio de Hardy-Weinberg, índice de fijación ( <i>F</i> ) y Coeficiente <i>D</i> para los fenotipos en los 17 loci polimorficos en una población feral de <i>Oreochromis niloticus</i> del Estado de Oaxaca. | 21     |
| VI    | Frecuencia observada (F.O.), frecuencia esperada (F.E.), prueba de bondad de ajuste de $\chi^2$ para el equilibrio de Hardy-Weinberg, índice de fijación ( <i>F</i> ) y Coeficiente <i>D</i> para los fenotipos en los 14 loci polimorficos de <i>Oreochromis niloticus</i> un linaje cultivado en el Estado de Oaxaca.  | 24     |
| VII   | Frecuencia observada (F.O.) y frecuencia esperada (F.E.) de los fenotipos homocigotos, heterocigotos y otros diferentes del mas común para los loci polimórficos multialélicos, y resumen de la prueba de bondad de ajuste de $\chi^2$ de conformidad al equilibrio de Hardy-Weinberg en la población feral.             | 27     |
| VIII  | Frecuencia observada (F.O.) y frecuencia esperada (F.E.) de los fenotipos homocigotos, heterocigotos y otros diferentes del mas común para los loci polimórficos multialélicos, y resumen de la prueba de bondad de ajuste de $\chi^2$ de conformidad al equilibrio de Hardy-Weinberg en la población cultivada.         | 28     |

|    |  |    |
|----|--|----|
| IX | Estimados del coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) y coeficientes de diferenciación ( $F_{st}$ ), así como sus respectivos valores estadísticos para $\chi^2$ para las pruebas de hipótesis $F_{is}= 0$ y $F_{st}= 0$ para ambas poblaciones. | 29 |
|----|--|----|

## ÍNDICE DE FIGURAS

| FIGURA |   | PÁGINA |
|--------|---|--------|
| 1      | Localización de la presa Benito Juárez en el Estado de Oaxaca | 10     |



## I.-INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

La acuicultura es una de las mejores técnicas ideadas por el hombre para incrementar la disponibilidad de alimento y se presenta como una alternativa para la administración de los recursos acuáticos, esta como actividad multidisciplinaria, constituye una empresa productiva que utiliza los conocimientos sobre biología, ingeniería y ecología. Según la clase de organismos que se cultivan, se ha dividido en varios tipos, siendo uno de los más desarrollados la *piscicultura* o cultivo de peces. Los estudiosos consideran que los primeros organismos acuáticos que el hombre comió fueron peces que provenían de los ríos, lagos y otros sistemas de agua dulce y que aprendió a cultivarlos en estanques rústicos, posiblemente desde 2000 años antes de la era actual (Cifuentes-Lemus *et al.*, 1997).

Debido a que la práctica de la acuicultura requiere del manejo de una o varias especies de organismos, es fundamental el conocimiento de su biología, en especial de su ciclo de vida, tipos de alimentación, reproducción, genética, conversión del alimento y migraciones. Además, es necesario aplicar los conocimientos aportados por la ecología, la limnología y la oceanografía, basados en las cadenas de alimentación, pirámides de biomasa, fertilización, mejoramientos del hábitat; así como los criterios adecuados para la introducción de nuevas especies en los cuerpos de agua. También se deben de considerar las características que presentan los organismos cultivados, en cuanto a su tamaño, valor nutritivo y aceptación al gusto del consumidor, para asegurar el éxito comercial del cultivo (Hepher y Pruginin, 1985).

La tilapia es un pez teleosteo de aguas cálidas cuyas pocas exigencias respiratorias, rápido crecimiento, facilidad para la reproducción, la buena calidad y sabor de su carne, una gran tolerancia a distintos entornos y su resistencia a muchas enfermedades habituales de los peces la hacen muy importante para la explotación comercial en piscifactorías. Su cultivo se lleva a cabo prácticamente en la mayoría de las regiones tropicales, subtropicales y templadas y ha recibido gran atención en años recientes (Jover-Cerdá *et al.*, 1998). Las tilapias son consideradas el segundo grupo más importante de peces cultivados en el mundo, con cerca de 100 países productores, solo superados por las carpas (FAO, 2002).

Asia domina la producción en la actualidad. El impacto de China, Hong Kong, Macao y Taipei en el comercio mundial a partir del 2002 es innegable, con exportaciones



que superan los 5 billones de dólares. En el mercado de los Estados Unidos sus valores de exportación superaron a la de los cuatro años anteriores, de 520 millones de dólares a 1.3 billones de dólares. Esto se refleja un aumento de 200,000 a casi 450,000 tns de tilapias (Castillo-Campo, 2004).

Este grupo de peces tropicales originarios de África ocupan el primer lugar en la producción pesquera epicontinental de la República Mexicana, con 65,826 toneladas anuales, donde 61,747 toneladas son obtenidas por acuicultura. Sin embargo, solo 793 toneladas son producidas por sistemas controlados lo que representa cerca del 1.3 % mientras que el resto es por pesquerías acuaculturales (CONAPESCA, 2002). Esto demuestra que en México no ha habido un avance importante desde el punto de vista zootécnico en estos peces (Muñoz, 2000).

Las primeras introducciones de tilapias a México fueron en 1964 en Temascal, Oaxaca procedentes de la Universidad de Auburn en Alabama, USA, de las cuales destacan *Tilapia rendalli*, *Oreochromis mossambicus* y *O. Aureus* (Morales, 1974), siendo posteriormente distribuidos en cuerpos de agua naturales y artificiales en regiones tropicales del país. La tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), fue introducida desde Panamá de la misma forma en 1978 (Barriga-Sosa *et al.*, 2004). Asimismo, su introducción en varios embalses mexicanos ha generado fuentes de alimentación y empleo en sitios en donde no existía una actividad pesquera importante (Basurto, 1984; Morales, 1991). El sureste de México es una región en donde el cultivo de tilapia esta muy difundido. En esa zona, el recurso se compone de cuatro especies principales: *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus*, *O. niloticus* y la mojarra sinaloense nativa, *Cichlasoma beanii*.

En México la tilapia se encuentra en prácticamente todos los mercados. Es uno de los grupos de peces con mayor futuro económico en cultivos comerciales y para programas de subsistencia alimenticia en virtud a que se adapta a diferentes sistemas de cultivo, tanto en agua dulce, salobre e incluso en agua de mar (Garduño y Muñoz, 1998). Nuestro país cuenta con un gran potencial para la producción de tilapia, debido a sus recursos hidrológicos, clima favorable y ubicación geográfica, esto último en el contexto de mercados internacionales. Sin embargo, para que se logre un mayor impulso en la tilapicultura, se deben vencer obstáculos como: La falta de crédito accesible y barato para nuevos granjeros, una fuerte dosis de capacitación y adiestramiento para los acuacultores existentes y futuros y también el desarrollo de linajes de especies de tilapia mejorada



genéticamente, sobre todo para producir variedades de rápido crecimiento (Muñoz, 2000). La hibridación específica es útil para producir una amplia variedad de combinaciones genéticas nuevas. En crías intensivas y extensivas de peces, realizadas en piscifactorías, se han llegado a realizar mejoramientos en producción sobre la lograda por cepas raciales autóctonas (Bakos, 1979, Wohlfarth y Moav, 1978; Yant *et al.*, 1976). El efecto heterótico esperado puede ser aumentado utilizando líneas parentales sumamente endogámicas, el resultado deseado es la homocigocidad de genes útiles en un producto sumamente estandarizado y uniforme. La hibridación interespecífica puede ser utilizada para producir grupos de progenie monosexual o estéril, que muestren rendimientos deseables de producción. Sin embargo La producción de crías monosexuales de tilapia logradas por la hibridación interespecífica está siendo investigada intensivamente (Pruginin, 1975), ya que ninguna combinación ha originado consistentemente una cría monosexual absoluta. Sin embargo, son posibles y se están utilizando cruces que producen proporciones sexuales con gran mayoría de machos.

Finalmente, sin olvidar el enorme compromiso que se tiene en impulsar la producción de alimentos para la población mexicana más pobre, el cultivo de tilapia para fines comerciales encuentra también un promisorio campo de desarrollo. En lo referente a producción para exportación, refiriéndose a un mercado internacional como lo es EUA, en donde el poder adquisitivo de su población es elevado y el consumo de productos acuícolas aumenta continuamente, se tiene en ello una oportunidad importante para incidir en ese mercado.

Para tener una idea de la producción y comercialización de tilapia en EUA, la importación de este producto del mercado estadounidense ha aumentado en un 226 por ciento, del año 2000 al 2005; por ejemplo, en los primeros 7 meses del 2005 se importaron 70,500 toneladas incrementándose en un 11% de lo referente en los mismos meses del 2004, con precios de filete en el mercado de hasta 3.85 dólares por libra a la fecha (FAO, 2005). El 95.84% de las exportaciones de filetes frescos de calidad a los Estados Unidos provinieron de tres países latinoamericanos y un país asiático: Ecuador con el 46.39%, Costa Rica con el 18.57%, Honduras con el 17.14% y China con el 13.73%. Un segundo grupo está conformado por tres países latinoamericanos y uno asiático. Estos muestran un crecimiento lento y exportaron el 3.37% del total. Brasil con el 1.12%, El Salvador con el 1.01%, Panamá con el 0.61% y China-Taipei con el 0.64%. En el sector de



las importaciones estadounidenses de filetes congelados, China mantuvo su liderazgo con el 75.03%. Un segundo grupo exportó el 23.37% del total: Indonesia con el 12.78%, China-Taipei con el 8.16% y Tailandia con el 2.43%. El 99.12% de las importaciones de tilapia entera provienen de dos países asiáticos: China con el 59.69% y China-Taipei con el 39.43% (Castillo-Campo, 2004). Esto demuestra lo importante del cultivo y venta de tilapia para exportar al vecino país del norte. A pesar de que ha aumentado su producción doméstica de esos peces, la importación se incrementó más de 2 veces en el mismo periodo, lo cual pone de manifiesto la importancia de producir tilapia de alta calidad. Una ventaja para México en la exportación a EUA, es por un lado la cercanía y por otro la posibilidad de vender especímenes vivos, los cuales tienen el mayor precio en el mercado de hasta 18 dólares por kilogramo (Garduño y Muñoz, 1998).

Han sido realizados estudios biológicos sobre las diferentes especies de tilapias, principalmente en el estado de Oaxaca, lugar en donde se inició la introducción de tilapia en el país (Basurto, 1984). Dentro de los factores prioritarios para desarrollar el cultivo de tilapia a un nivel de competencia en el mercado mundial, destaca el de mejoramiento genético mediante sistemas de selección o hibridación (Muñoz, 2000), ya que algunos híbridos de tilapia presentan mejor crecimiento, la supervivencia mejora notablemente y otros que son más tolerantes a la salinidad, esto último debido a que el cultivo puede extenderse a nuevas áreas con el objetivo de aumentar la producción de tilapia mexicana en el mercado internacional (Rowena *et al.*, 2004). Actualmente la hibridación en tilapias tiene como objetivo principal producir progenie con un alto porcentaje de machos, ya que tienen un mayor crecimiento con respecto a las hembras (Mair *et al.*, 1995).

Los recursos genéticos de la tilapia han sido pobremente manejados. Las primeras introducciones de stocks consistieron frecuentemente de un pequeño número de individuos. Estos fueron serialmente distribuidos por lo que los problemas genéticos han sido pasados de una granja a otra. Los problemas son de tres tipos. El primero es la pérdida de especies puras por el mal manejo de la hibridación interespecífica (Mc Andrew *et al.*, 1993). Un segundo problema son los niveles altos de depresión por endogamia. Eknath *et al.* (1993) compararon cuatro líneas cultivadas en Filipinas con cuatro líneas recién aisladas de poblaciones silvestres en África. Las líneas de mejor desempeño fueron aquellas aisladas más recientemente, lo cual es consistente con la idea de que las líneas domésticas experimentan depresión endogámica (Tave y Smitherman, 1980). Finalmente



hay evidencia de contaminación de líneas genéticamente mejoradas por introgresión (Macaranas *et al.*, 1997).

La manipulación genética en organismos de importancia para la acuicultura tiene como fin la mejora genética de los reservorios poblacionales y la eficiente explotación de los recursos bióticos (Rodríguez-Romero y Gasca-Montes de Oca, 1999). El poder determinar la estructura genética de las poblaciones silvestres nos da una herramienta para llevar a cabo un aprovechamiento de los recursos pesqueros y nos da información de cuales de los recursos entre las poblaciones son potenciales para ser cultivadas. En cuanto a la tilapia en México se ha hecho poco esfuerzo en el manejo del recurso, pese a que estos peces tienen 35 años de haberse introducido al país y que han resultado benéficos en lo relacionado a la producción de alimento (Garduño y Muñoz, 1998).

Los programas de mejoramiento genético parten de la conformación del pie de cría a partir de organismos silvestres de diferentes zonas geográficas para optimizar la variabilidad genética inicial. Desde el punto de vista genético la variabilidad genética es el atributo más importante en una población y constituye el material sobre el cual actúa la selección natural. A mayor variabilidad, mayores son las probabilidades de una población de enfrentar exitosamente los cambios en su ambiente. Sin embargo, en un stock de cultivo, el hombre también actúa sobre la variabilidad genética seleccionando los fenotipos que determinan algún carácter de importancia comercial; pero, si no se tiene un manejo adecuado de los reproductores puede deteriorarse la variabilidad genética del stock cultivado, debido a que representa un ecosistema frágil, inestable y fácil de distorsionar (Sbordoni *et al.*, 1986, 1987). El deterioro genético aumenta con la disminución del tamaño poblacional y ocurre principalmente por dos causas: endogamia y deriva génica. La primera se da a consecuencia del apareamiento entre reproductores emparentados dando lugar a la reducción de la variabilidad genética y decremento de la heterocigosis (Sbordoni *et al.*, 1987; Grant *et al.*, 1999). La deriva genética se debe a la pérdida de información genética durante el proceso reproductivo al azar entre generaciones (Gall, 1987; Sbordoni *et al.*, 1987). También la variabilidad genética puede reducirse en los stocks de cultivo simplemente debido a un “efecto fundador” o a un “cuello de botella” como resultado del cautiverio (Sbordoni *et al.*, 1986; Benzie, 2000).

Una forma de determinar la estructura y variabilidad genética de las poblaciones es mediante la utilización de electroforesis de alozimas (Aebersold *et al.*, 1987; Sugama *e. al.*,



2002), donde algunas moléculas de aminoácidos de las proteínas son cargadas eléctricamente. Como resultado, la molécula de proteína tiene usualmente una carga en la red basada sobre los arreglos de los aminoácidos en su estructura tridimensional. Estas cargas son las causas sobre las cuales las moléculas de las proteínas corren hacia un campo eléctrico opuesto a la carga terminal.

La electroforesis de proteínas se refiere a la separación de proteínas enzimáticas y no enzimáticas por su carga y peso molecular cuando migran a través de un campo eléctrico. El término alozimas es aplicado a las variantes alelicas de proteínas producidas por un simple locus genético, siendo interesante observarlas debido a la existencia de polimorfismo y por ende diferencias en la expresión proteica producto de estos genes. Esto significa que la diferencia de aminoácidos en la cadena polipeptídica de las enzimas es ocasionada por las diferentes formas alelicas, que son el reflejo de los cambios en la secuencia del ADN (Liu y Cordes, 2004). Por otro lado, las isozimas son enzimas con la misma función pero codificadas por loci diferentes. La electroforesis permite que las proteínas extraídas de fluidos corporales, tejidos u organismos completos, tengan una migración diferencial de moléculas en un soporte semisólido (comúnmente gel de almidón o poliacridamida) cuando son expuestas a una carga eléctrica neta (a un pH determinado) y depende del tamaño y forma de la molécula.

Las proteínas son sintetizadas por la transcripción y la traducción del código genético (ADN). Los codones codifican aminoácidos, los cuáles son unidos entre si por enlaces peptídicos covalentes. Los 20 aminoácidos tienen cada uno una cadena lateral única diferente en tamaño, forma y algunas veces carga. Algunas son básicas y cargadas positivamente, otras son ácidas y cargadas negativamente y el resto son sin carga. La carga neta en una proteína determina su movimiento a través de la matriz del gel durante la electroforesis. Sin embargo, la carga neta también varía con el pH porque los grupos carboxilos se cargan negativamente a bajos pH y los grupos aminos se cargan positivamente en pH altos. El punto isoeléctrico de una proteína es el punto en el cual las cargas positivas y negativas son balanceadas, y así no existe migración en el campo eléctrico (Baker, 2000).

La electroforesis de enzimas en gel es una técnica sencilla que se puede utilizar para separar moléculas proteicas en función de las diferencias en tamaño y en carga eléctrica. Esto nos da una idea del grado de variabilidad genética presente en los



organismos bajo estudio. Si una variación nucleotídica en un gen estructural da lugar a la sustitución de un aminoácido cargado, como el ácido glutámico, por un aminoácido no cargado, como la glicina, quedará alterada la carga eléctrica global de la proteína. Esta diferencia en la carga se puede detectar como un cambio en la tasa de migración de la proteína en un campo eléctrico electroforetico (Klug y Cummings, 1999). Al finalizar este proceso, la posición de las proteínas (loci o fenotipo) en el gel se obtiene en forma de bandas, por la reacción específica entre la enzima y el sustrato. Estas bandas son visibles ya que tienen tinciones específicas que contiene el sustrato para la enzima, cofactores y un colorante que precipita, cambia de color o produce fluorescencia cuando ocurre la reacción (Hartl, 1988).

Las nuevas tecnologías frecuentemente asumen superioridad sobre técnicas previas, y hacen ver como obsoletas a las herramientas moleculares que le preceden (Benzie, 1993; Garcia *et al.*, 1994; Garcia y Benzie, 1995; Tassanakajon *et al.*, 1997, 1998; Hansen *et al.*, 2000). Sin embargo, la electroforesis de alozimas, ha probado ser tan o más adecuada como los métodos nuevos de ADN para detectar diferencias poblacionales en muchas especies (Toline y Baker, 1995; Grijalva-Chon *et al.*, 1996; Moran *et al.* 1996; Apostolidis *et al.*, 1997; Ward *et al.* 1997), así como para la identificación de los efectos genéticos de acciones de manejo en poblaciones naturales y cultivadas (Grant *et al.*, 1999).

La expansión de la industria de la acuicultura ha llevado a la creación de muchas granjas de organismos marinos y de agua dulce. La tendencia hacia la producción de reproductores en laboratorio tanto para los programas de cría como para el mejoramiento de estas especies permite obtener una numerosa progenie a partir de unos pocos padres con el riesgo de perder diversidad genética. Los estudios genéticos de las poblaciones de granjas indican que la pérdida de la diversidad genética es clara y ha sido observada en los salmónidos de Norteamérica (Verspoor, 1988) y Europa (Koljonen, 1989), en las tilapias africanas (Rognon *et al.*, 1996), en los sargos del Japón (Sugama *et al.*, 1988), en el abulón (Gafney *et al.*, 1996), en las almejas (Benzie, 1993), en las caballas (Smith y Conroy, 1992) y en los camarones (Sbordoni *et al.*, 1986).

Con la introducción de diferentes stocks de tilapia en los reservorios epicontinentales del país se han generado algunos resultados desfavorables entre los que destacan la pérdida de líneas puras, ocasionando por ejemplo una disminución en la talla comercial, temprana maduración sexual y deformidades. Pocos estudios relacionados con

esta diversidad se han realizado, entre los más destacados se encuentra el de Barriga-Sosa *et al.*, (2004), donde se definen las características morfométricas, merísticas y variabilidad genética de *Oreochromis aureus* y *O. niloticus* y un híbrido de estas en la Presa del Infiernillo en Michoacán-Guerrero.

El presente trabajo pretende evaluar la variabilidad genética en una línea de tilapia *Oreochromis niloticus* cultivada en un centro acuícola y compararla con una línea feral de la presa “Benito Juárez” en Oaxaca y de esta manera conocer el potencial genético para desarrollar programas de mejoramiento genético y estrategias para mantener una variabilidad genética adecuada.



## **II.-OBJETIVOS.**

### **II.1.-Objetivo General.**

Evaluar la variabilidad y estructura genética a nivel de alozimas de una línea cultivada y una población feral de tilapia *Oreochromis niloticus*.

### **II.2.-Objetivos Particulares.**

- Determinar el grado de heterocigosis, el número de alelos por locus, el porcentaje de polimorfismo y el nivel de endogamia en la línea cultivada y la población feral de la tilapia.
- Evaluar la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas entre la línea de cultivo y la población feral y establecer el grado de diferenciación genética entre ellas.

### III.- MATERIALES Y METODOS

#### III.1.- Especímenes y obtención de muestras.

Para el desarrollo de esta investigación. En el verano del 2004 se obtuvo una muestra de 58 tilapias (*Oreochromis niloticus*) de una línea de cultivo donadas por el Centro Acuícola de Santa María Jalapa del Marqués, en el estado de Oaxaca. Así mismo se obtuvieron 59 organismos ferales colectados con atarraya en lanchas por los pescadores de la localidad, de la Presa Benito Juárez, que funcionó como referencia. La Presa Benito Juárez (Fig. 1) se localiza a 225 km de la capital del Estado, a 35 km de la ciudad de Tehuantepec y a 53 km de la ciudad de Salina Cruz en el Municipio de Santa María Jalapa del Marqués, del Estado de Oaxaca (Ramos-Cruz, 1995). Los ejemplares fueron identificados por las características que describe la Secretaría de Pesca (1993). Los organismos se transportaron en hielo hasta la ciudad de Salina Cruz donde fueron extraídas muestras de hígado, ojo, corazón y músculo por estudiantes de la carrera de Ingeniero en Pesquerías del ITMAR 05 para ser congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  y así ser transportados en hielo seco al Laboratorio de Genética del DICTUS en Hermosillo, Sonora y posteriormente almacenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

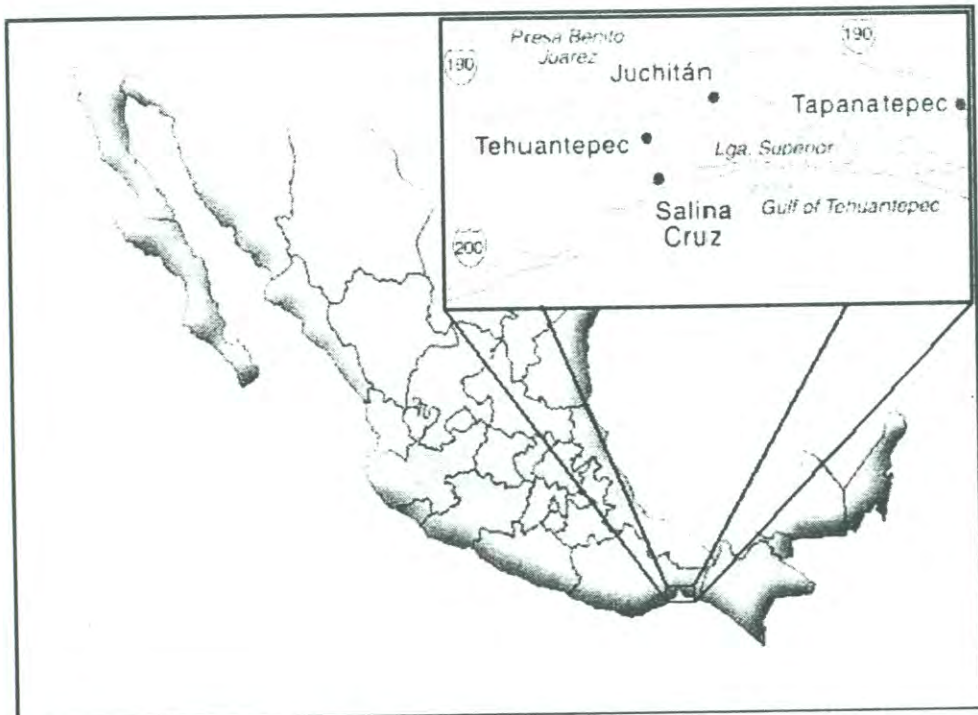


Fig. 1.- Localización de la presa Benito Juárez en el Estado de Oaxaca,

### **III.2.- Extracción de proteínas.**

De cada muestra obtenida por individuo y tejido correspondiente se tomó aproximadamente cinco gramos que fueron homogeneizados en frío con un mortero de porcelana, con una solución consistente de 100 ml de Tris-HCl 0.1 M pH 8.0 con 0.1 g de NAD, 0.1 g de NADP y 1 g de PVP (Grijalva-Chon *et al.*, 1996) y centrifugada a 5,000 ×g durante 20 minutos a 4°C. El líquido sobrenadante se recuperó en viales de plástico debidamente etiquetados para posteriormente ser almacenados a -70°C hasta su análisis electroforético.

### **III.3.- Electroforesis de alozimas.**

Se analizaron 13 sistemas enzimáticos y proteínas generales que se enlistan en la Tabla I, junto con la solución amortiguadora adecuada. Los sistemas enzimáticos utilizados en el análisis de la variabilidad genética corresponden a sistemas que se han utilizado en estudios previos en diversas especies de tilapia y han demostrado presentar polimorfismo (Oosthuizen *et al.*, 1993; Rognon *et al.*, 1996; Feresu-Shonhiwa y Howard, 1998).

La electroforesis de alozimas fue realizada en geles horizontales de almidón (10 y 12 %, dependiendo del lote de almidón) de 18×16×0.9 cm, siguiendo la metodología descrita en Redfield y Salini (1980), Richardson *et al.* (1986) y Aebersold *et al.* (1987). Las muestras fueron aplicadas a través de la inserción de mechas de papel Whatman #3 (de 1.0 × 0.3 cm), humedecidas con el sobrenadante de cada muestra homogeneizada y mechas con azul de bromofenol (como marcador de corrimiento electroforético), en un corte transversal hecho en el gel a 4 cm del extremo catódico. El gel fue rebanado horizontalmente en capas de 0.2 cm de grosor, desechando las capas superficiales y utilizando las demás para el revelado de las enzimas.

### **III.4.- Revelado de las enzimas.**

Para revelar las enzimas se colocaron las rebanadas de gel en 50 ml de solución de revelado específico para cada enzima (sustrato según sea el caso, cofactores, estabilizadores, activadores, estimuladores de la reacción y pigmento o sustancia que dará color en la zona donde se encuentra la enzima). Para el revelado, con el fin de acelerar la reacción enzimática se incubaron las rebanadas del gel por lo general, a menos que se



Tabla I.- Loci revelados, tejidos y soluciones amortiguadoras, utilizados para el análisis de alozimas en el estudio de variabilidad genética en *Oreochromis niloticus*.

| SISTEMAS ENZIMÁTICOS                    | No. C.E.  | LOCUS  | TEJIDO  | SOLUCIÓN AMORTIGUADORA             |
|---|-----------|--|---------|------------------------------------|
| Aspartato amino transferasa             | 2.6.1.1   | <i>AAT-1*</i>  | Hígado  | Tris-Citrato Continuo <sup>1</sup> |
| Alcohol deshidrogenasa                  | 1.1.1.1   | <i>ADH-1*</i><br><i>ADH-2*</i>                                   | Hígado  | Tris-Citrato PH 7.4 <sup>1</sup>   |
| Esterasas                               | 3.1.1.1   | <i>EST-1*</i><br><i>EST-2*</i><br><i>EST-3*</i>                  | Hígado  | Tris-EDTA-Borato <sup>3</sup>      |
| Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa | 1.2.1.12  | <i>GAP-1*</i><br><i>GAP-2*</i>                                   | Ojo     | Tris-Citrato Continuo <sup>1</sup> |
| Glucosa 6 fosfato isomerasa             | 5.3.1.9   | <i>GPI*</i>  | Hígado  | Tris-Citrato Continuo <sup>1</sup> |
| Isocitrato deshidrogenasa               | 1.1.1.42  | <i>IDH*</i>  | Hígado  | Tris-maleato PH 7.4 <sup>1</sup>   |
| Lactato deshidrogenasa                  | 1.1.1.27  | <i>LDH-1*</i><br><i>LDH-2*</i><br><i>LDH-3*</i><br><i>LDH-4*</i> | Ojo     | Tris-Citrato Continuo <sup>1</sup> |
| Enzima málica                           | 1.1.1.40  | <i>MEZ-1*</i><br><i>MEZ-2*</i>                                   | Músculo | Tris-maleato PH 7.4 <sup>1</sup>   |
| Malato deshidrogenasa                   | 1.1.1.37  | <i>MDH-1*</i><br><i>MDH-2*</i>                                   | Ojo     | Tris-Citrato Continuo <sup>1</sup> |
| Octanol deshidrogenasa                  | 1.1.1.73  | <i>ODH*</i>  | Hígado  | Tris-maleato PH 7.4 <sup>1</sup>   |
| Fosfoglucomutasa                        | 5.4.2.2   | <i>PGM-1*</i><br><i>PGM-2*</i>                                   | Hígado  | Tris-Citrato Continuo <sup>1</sup> |
| Proteinas generales                     | -----     | <i>PTO-1*</i><br><i>PTO-2*</i><br><i>PTO-3*</i><br><i>PTO-4*</i> | Músculo | Tris-Citrato PH 7.0 <sup>4</sup>   |
| Superóxido dismutasa                    | 1.15.1.1  | <i>SOD*</i>  | Hígado  | Tris-EDTA-Borato <sup>3</sup>      |
| Xantina deshidrogenasa                  | 1.1.1.204 | <i>XDH*</i>  | Hígado  | Tris-EDTA-Borato <sup>3</sup>      |

\*Comisión de Enzimas (IUBNC, 1984).

<sup>1</sup>Selander *et al.* (1971)

<sup>2</sup>Poulik (1957)

<sup>3</sup>Shaw y Koen (1968)

<sup>4</sup>Ayala *et al.* (1973)



indique algo diferente, en la oscuridad a 37°C, por un tiempo determinado por la actividad de la proteína. Posteriormente, los geles fueron fijados con una solución de ácido acético 10% y metanol 30% para su preservación, análisis e interpretación.

### III.5.- Interpretación de los zimogramas.

La interpretación genética de los patrones de bandeo producidos por los sistemas protéicos fue en base a los criterios de Grant *et al.* (1984) y Utter *et al.* (1987) y la nomenclatura de Shaklee *et al.* (1990), asignando a las enzimas nombre, abreviatura y número de la IUBNC (International Union of Biochemistry, Nomenclature Committee, 1984). A los genes, referidos como loci, que codifican para una proteína, el alelo más común fue designado como 100 y con relación a éste, los demás se designaron de acuerdo a su movilidad. Se hicieron comparaciones lado a lado de todas las alozimas como recomiendan Busack (1988) y Matthew y Greenbaum (1999).

La variación entre alozimas de un mismo locus fue registrada considerando individuos homocigotos a los que presentaron una sola banda y heterocigotos a aquellos que, dependiendo de la estructura cuaternaria de la enzima, presentaron dos o más bandas.

### III.6. Análisis de datos.

Los datos fueron analizados con los programas Biosys-1 (Swofford y Selander, 1981). Se calcularon los estimados de la variabilidad genética: a) polimorfismo, con el criterio de la frecuencia no mayor de 0.95 del alelo más común, b) heterocigosis media observada ( $H_o$ ) y heterocigosis media esperada ( $H_e$ ) para cada locus, basándose en la fórmula insesgada de Nei (1978) y c) el número promedio de alelos por locus ( $A$ ). Para evidenciar diferencias significativas entre la  $H_o$  y  $H_e$  de cada población se realizó una prueba Z, utilizándose esta misma prueba para observar diferencias entre las  $H_o$  y las  $H_e$  de la población feral con respecto al linaje cultivado. Se realizaron pruebas de bondad de ajuste de  $\chi^2$  en el caso de  $H_e$  y  $H_o$  dentro de cada muestra. Lo mismo sucedió para determinar la desviación de las frecuencias fenotípicas esperadas (equilibrio de Hardy-Weinberg), en donde adicionalmente se aplicó la corrección de pruebas múltiples de Bonferroni (Rice, 1989) y el Índice de Fijación ( $F$ ) en el sentido de Nei (1978). Se probó la hipótesis nula  $F=0$  por medio de la fórmula  $\chi^2=F^2N$  con k-1 grados de libertad (g.l.), donde N y k son el número de organismos y número de alelos de cada muestra respectivamente

(Li y Horvitz, 1953). Se utilizó una prueba  $G$  con corrección de Yates por continuidad (Zar, 1984) para probar la heterogeneidad de las frecuencias alélicas. Se evaluó la deficiencia o exceso de heterocigotos utilizando el estimador de  $D=H_o-H_e/H_e$ . Se midió el índice de endogamia ( $F_{is}$ ) y el grado de diferenciación genética entre las muestras ( $F_{st}$ ), en relación a las frecuencias alélicas (Wright, 1965) y se probaron las hipótesis  $F_{is}=0$  y  $F_{st}=0$  mediante las fórmulas  $\chi^2=F_{is}^2N(k-1)$  con g.l.= $k(k-1)/2$  y  $\chi^2=2NF_{st}(k-1)$  con g.l.= $(k-1)(s-1)$ , donde "s" es el número de muestras (Workman y Niswander, 1970).



#### IV.- RESULTADOS

Después de los análisis correspondientes a los 13 sistemas enzimáticos y proteínas generales, se obtuvo un total de 27 loci revelados (Tabla I), de los cuales 17 presentaron polimorfismo con el criterio del 0.95 en al menos una de las muestras.

La variación genética de ambas poblaciones se resume de manera general en la tabla II, donde se observa que el promedio de loci polimorficos resultó ser de 65.38% para la población feral, mientras que para la población cultivada fue de 53.85%. La diversidad genética de ambas poblaciones fue evaluada como número de alelos promedio por locus, la heterocigosis observada y la heterocigosis esperada según las expectativas de Hardy-Weinberg. El número de alelos promedio por locus fue de  $1.96 \pm 0.16$  para la población feral y de  $1.92 (\pm 0.17)$  para la población cultivada. Para la heterocigosis observada con respecto a la heterocigosis esperada se encontró un decremento muy altamente significativo ( $P < 0.001$ ) entre  $H_o$  de  $0.044 \pm 0.003$  y la  $H_e$  de  $0.220 \pm 0.041$  para el linaje feral. Así mismo, para el linaje cultivado la diferencia entre  $H_o$  de  $0.012 \pm 0.005$  y la  $H_e$  de  $0.127 \pm 0.031$  fue significativa ( $P < 0.001$ ). De estas mismas pruebas realizadas se encontraron diferencias muy significativas ( $P < 0.005$ ) entre las  $H_o$  de ambas poblaciones, igual en el caso de  $H_e$  de estas ( $P < 0.004$ ). En la tabla III se observa una disminución significativa en el número de heterocigotos en la población cultivada con respecto a la feral presentándose en la mayoría de los loci analizados (*EST-1\**, *EST-2\**, *EST-3\**, *GAP-2\**, *LDH-2\**, *LDH-3\**, *MEZ-1\**, *MEZ-2\**, *ODH\**, *PGM-2\**, *PTO-3\**, *PTO-4\**), mientras que se observa una similitud de heterocigotos en los loci (*AAT\**, *ADH-1\**, *IDH\**, *XDH\**) de ambas poblaciones.

En la tabla IV se muestra a los 17 loci que fueron encontrados y determinados como polimorficos con el criterio de 0.95 tales como *AAT\**, *ADH-1\**, *EST-1\**, *EST-2\**, *EST-3\**, *GAP-1\**, *GAP-2\**, *IDH\**, *LDH-2\**, *LDH-3\**, *MEZ-1\**, *MEZ-2\**, *ODH\**, *PGM-2\**, *PTO-3\**, *PTO-4\**, *XDH\**, señalados junto a sus frecuencias alélicas que los determinan como tal. Solo *LDH-3\** y *PTO-3\** fueron polimorficos en una muestra (feral), mientras que *GAP-1\** estuvo ausente en la muestra cultivada.

Tabla II.- Variabilidad genética de *Oreochromis niloticus* en dos poblaciones analizadas en la presa Benito Juárez del estrado de Oaxaca.

|   | Linaje Feral   | Linaje Cultivado |
|---|----------------|------------------|
| Numero de organismos analizados                 | 59             | 58               |
| Numero de loci analizados                       | 27             | 26               |
| Tamaño promedio de muestra por locus            | 56.1±0.9       | 54.9±0.9         |
| Numero promedio de alelos por locus             | 1.96±0.16      | 1.92±0.17        |
| Numero de loci polimórficos (criterio del 0.95) | 17             | 14               |
| Porcentaje de loci polimórficos                 | 65.38          | 53.85            |
| Heterocigosis promedio ( <i>H</i> )             |                |                  |
| <i>H</i> Observada                              | 0.044 (±0.003) | 0.012 (±0.005)   |
| <i>H</i> Esperada                               | 0.220 (±0.041) | 0.127 (±0.031)   |

Error estándar entre paréntesis.



Tabla III. Heterocigosis observada ( $H_o$ ) y esperada ( $H_e$ ) para el linaje cultivado y la población feral de *Oreochromis niloticus* en la presa Benito Juárez en el Estado de Oaxaca.

| LOCUS         | FERAL |       | CULTIVADA |       |
|---------------|-------|-------|-----------|-------|
|               | $H_e$ | $H_o$ | $H_e$     | $H_o$ |
| <i>AAT*</i>   | 0.484 | 0.098 | 0.581     | 0.115 |
| <i>ADH-1*</i> | 0.156 | 0.034 | 0.114     | 0.017 |
| <i>EST-1*</i> | 0.549 | 0.053 | 0.172     | 0.000 |
| <i>EST-2*</i> | 0.224 | 0.035 | 0.100     | 0.000 |
| <i>EST-3*</i> | 0.264 | 0.034 | 0.187     | 0.034 |
| <i>GAP-1*</i> | 0.099 | 0.000 | 0.000     | 0.000 |
| <i>GAP-2*</i> | 0.243 | 0.105 | 0.102     | 0.000 |
| <i>IDH*</i>   | 0.485 | 0.018 | 0.452     | 0.000 |
| <i>LDH-2*</i> | 0.238 | 0.055 | 0.000     | 0.000 |
| <i>LDH-3*</i> | 0.261 | 0.305 | 0.173     | 0.053 |
| <i>MEZ-2*</i> | 0.612 | 0.018 | 0.189     | 0.000 |
| <i>ODH*</i>   | 0.307 | 0.093 | 0.163     | 0.019 |
| <i>PGM-2*</i> | 0.208 | 0.093 | 0.179     | 0.018 |
| <i>PTO-3*</i> | 0.193 | 0.000 | 0.037     | 0.000 |
| <i>PTO-4*</i> | 0.270 | 0.077 | 0.105     | 0.000 |
| <i>XDH*</i>   | 0.584 | 0.107 | 0.451     | 0.043 |

Tabla IV.- Frecuencias alélicas de los loci polimórficos y valores de significancia de la prueba G de las dos poblaciones de tilapia del Estado de Oaxaca

| LOCUS         | ALELOS | FRECUENCIAS ALÉLICAS |           | P   |
|---------------|--------|----------------------|-----------|-----|
|               |        | FERAL                | CULTIVADA |     |
| <i>AAT*</i>   | 115    | 0.137                | 0.394     | **  |
|               | 100    | 0.686                | 0.51      |     |
|               | 74     | 0.176                | 0.096     |     |
| <i>ADH-1*</i> | 112    | 0.085                | 0.06      |     |
|               | 100    | 0.915                | 0.94      |     |
| <i>EST-1*</i> | 105    | 0.149                | 0.019     | *** |
|               | 100    | 0.614                | 0.907     |     |
|               | 95     | 0.237                | 0.074     |     |
| <i>EST-2*</i> | 114    | 0.035                | 0.034     |     |
|               | 100    | 0.877                | 0.948     |     |
|               | 91     | 0.088                | 0.017     |     |
| <i>EST-3*</i> | 100    | 0.845                | 0.897     |     |
|               | 83     | 0.115                | 0.103     |     |
| <i>GAP-1*</i> | 100    | 0.948                |           |     |
|               | 104    | 0.052                |           |     |
| <i>GAP-2*</i> | 100    | 0.948                | 0.946     |     |
|               | 80     | 0.052                | 0.054     |     |
| <i>IDH*</i>   | 100    | 0.402                | 0.339     |     |
|               | 91     | 0.598                | 0.661     |     |
| <i>LDH-2*</i> | 100    | 0.864                | 0.976     |     |
|               | 103    | 0.136                | 0.024     |     |
| <i>LDH-3*</i> | 100    | 0.847                | 0.905     |     |
|               | 53     | 0.153                | 0.095     |     |

Continua...

Tabla IV. Continuación

| LOCUS         | ALELOS | FRECUENCIAS ALÉLICAS |           | P   |
|---------------|--------|----------------------|-----------|-----|
|               |        | FERAL                | CULTIVADA |     |
| <i>MEZ-1*</i> | 107    | 0.1                  | 0.045     | **  |
|               | 100    | 0.591                | 0.864     |     |
|               | 95     | 0.309                | 0.91      |     |
| <i>MEZ-2*</i> | 108    | 0.115                | 0.02      | *** |
|               | 100    | 0.5                  | 0.898     |     |
|               | 93     | 0.345                | 0.082     |     |
| <i>ODH*</i>   | 108    | 0.093                | 0.048     |     |
|               | 100    | 0.826                | 0.913     |     |
|               | 81     | 0.081                | 0.038     |     |
| <i>PGM-2*</i> | 100    | 0.884                | 0.902     |     |
|               | 105    | 0.116                | 0.098     |     |
| <i>PTO-3*</i> | 100    | 0.893                | 0.981     |     |
| <i>PTO-4*</i> | 107    | 0.125                | 0.036     | *   |
|               | 100    | 0.846                | 0.945     |     |
|               | 83     | 0.029                | 0.018     |     |
| <i>XDH*</i>   | 100    | 0.5                  | 0.696     | *   |
|               | 93     | 0.402                | 0.261     |     |
|               | 85     | 0.098                | 0.043     |     |

\*0.01 < P ≤ 0.05

\*\* 0.001 < P ≤ 0.01

\*\*\* P ≤ 0.001



En el análisis de las frecuencias fenotípicas de los 17 loci polimórficos se encontró que la mayoría de estos están fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg en ambas muestras antes y después del ajuste de Bonferroni. Sin embargo solo un locus (*LDH-3\**) en la población feral se muestra con equilibrio (Tablas V-VI). Para aquellos loci polimórficos que revelaron más de dos alelos se realizó otra prueba similar agrupando los fenotipos en las siguientes categorías: 1) Homocigotos para el alelo mas común, 2) Heterocigotos para el alelo mas común y 3) Otros, para homocigotos y heterocigotos de alelos diferentes del mas común (Tablas VII-VIII), en este análisis también se confirma que ninguno de los loci mencionados para estas características esta en equilibrio de Hardy-Weinberg en las dos muestras. Este desequilibrio esta dado por una fuerte deficiencia de heterocigotos, corroborado por los valores negativos del coeficiente *D*. Adicionalmente, los valores muy altamente significativos de *F* corroboraron las diferencias entre las frecuencias fenotípicas observadas de las esperadas en todos los loci, con excepción de *LDH\** en la población feral, cuyo valor encontrado estadísticamente no es diferente de cero. Esta deficiencia de heterocigotos es una consecuencia de la alta endogamia que afecta a todos los loci analizados con excepción de *LDH\** (Tabla IX). El valor promedio de esta endogamia es del 84% y el valor mínimo significativo por locus fue del 71%.

La diferenciación genética entre las muestras está definida por la distribución de frecuencias alélicas en donde la prueba *G* revela diferencias en *AAT\**, *EST-1\**, *MEZ-2\**, *PTO-4\** y *XDH\** (Tabla IV). En forma global, la diferenciación entre las muestras esta definida por el valor de *F<sub>st</sub>* el cual indica que la diferencia genética entre las muestras es del 4.2% (Tabla IX) y en donde están involucrados los loci con diferencias en las frecuencias alélicas con excepción de *PTO-4\**.

Tabla V. Frecuencia observada (F.O.), frecuencia esperada (F.E.), prueba de bondad de ajuste de  $\chi^2$  para el equilibrio de Hardy-Weinberg, índice de fijación ( $F$ ) y coeficiente  $D$  para los fenotipos en los 17 loci polimorficos en una población feral de *Oreochromis niloticus* del Estado de Oaxaca.

| LOCUS         | FENOTIPO      | F. O.   | F. E.  | $\chi^2$ | g.l. | P                  | $F$                  | $D$    |
|---------------|---------------|---------|--------|----------|------|--------------------|----------------------|--------|
| <i>AAT*</i>   | 115/115       | 5       | 0.901  | 55.127   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.795 <sup>+++</sup> | -0.797 |
|               | 115/100       | 3       | 9.703  |          |      |                    |                      |        |
|               | 115/74        | 1       | 2.495  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100       | 33      | 23.911 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/74        | 1       | 12.475 |          |      |                    |                      |        |
|               | 74/74         | 8       | 1.515  |          |      |                    |                      |        |
|               | <i>ADH-1*</i> | 112/112 | 4      |          |      |                    |                      |        |
| 112/100       |               | 2       | 9.231  |          |      |                    |                      |        |
| 100/100       |               | 53      | 49.385 |          |      |                    |                      |        |
| <i>EST-1*</i> | 105/105       | 7       | 1.204  | 82.081   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.903 <sup>+++</sup> | -0.904 |
|               | 100/105       | 2       | 10.531 |          |      |                    |                      |        |
|               | 105/95        | 1       | 4.062  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100       | 34      | 21.372 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/95        | 0       | 16.726 |          |      |                    |                      |        |
|               | 95/95         | 13      | 3.106  |          |      |                    |                      |        |
| <i>EST-2*</i> | 114/114       | 1       | 0.053  | 54.692   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.842 <sup>+++</sup> | -0.843 |
|               | 100/114       | 2       | 3.540  |          |      |                    |                      |        |
|               | 114/91        | 0       | 0.354  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100       | 49      | 43.805 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/91        | 0       | 8.850  |          |      |                    |                      |        |
|               | 91/91         | 5       | 0.398  |          |      |                    |                      |        |
| <i>EST-3*</i> | 100/100       | 48      | 41.330 | 40.277   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.868 <sup>+++</sup> | -0.870 |
|               | 100/83        | 2       | 15.339 |          |      |                    |                      |        |
|               | 83/83         | 8       | 1.330  |          |      |                    |                      |        |
| <i>GAP-1*</i> | 104/104       | 3       | 0.130  | 47.938   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 1.000 <sup>+++</sup> | -1.000 |
|               | 100/104       | 0       | 5.739  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100       | 55      | 52.130 |          |      |                    |                      |        |
| <i>GAP-2*</i> | 100/100       | 46      | 42.062 | 15.333   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.564 <sup>+++</sup> | -0.568 |
|               | 100/80        | 6       | 13.876 |          |      |                    |                      |        |
|               | 80/80         | 5       | 1.062  |          |      |                    |                      |        |

Continua...

Tabla V. Continuación.

| LOCUS         | FENOTIPO | F. O. | F. E.  | $\chi^2$ | g.l. | P                  | F                    | D      |
|---------------|----------|-------|--------|----------|------|--------------------|----------------------|--------|
| <i>IDH*</i>   | 105/105  | 22    | 8.919  |          |      |                    |                      |        |
|               | 105/100  | 1     | 27.162 | 49.938   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.963 <sup>+++</sup> | -0.963 |
|               | 100/100  | 33    | 19.919 |          |      |                    |                      |        |
| <i>LDH-2*</i> | 100/100  | 46    | 40.963 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/80   | 3     | 13.073 | 28.879   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.768 <sup>+++</sup> | -0.771 |
|               | 80/80    | 6     | 0.963  |          |      |                    |                      |        |
| <i>LDH-3*</i> | 100/100  | 41    | 42.308 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/53   | 18    | 15.385 | 0.805    | 1    | 0.370              | 0.180                | 0.170  |
|               | 53/53    | 0     | 1.308  |          |      |                    |                      |        |
| <i>MEZ-1*</i> | 107/107  | 5     | 0.505  |          |      |                    |                      |        |
|               | 107/100  | 1     | 6.560  |          |      |                    |                      |        |
|               | 107/95   | 0     | 3.431  | 90.455   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.967 <sup>+++</sup> | -0.967 |
|               | 100/100  | 32    | 19.083 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/95   | 0     | 20.275 |          |      |                    |                      |        |
|               | 95/95    | 17    | 5.147  |          |      |                    |                      |        |
| <i>MEZ-2*</i> | 108/108  | 8     | 1.248  |          |      |                    |                      |        |
|               | 108/100  | 1     | 8.578  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/93   | 0     | 5.927  | 95.012   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.970 <sup>+++</sup> | -0.970 |
|               | 100/100  | 27    | 13.624 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/93   | 0     | 19.174 |          |      |                    |                      |        |
|               | 93/93    | 19    | 6.147  |          |      |                    |                      |        |
| <i>ODH*</i>   | 108/108  | 3     | 0.329  |          |      |                    |                      |        |
|               | 108/100  | 1     | 6.682  |          |      |                    |                      |        |
|               | 108/83   | 1     | 0.659  | 27.214   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.693 <sup>+++</sup> | -0.697 |
|               | 100/100  | 34    | 29.235 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/83   | 2     | 5.847  |          |      |                    |                      |        |
|               | 83/83    | 2     | 0.247  |          |      |                    |                      |        |
| <i>PGM-2*</i> | 105/105  | 36    | 33.529 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/105  | 4     | 8.941  | 9.657    | 1    | 0.002 <sup>+</sup> | 0.547 <sup>+++</sup> | -0.553 |
|               | 100/100  | 3     | 0.529  |          |      |                    |                      |        |
| <i>PTO-3*</i> | 100/100  | 50    | 44.595 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/94   | 0     | 10.811 | 50.843   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 1.000 <sup>+++</sup> | -1.000 |
|               | 94/94    | 6     | 0.595  |          |      |                    |                      |        |

Continua...



Tabla V. Continuación.

| LOCUS         | FENOTIPO | F. O. | F. E.  | $\chi^2$ | g.l. | P                  | F                    | D      |
|---------------|----------|-------|--------|----------|------|--------------------|----------------------|--------|
| <i>PTO-4*</i> |          |       |        |          |      |                    |                      |        |
|               | 107/107  | 5     | 0.757  |          |      |                    |                      |        |
|               | 107/100  | 3     | 11.107 |          |      |                    |                      |        |
|               | 107/83   | 0     | 0.379  | 32.266   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.713 <sup>+++</sup> | -0.715 |
|               | 100/100  | 42    | 37.165 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/83   | 1     | 2.563  |          |      |                    |                      |        |
|               | 83/83    | 1     | 0.029  |          |      |                    |                      |        |
| <i>XDH*</i>   |          |       |        |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100  | 26    | 13.874 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/93   | 3     | 22.703 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/85   | 1     | 5.550  | 60.572   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.815 <sup>+++</sup> | -0.817 |
|               | 93/93    | 20    | 8.919  |          |      |                    |                      |        |
|               | 93/85    | 2     | 4.459  |          |      |                    |                      |        |
|               | 85/85    | 4     | 0.495  |          |      |                    |                      |        |

+ P<0.05 después del ajuste de Bonferroni

+++ P<0.001

Tabla VI Frecuencia observada (F.O.), frecuencia esperada (F.E.), prueba de bondad de ajuste de  $\chi^2$  para el equilibrio de Hardy-Weinberg, índice de fijación ( $F$ ) y coeficiente  $D$  para los fenotipos en los 14 loci polimorficos de *Oreochromis niloticus* un linaje cultivado en el Estado de Oaxaca.

| LOCUS         | FENOTIPO      | F. O.   | F. E.  | $\chi^2$ | g.l. | P                  | $F$                  | $D$    |
|---------------|---------------|---------|--------|----------|------|--------------------|----------------------|--------|
| <i>AAT*</i>   | 115/115       | 18      | 7.961  | 57.748   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.800 <sup>+++</sup> | -0.801 |
|               | 115/100       | 4       | 21.097 |          |      |                    |                      |        |
|               | 115/74        | 1       | 3.981  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100       | 24      | 13.379 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/74        | 1       | 5.146  |          |      |                    |                      |        |
|               | 74/74         | 4       | 0.437  |          |      |                    |                      |        |
|               | <i>ADH-1*</i> | 112/112 | 3      |          |      |                    |                      |        |
| 112/100       |               | 1       | 6.635  |          |      |                    |                      |        |
| 100/100       |               | 54      | 51.183 |          |      |                    |                      |        |
| <i>EST-1*</i> | 105/105       | 1       | 0.009  | 73.538   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 1.000 <sup>+++</sup> | -1.000 |
|               | 100/105       | 0       | 1.832  |          |      |                    |                      |        |
|               | 105/95        | 0       | 0.150  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100       | 49      | 44.421 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/95        | 0       | 7.327  |          |      |                    |                      |        |
|               | 95/95         | 4       | 0.262  |          |      |                    |                      |        |
| <i>EST-2*</i> | 114/114       | 2       | 0.052  | 71.979   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 1.000 <sup>+++</sup> | -1.000 |
|               | 100/114       | 0       | 3.826  |          |      |                    |                      |        |
|               | 114/91        | 0       | 0.070  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100       | 55      | 52.130 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/91        | 0       | 1.913  |          |      |                    |                      |        |
|               | 91/91         | 1       | 0.009  |          |      |                    |                      |        |
| <i>EST-3*</i> | 100/100       | 51      | 46.574 | 33.617   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.814 <sup>+++</sup> | -0.816 |
|               | 100/83        | 2       | 10.852 |          |      |                    |                      |        |
|               | 83/83         | 5       | 0.574  |          |      |                    |                      |        |
| <i>GAP-2*</i> | 100/100       | 53      | 50.135 | 46.270   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 1.000 <sup>+++</sup> | -1.000 |
|               | 100/80        | 0       | 5.730  |          |      |                    |                      |        |
|               | 80/80         | 3       | 0.135  |          |      |                    |                      |        |
| <i>IDH*</i>   | 105/105       | 19      | 6.333  | 53.799   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 1.000 <sup>+++</sup> | -1.000 |
|               | 105/100       | 0       | 25.333 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100       | 37      | 24.333 |          |      |                    |                      |        |

Continua...

Tabla VI. Continuación.

| LOCUS         | FENOTIPO | F. O. | F. E.  | $\chi^2$ | g.l. | P                  | F                    | D      |
|---------------|----------|-------|--------|----------|------|--------------------|----------------------|--------|
| <i>LDH-3*</i> | 100/100  | 51    | 47.478 | 23.547   | 1    | 0.370              | 0.699 <sup>+++</sup> | -0.701 |
|               | 100/53   | 1     | 10.043 |          |      |                    |                      |        |
|               | 53/53    | 5     | 0.478  |          |      |                    |                      |        |
| <i>MEZ-1*</i> | 107/107  | 2     | 0.069  | 70.355   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 1.000 <sup>+++</sup> | -1.000 |
|               | 107/100  | 0     | 3.494  |          |      |                    |                      |        |
|               | 107/95   | 0     | 0.368  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100  | 38    | 32.759 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/95   | 0     | 6.989  |          |      |                    |                      |        |
|               | 95/95    | 4     | 0.058  |          |      |                    |                      |        |
| <i>MEZ-2*</i> | 108/108  | 1     | 0.010  | 66.644   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 1.000 <sup>+++</sup> | -1.000 |
|               | 108/100  | 0     | 1.814  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/93   | 0     | 0.165  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100  | 44    | 39.464 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/93   | 0     | 7.258  |          |      |                    |                      |        |
|               | 93/93    | 4     | 0.289  |          |      |                    |                      |        |
| <i>ODH*</i>   | 108/108  | 2     | 0.097  | 61.041   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.881 <sup>+++</sup> | -0.882 |
|               | 108/100  | 1     | 4.612  |          |      |                    |                      |        |
|               | 108/83   | 0     | 0.194  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100  | 47    | 43.350 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/83   | 0     | 3.689  |          |      |                    |                      |        |
|               | 83/83    | 2     | 0.058  |          |      |                    |                      |        |
| <i>PGM-2*</i> | 105/105  | 50    | 45.495 | 39.950   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> | 0.899 <sup>+++</sup> | -0.900 |
|               | 100/105  | 1     | 10.009 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100  | 5     | 0.495  |          |      |                    |                      |        |
| <i>PTO-4*</i> | 107/107  | 2     | 0.055  | 68.224   | 3    | 0.000 <sup>+</sup> | 1.000 <sup>+++</sup> | -1.000 |
|               | 107/100  | 0     | 3.817  |          |      |                    |                      |        |
|               | 107/83   | 0     | 0.073  |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/100  | 52    | 49.138 |          |      |                    |                      |        |
|               | 100/83   | 0     | 1.908  |          |      |                    |                      |        |
|               | 83/83    | 1     | 0.009  |          |      |                    |                      |        |

Continua...



Tabla VI.- Continuación.

| <i>XDH*</i> |    |        |        |   |                    |                      |        |  |
|-------------|----|--------|--------|---|--------------------|----------------------|--------|--|
| 100/100     | 31 | 22.154 |        |   |                    |                      |        |  |
| 100/93      | 2  | 16.879 |        |   |                    |                      |        |  |
| 100/85      | 0  | 2.813  | 67.162 | 3 | 0.000 <sup>+</sup> | 0.903 <sup>+++</sup> | -0.904 |  |
| 93/93       | 11 | 3.033  |        |   |                    |                      |        |  |
| 93/85       | 0  | 1.055  |        |   |                    |                      |        |  |
| 85/85       | 2  | 0.066  |        |   |                    |                      |        |  |

+ P<0.05 después del ajuste de Bonferroni

+++ P<0.001

Tabla VII. Frecuencia observada (F.O.) y frecuencia esperada (F.E.) de los fenotipos homocigotos, heterocigotos y otros diferentes del mas común para los loci polimórficos multialélicos, y resumen de la prueba de bondad de ajuste de  $\chi^2$  de conformidad al equilibrio de Hardy-Weinberg en la población feral.

| LOCUS                     | FENOTIPO      | F.O. | F.E.   | $\chi^2$ | g.l. | P                  |
|---------------------------|---------------|------|--------|----------|------|--------------------|
| <i>AAT</i> *              | Homocigotos   | 33   | 23.911 | 32.199   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|                           | Heterocigotos | 4    | 22.178 |          |      |                    |
|                           | Otros         | 14   | 4.911  |          |      |                    |
| <i>EST-1</i> *            | Homocigotos   | 34   | 21.372 | 46.939   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|                           | Heterocigotos | 2    | 27.257 |          |      |                    |
|                           | Otros         | 21   | 8.372  |          |      |                    |
| <i>EST-2</i> *            | Homocigotos   | 49   | 43.805 | 35.765   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|                           | Heterocigotos | 2    | 12.389 |          |      |                    |
|                           | Otros         | 6    | 0.805  |          |      |                    |
| <i>MEZ-1</i> *            | Homocigotos   | 32   | 19.083 | 48.976   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|                           | Heterocigotos | 1    | 26.835 |          |      |                    |
|                           | Otros         | 22   | 9.083  |          |      |                    |
| <i>MEZ-2</i> *            | Homocigotos   | 27   | 13.624 | 49.172   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|                           | Heterocigotos | 1    | 27.752 |          |      |                    |
|                           | Otros         | 27   | 13.624 |          |      |                    |
| <i>ODH</i> *              | Homocigotos   | 34   | 29.235 | 21.853   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|                           | Heterocigotos | 3    | 12.529 |          |      |                    |
|                           | Otros         | 6    | 1.235  |          |      |                    |
| <i>PTO-4</i> <sup>+</sup> | Homocigotos   | 42   | 37.165 | 22.787   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|                           | Heterocigotos | 4    | 13.670 |          |      |                    |
|                           | Otros         | 6    | 1.165  |          |      |                    |
| <i>XDH</i> *              | Homocigotos   | 26   | 13.874 | 39.454   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|                           | Heterocigotos | 4    | 28.252 |          |      |                    |
|                           | Otros         | 26   | 13.874 |          |      |                    |

+ P<0.05 después del ajuste de Bonferroni



Tabla VIII. Frecuencia observada (F.O.) y frecuencia esperada (F.E.) de los fenotipos homocigotos, heterocigotos y otros diferentes del mas común para los loci polimórficos multialélicos, y resumen de la prueba de bondad de ajuste de  $\chi^2$  de conformidad al equilibrio de Hardy-Weinberg en la población cultivada

| LOCUS  | FENOTIPO      | F.O. | F.E.   | $\chi^2$ | g.l. | P                  |
|--------|---------------|------|--------|----------|------|--------------------|
| AAT*   | Homocigotos   | 24   | 13.379 | 32.328   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|        | Heterocigotos | 5    | 26.243 |          |      |                    |
|        | Otros         | 23   | 12.379 |          |      |                    |
| EST-1* | Homocigotos   | 49   | 4.421  | 48.131   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|        | Heterocigotos | 0    | 9.159  |          |      |                    |
|        | Otros         | 5    | 0.421  |          |      |                    |
| EST-2* | Homocigotos   | 55   | 52.130 | 47.938   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|        | Heterocigotos | 0    | 5739   |          |      |                    |
|        | Otros         | 3    | 0.130  |          |      |                    |
| MEZ-1* | Homocigotos   | 38   | 32.759 | 39.826   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|        | Heterocigotos | 0    | 10.483 |          |      |                    |
|        | Otros         | 5    | 0.759  |          |      |                    |
| MEZ-2* | Homocigotos   | 44   | 39.464 | 43.626   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|        | Heterocigotos | 0    | 9.072  |          |      |                    |
|        | Otros         | 5    | 0.464  |          |      |                    |
| ODH*   | Homocigotos   | 47   | 43.350 | 34.199   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|        | Heterocigotos | 1    | 8.301  |          |      |                    |
|        | Otros         | 4    | 0.350  |          |      |                    |
| PTO-4* | Homocigotos   | 52   | 49.138 | 45.436   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|        | Heterocigotos | 0    | 5.725  |          |      |                    |
|        | Otros         | 3    | 0.138  |          |      |                    |
| XDH*   | Homocigotos   | 31   | 22.154 | 34.924   | 1    | 0.000 <sup>+</sup> |
|        | Heterocigotos | 2    | 19.692 |          |      |                    |
|        | Otros         | 13   | 4.154  |          |      |                    |

+ P<0.05 después del ajuste de Bonferroni

Tabla IX. Estimados del coeficiente de endogamia (*Fis*) y coeficiente de diferenciación genética (*Fst*), así como sus respectivos valores estadísticos para  $\chi^2$  para las pruebas de hipótesis *Fis*= 0 y *Fst*= 0 para ambas poblaciones.

| LOCUS          | <i>Fis</i> | $\chi^2$    | <i>Fst</i> | $\chi^2$   |
|----------------|------------|-------------|------------|------------|
| <i>AAT</i> *   | 0.798      | 64.954 ***  | 0.047      | 9.588 **   |
| <i>ADH-1</i> * | 0.810      | 38.709 ***  | 0.002      | 0.236      |
| <i>EST-1</i> * | 0.926      | 97.752 ***  | 0.083      | 18.924 *** |
| <i>EST-2</i> * | 0.891      | 90.502 ***  | 0.015      | 3.420      |
| <i>EST-3</i> * | 0.846      | 41.511 ***  | 0.006      | 0.696      |
| <i>GAP-1</i> * | 1.000      | 58.000      | 0.027      | 3.132      |
| <i>GAP-2</i> * | 0.693      | 27.374 ***  | 0.022      | 2.508      |
| <i>IDH</i> *   | 0.981      | 53.892 ***  | 0.004      | 0.448      |
| <i>LDH-2</i> * | 0.807      | 35.818 ***  | 0.043      | 4.730 *    |
| <i>LDH-3</i> * | 0.127      | 0.951       | 0.008      | 0.944      |
| <i>MEZ-1</i> * | 0.977      | 104.998 *** | 0.073      | 16.060 *** |
| <i>MEZ-2</i> * | 0.977      | 104.998 *** | 0.134      | 29.480 *** |
| <i>ODH</i> *   | 0.759      | 49.542 ***  | 0.012      | 2.064      |
| <i>PGM-2</i> * | 0.710      | 21.676 ***  | 0.001      | 0.086      |
| <i>PTO-3</i> * | 1.000      | 56.000      | 0.033      | 3.696      |
| <i>PTO-4</i> * | 0.793      | 65.400 ***  | 0.023      | 4.784      |
| <i>XDH</i> *   | 0.853      | 81.492 ***  | 0.029      | 6.496 **   |
| TOTAL          | 0.839      | 652.534 *** | 0.042      | 77.868 *** |

\*\*\* P<0.001, \*\* P<0.01, \* P<0.05 prueba  $\chi^2$

## V.- DISCUSIÓN

La selección natural y la artificial actúan sobre las poblaciones cautivas (Calaprice, 1976; Shultz, 1986). En las primeras etapas del proceso de domesticación, es inevitable que las nuevas condiciones de vida generen una serie de factores estresantes para los organismos, que tienen como consecuencia cambios genéticos en las poblaciones (Doyle y Hunte, 1981; Belyaev, 1983; Rodríguez-Romero y Gasca-Montes de Oca, 1999). La selección natural actúa sobre la variabilidad genética de las poblaciones promoviendo su adaptación al ambiente y es fruto de la eficacia reproductiva diferencial en los distintos genotipos como consecuencia de su grado de adaptabilidad (Calaprice, 1976; Allendorf, 1983; Belyaev, 1983), haciendo inevitable que los genotipos más adaptables a las condiciones de cultivo incrementen su frecuencia (Allendorf y Ryman, 1987). El ser humano mediante la selección artificial actúa también sobre la variabilidad genética de las poblaciones, seleccionando aquellos fenotipos que determinan alguna característica deseable desde el punto de vista económico o comercial (Alvarez-Jurado, 1987).

Para tener una estimación del cambio de la variabilidad genética debido al manejo de la especie se midió el valor estimado en la variación genética entre dos poblaciones de tilapia (*Oreochromis niloticus*), esto es un linaje cultivado con respecto a una población feral. Las medidas más utilizadas para resumir la cantidad de variación genética entre las poblaciones son el polimorfismo, la heterocigosis y el número de alelos por locus. Para medir el grado de polimorfismo en las poblaciones analizadas se probaron 13 sistemas enzimáticos y proteínas generales con resultados aceptables en el estudio de variabilidad genética para tilapia. De estos sistemas analizados se revelaron 17 loci polimórficos, algunos como *IDH\**, *LDH\**, *ADH-1\**, *MEZ-1\**, *MEZ-2\**, *PTO-3\**, *PTO-4\**, *PGM-2\**, *EST-1\**, *EST-2\** y *EST-3\** ya habían sido reportados por otros autores como loci polimórficos para diferentes especies de *Oreochromis* incluso en *O. niloticus* (Feresu-Shonhiwa y Howard, 1998; McAndrew y Majumdar, 1983; Barriga-Sosa *et al.*, 2004). Sin embargo, los loci *AAT\**, *GAP-1\**, *GAP-2\**, *LDH-2\**, *LDH-3\** y *ODH\** no se habían reportado como polimórficos para *Oreochromis niloticus* en trabajos anteriores, pero sí para otras especies de tilapia como *Tilapia zilli*, *T. guinasana* y *T. rendalli* (Rognon *et al.*, 1996). Esto hace evidente el polimorfismo de estos loci en los linajes Mexicanos de *Oreochromis niloticus*.



En el presente estudio se encontró significativamente un mayor porcentaje de polimorfismo en el linaje feral (65.38%) con respecto al cultivado (53.85%), sin embargo las medidas de polimorfismo han demostrado diferencias en estudios de poblaciones silvestres y cultivadas de organismos acuáticos, pero estas diferencias rara vez han sido significativas (Laubier, et al., 1984; Hedgecock y Sly, 1990), aunque en México Barriga Sosa *et al.* (2004) reporta haber encontrado para *Oreochromis* un porcentaje del 90% de polimorfismo en el linaje feral con respecto a el 80, 50 y 10% en los cultivados de varias localidades estudiadas en el lago Metztitlan en Hidalgo.

Según algunos autores la medida mas precisa con la cual analizar la variabilidad genética en las poblaciones es la heterocigosis ya que no depende del tamaño de la población (Ayala, 1984). En la misma situación se encuentra el número promedio de alelos por locus ya que su estimación se basa en el total de loci analizados. No ocurre así con los valores estimados de polimorfismo ya que el polimorfismo es arbitrario debido a que se mide según el criterio que se elija y en los resultados pueden presentar valores muy altos o muy bajos en un mismo estudio, independientemente a las poblaciones o especies que se analizan.

Sobre el promedio de alelos por locus para ambas poblaciones estudiadas se encontró en general  $1.96 \pm 0.16$  alelos por cada locus para el linaje feral y  $1.92 \pm 0.17$ , correspondiendo a valores encontrados para otros peces, por ejemplo el trabajo de Murakaeva *et al.* (2003), que reporta un promedio de  $1.5 \pm 0.02$  para organismos silvestres de carpa común (*Cyprinus carpio*), mientras que de  $1.7 \pm 0.02$  para organismos cultivados de esta misma especie.

Con respecto a la heterocigosis la mayoría de los autores reportan una disminución significativa en linajes cautivos (Sbordoni *et al.*, 1986, 1987; Harris *et al.*, 1990; Bouza *et al.*, 1997; Agnese *et al.*, 1995; Iguchi *et al.*, 1999; Shikano *et al.*, 2000) y esta disminución ha sido correlacionada con una reducción en el tamaño efectivo de la población y el desempeño de estos cautivos (Sbordoni *et al.*, 1987; Agnese *et al.*, 1995). De este estudio se puede apreciar el mismo patrón en los valores de heterocigosis encontrados en la población feral ( $0.044 \pm 0.003$ ) contra la población cultivada ( $0.012 \pm 0.005$ ), con una diferencia significativa. Por otro lado, el promedio de heterocigosis reportada por Yue y Orban (2001) para especies de *Oreochromis* se encuentra en un rango de 0.444 a 0.950 que es mucho mas alta de la encontrada en este análisis. Sin embargo los valores de



heterocigosis obtenidos en el presente reporte se encuentran cercanos a algunos rangos reportados por Barriga Sosa *et al.* (2004) en organismos ferales (0.251 - 0.044) en varias localidades del lago Metztitlan, así como una heterocigosis de 0.005-0.044 en linajes cultivados en diferentes localidades de este mismo lago. Estos rangos también se presentan en la caracterización genética de dos poblaciones (silvestre y cultivada) de la carpa común (*Cyprinus carpio*), las cuales presentan una heterocigosis de 0.042 a 0.057 en organismos cultivados con respecto a 0.043 a 0.046 en organismos ferales (Murakaeva *et al.*, 2003).

Otros reportes sobre el decremento en la heterocigosis de organismos cultivados con respecto a los silvestres se observa en el trabajo de Hall (2002) para *Oreochromis mossambicus* en el sureste de África con resultados significativos de una  $H_o=0.39$  para organismos silvestres mientras que para cultivados de  $H_o=0.26$ , reafirmando el mismo patrón en la reducción de heterocigosis en linajes cautivos.

Cuando las poblaciones experimentan una reducción de su tamaño efectivo de sus loci polimorficos, la pérdida de diversidad alélica resulta mas notable que los cambios en la heterocigosis, ya que la heterocigosis en un locus es afectado tanto por el numero de alelos como por las frecuencias alélicas. Un deterioro en la heterocigosis, propiciada por la pérdida de alelos al presentarse una reducción en el tamaño efectivo poblacional, puede ser compensada por el incremento de las frecuencias de los alelos restantes (English *et al.*, 2000). Aunque en este estudio se observó en el linaje cultivado la ausencia del alelo *GAP-1\** este no fue suplido por la variabilidad de los otros alelos presentes como se esperaba. Probablemente esto se debe también a la baja variabilidad en los demás alelos, lo cual se hizo evidente en la reducción de la heterocigosis de esta población con respecto a la población feral. Podríamos pensar que esta población se encuentra muy desgastada y no a tenido renovación de genes por parte de líneas diferentes.

Los 17 loci determinados como polimorficos se encontraron fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg, 16 de ellos en ambas muestras o linajes y *LDH-3\** solo en la población feral. Este desequilibrio hace evidente un impacto sobre *Oreochromis niloticus* en la zona de estudio, presumiblemente por el aislamiento de estas poblaciones. Esta pérdida de equilibrio de Hardy-Weinberg esta ligada a la deficiencia de heterocigotos, que en términos de la variación genética para una población feral, se puede explicar por la mezcla de varias subpoblaciones que difieren en sus frecuencias alélicas las cuales conforman la población en la localidad y entonces la proporción de homocigotos en la población total



será más grande que la proporción supuesta por la ley de Hardy-Weinberg (efecto de Wahlund) (Allenforf y Phelps, 1981; Ward y Grewe, 1994; Chakraborty y Leimar 1988). Sin embargo no existe un estudio sobre la estructura genética poblacional de la tilapia en la totalidad del área de la presa Benito Juárez que pueda indicar la existencia de más de una población feral.

La pérdida de variabilidad genética (endogamia) es un problema recurrente en granjas de tilapia alrededor del mundo, esta tiene como resultado un incremento de homocigotos y por ende un decremento de heterocigotos. Se han realizado muchos trabajos sobre la depresión por endogamia en granjas de peces, la mayoría de estos se concentran en salmónidos encontrándose en un rango de 25 a 60% y se observa un incremento del 3 al 5% de endogamia por generación en linajes cultivados (Tave, 1999). En el estudio de Barriga-Sosa (2004) de varias localidades del estado de Oaxaca se reporta un coeficiente de endogamia del 70.5% para *Oreochromis* spp. haciendo evidente un déficit de heterocigotos y correspondiendo a la alta endogamia encontrada en este estudio.

La heterogeneidad de las frecuencias alélicas en los loci polimorficos analizadas (prueba *G*) reveló diferencias significativas entre el linaje feral y el linaje cautivo. Esta diferencia fue atribuible a los loci polimorficos *AAT\**, *EST-1\**, *XDH\**, *MEZ-1\**, *MEZ-2\**, y *PTO-4\**. Esto fue corroborado por el índice de diferenciación genética cuyo valor fue moderado (0.042), según la escala de Hartl (1998) pero significativamente diferente de cero.

Para obtener una significancia representativa de las poblaciones reportadas en este trabajo, se analizó un tamaño de muestra tanto de organismos, como de loci que se encuentran en el rango reportado para la mayoría de los estudios poblacionales en tilapia y carpas los cuales van de 25-50 organismos por localidad y 22-32 loci (Barriga Sosa *et al.*, 2004; Rongon *et al.*, 1996). Estos rangos son adecuados para describir diferencias reales entre localidades o especies. El conocimiento de la cantidad y de la distribución de la variabilidad genética, dentro de la especie es de gran importancia para llevar acabo un aprovechamiento racional de los recursos biológicos (Alvarez-Jurado, 1987). Debido a esto los caracteres que pueden ser mejorados lo definen los aspectos económicos por las características deseadas que imprimen un valor agregado a las especies cautivas (Lutz, 1996). Por otro lado, cuando no se tiene cuidado en los esquemas de manejo y se descuidan aspectos como el número de reproductores involucrados en cada ciclo reproductivo



(tamaño efectivo poblacional), se evidencia pérdida de la variabilidad genética (Sbordoni *et al.*, 1986, 1987).

Los loci alozímicos son de gran utilidad como marcadores del genoma. Además de la función de las alozimas como marcadores nucleares especie-específicos, son adecuados en la cuantificación de heterocigosis, diversidad y diferenciación genética y otras medidas para cuantificar variación genética en poblaciones y consecuencias de la domesticación o impacto ambiental de poblaciones (Zapata, 1987; Alvarez-Jurado, 1987; Grant *et al.*, 1999; Müller-Starck, 2001). A pesar de la baja resolución con que típicamente se ha caracterizado a la técnica de electroforesis de alozimas, esta representa una herramienta consistente para el estudio inicial y de visión generalizada de la variabilidad genética y la estructura poblacional en peces (Park y Moran, 1994; Baker, 2000).

Para finalizar, los valores de variabilidad genética y niveles de endogamia encontrados para los linajes examinados en el presente estudio deben ser considerados para diseñar las medidas necesarias para su mejor aprovechamiento.

## VI.- CONCLUSIONES.

Utilizando la técnica de electroforesis de alozimas en conjunto con el programa estadístico Biosys-1, se logró estimar la variabilidad genética y las deficiencias de esta, entre un linaje cultivado de tilapia (*Oreochromis niloticus*) con respecto a una población feral en el estado de Oaxaca. En estas no se encontró una gran diferencia en el porcentaje de loci polimorficos de ambas poblaciones, pero ambas muestras tienen una estructura genética poblacional diferente.

También se pudo apreciar una marcada disminución en la heterocigosis observada con respecto a la esperada y mas drásticamente en la población cultivada, con una reducción muy altamente significativa de heterocigotos. Sin embargo ambas poblaciones resultaron con un alto índice de endogamia llegando a superar el 80%. Podríamos pensar que estas poblaciones se encuentran muy desgastadas debido a que ya son muchos años desde su introducción y no a tenido renovación de genes por parte de líneas diferentes.

La pérdida de variabilidad genética en estas zonas puede acarrear problemas en sentido de que disminuyen o pierden características atractivas para el comercio como el desove temprano, la reducción de tamaño, deformidades, entre otras reduciendo así el atractivo sobre estos y los precios en el mercado, afectando directamente a la economía de estos lugares que son de los principales sustentos de la región.

Observando los resultados, es evidente que las estrategias de manejo son inadecuadas aun en el laboratorio de producción, lo cual requiere de mas y mejores estrategias en las cruzas en los pie de cría para elevar la variabilidad genética de la tilapia de la presa Benito Juárez.

## VII.-RECOMENDACIONES

Mediante los resultados que ofrece este estudio se observa el gran problema que enfrenta la tilapia (*Oreochromis niloticus*) de la presa Benito Juárez en el Estado de Oaxaca en la disminución de la variabilidad genética de las poblaciones analizadas, sobretodo poblaciones de cultivo. Se recomienda implementar programas de capacitación en laboratorios de producción para operar nuevas y mejores estrategias de manejo, incluso obtener nuevos stocks fundadores o pie de cría de varios lugares, con el fin de asegurar que, por lo menos en sus etapas iniciales, se parta de una base genética lo más amplia posible. Estos stocks deben someterse a una amplia gama de análisis genéticos para asegurarse que el grupo fundador contenga una estructura genética y buen nivel de heterocigosis diferente que renueve el pool genético de estas poblaciones, además de mantener un tamaño efectivo de población  $N_e$ , de 50 o más reproductores por stock para la cría a corto plazo y para programas de cultivo, y mucho más (alrededor de 500) para la protección de la variabilidad genética de las líneas. Las técnicas que involucran consanguinidad deben ser utilizadas pero sólo para metas genéticas específicas y sólo cuando un estricto control genético sea posible.

Se recomienda también a los acuacultores y los administradores de pesquerías de la localidad que encaminen sus esfuerzos hacia el desarrollo de metodologías, protocolos y sistemas de cría basados en la genética, para la generación de grupos genéticos adecuados para repoblar las pesquerías y elevar la variabilidad genética ya deteriorada en la presa Benito Juárez.



## VIII.-BIBLIOGRAFÍA

- Aebersold, P.B., G.A. Winans, D.J. Teel, G.B. Miner y F.M. Utter. 1987. Manual for starch gel electrophoresis: A method for the detection of genetic variation. NOAA Technical. Report, NMFS 61, 19pp.
- Agnese J-F., J.O. Ziriga y S. Gilles. 1995. Effects of domestication on genetic variability, fertility, survival and growth rate in a tropical Siluriform *Heterobranchus longifilis*. Valenciennes 1840. Aquaculture, 131 (3-4): 197-204.
- Álvarez-Jurado, G. 1987 Genética y acuicultura. p. 1-31. En : J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta (Eds.), Genética en Acuicultura. Plan de Formación de Técnicos Superiores, Programa Especial de I+D de Acuicultura, Comisión Asesora de Investigación Científica. Industrias Graficas España S.L.
- Álvarez, N. y G. Muñoz. 1999. Experiencias en el cultivo intensivo de tilapia en el estado de Veracruz. Memorias de la Octava Reunión de Ganaderos, "Rancho el Clarín". Tlapacoyan, Ver., 5 al 9 de Mayo. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión de Ganadería Tropical, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. pp: 12-24.
- Allendorf, F.W. 1983. Isolation gene flow, and genetic differentiation among population pp: 51-65. En: C.M. Stonewald-Cox., S.M. Chamber, B. MacBryde y W. L. Thomas (Eds.), Genetic and Conservation. The Benjamin/Cummings Publishing Co. Inc. London.
- Allendorf, F.W. y N. Ryman. 1987. Genetic management of hatchery stock pp: 121-140. En: N. Rayman, y F. Utter (Eds.), Population Genetic and Fishery Management. Washington Sea Grant rogram, University of Washington Press Seattle an London. pp: 121-140.
- Allendorf, F.W. y S.R. Phelps. 1981. Isozymes and the preservation of genetic variation in salmonid fishes. pp. 37-52. En: N. Ryman (Eds.), Fish Gene Pools. Ecology Bulletin 34 (Stockholm).

- Arredondo, J., V. Flores, F. González, H. Garduño y R. Campos. 1994. Desarrollo Científico y Tecnológico del Banco de Genoma de Tilapia. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D.F. Secretaría de Pesca.
- Apostolidis, A.P., C. Triantaphyllidis, A. Kouvatsi y P.S. Economidis. 1997. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography among *Salmo trutta* L. (Greek brown trout) populations. *Molecular Ecology*, 6: 531-542.
- Ayala, F.J., D. Hedgecock, G.S. Zummalt y J.W. Valentine. 1973. Genetic variation in *Tridacna maxima*, an ecological analog of some unsuccessful evolutionary lineages. *Evolution*, 37: 177-191
- Baker, A.J. 2000. *Molecular Methods in Ecology*. Blackwell-Science. Oxford. 352 pp.
- Bakos, J., 1979 Crossbreeding Hungarian races of common carp to develop more productive hybrids. In *Advances in aquaculture*, ed. T.V.R. Pillay y W.A. Dill. Farnham, Surrey, Fishing News Books Ltd., pp. 633-5
- Barriga-Sosa, D.L.A., M.D.L. Jiménez-Bandillo, A.L. Ibáñez y J.L. Arredondo-Figueroa. 2004. Variability of tilapias (*Oreochromis* spp.) introduced in Mexico: morphometric, meristic and genetic characters. *Ichthyology*, 20: 7-14
- Basurto, M. 1984. Estudio preliminar al conocimiento biológico y pesquero de la tilapia nilotica en la laguna de Chila, Veracruz. Tesis Profesional pp: 78. Universidad del Noreste, Tampico, Tamaulipas.
- Belyaev, D.K. 1983. Stress as a factor of genetic variation and the problem of destabilizing selection. *Folia Biológica (Praha)*, 29: 177-187
- Benzie, J.A.H. 1993. Review of the population genetics of giant clams. pp:1-6. En: P. Munro (Ed.), *Genetic aspects of conservation and cultivation of giant clams*. ICLARM Conference Proceedings 39.
- Benzie, J.A.H. 2000. Population genetic structure in penaeid prawns. *Aquaculture Research*, 31: 95-119.



- Bouza, C., L. Sánchez y P. Martínez. 1997. Gene diversity analysis in natural population and cultured stock of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Animal Genetic*, 28:28-36.
- Busack, C.A. 1988. Electrophoretic variation in the red swamp (*Procambarus clarkii*) and white river crayfish (*P. acutus*) (Decapoda: Cambaridae). *Aquaculture*, 69: 211-226.
- Calaprice, J.R. 1976. Mariculture-Ecological and genetic aspects of production. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 33: 1068-1087.
- Castillo-Campo, L.F. 2004. Producción mundial de la tilapia: ¿Quiénes son los verdaderos líderes? *Panorama Acuícola*. 19(2): 12-18.
- Chakraborty, R. y O. Leimar. 1988. Genetic variation withing a subdivided population pp: 89-120. En: N. Raymand y F. Uter (Eds), *Population Genetics and Fisheries Management*. University of Washington Press. Seattle.
- Cifuentes Lemus, J.L., M. Torres-García y M. Frías-Mondragón. 1997. *El Océano y sus Recursos*. Fondo de Cultura Económica. México D.F. 340pp.
- Doyle, J.M. y W. Hunte. 1981. Genetic Changes in "fitness" and yield of a crustacean population in a controlled environment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 22: 147-156
- Eknath, A.E., M.M. Tayamen, M.S. Palada-de Vera, J.C. Danting y R.A. Reyes. 1993. Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments. *Aquaculture*, 111: 171-188.
- English, L.J., G.B. Maguire y R.D. Ward. 2000. Genetic variation of wild and hatchery population of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Australia. *Aquaculture*, 187: 283-298
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation). 2002. *Review of the State of World Aquaculture*. FAO Fish. Circ. 886. Rev. 2. Rome, Italy, 130 pp.



- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation). 2005. Towards improving global information on aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper* No. 480. Rome, Italy, 170 pp.
- Feresu-Shonhiwa, F. y J.H. Howard. 1998. Electrophoretic identification and phylogenetic relationships of indigenous tilapia species of Zimbabwe. *Journal of Fish Biology*, 53: 1178-1206.
- Gafney, P.M., V.P. Rubin, D. Hedgecok, D.A. Powers, G. Morris y L. Hereford. 1996. Genetic effects of artificial propagation signals from wild and hatchery populations of red abalone in California. *Aquaculture*, 143: 257-266.
- Gall, G.A.E. 1987. Inbreeding. pp:47-87 En: N. Ryaman y F. Utter, (Eds), *Population Genetics and Fishery Management*. University of Washington Press. Seattle and London.
- García, D.K. y J.A.H. Benzie. 1995. RAPD markers of potential use in penaeid prawn (*Penaeus monodon*) breeding programs. *Acuaculture*, 130: 137-144.
- García, D.K., M.A. Faggart, J.A. Wyban, W.H. Carr, K.M. Ebert, J.N. Sweeney y A. Alcívar-Warren. 1994. Genetic diversity of cultured *Penaeus vannamei* shrimp using three molecular genetic techniques. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 270-280.
- Garduño, L.M. y Muñoz C.G. 1998. Comparación de parámetros reproductivos, de crecimiento, fenotípicos y económicos de tilapia roja. *Memorias del Sistema de Investigación del Golfo de México (SIGOLFO)*. Instituto de Ecología A.C. Marzo de 1998 Veracruz México. pp: 36-42
- Grant, W.S., D.J. Teel y T. Kobayashi. 1984. Biochemical population genetics of Pacific halibut (*Hippoglossus stenolepis*) and comparison with Atlantic halibut (*H. hippoglossus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41: 1083-1088.
- Grant, W.S., J.P. García-Marín y F.M. Utter. 1999. Defining population boundaries for fishery management. pp: 27-72. En: Mustafa, S (Ed.), *Genetics in sustainable Fisheries Management*. Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford, UK.

- Grijalva-chon, J.m., J.Rosa-Vélez, de la y O. Sosa-Nishizaki. 1996. Allozyme variability in two samples of swordfish, *Xiphias gladius* L., in the North Pacific Ocean. *Fishery bulletin*, 94: 589-594.
- Hall, E.G. 2002. Report on the Evaluation of Genetic Diversity for Sustainable Utilization of Natural Genetic Resources in the Southern African Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Final Technical Report R7284 Division of Aquaculture, University of Stellenbosch, U.K. pp: 117-183.
- Harris, S.E.G., R.T. Dillion, Jr., P.A. Sandifer y L.J. Lester. 1990 Electrophoresis of isozymes in cultured *Penaeus vananmei*. *Aquaculture*, 85:330
- Hansen, M.M., D.E. Ruzzante, E.E. Nielsen y K-L.D. Mensberg. 2000 Microsatellite and mitochondrial DNA polymorphism reveals life-history dependent interbreeding between hatchery and wild brown trout (*Salmo trutta* L.). *Molecular Ecology*, 9: 583-594
- Hartl, D.L. 1998. *Primer of Population Genetics*. Sinauer Associates, Inc. Publ. Sunderland, Massachuserrs. 305 pp.
- Hedgecok, D. y F. Sly. 1990. genetic drift and effective population sizes of hatchery-propagated stoks of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Acuaculture*, 39: 21-38
- Hepher, B. y Y. Pruginin. 1985. *Cultivo de peces comerciales*. Editorial Limusa. México D.F. 120 pp.
- Iguchi, K., K. Watanabe y M. Nishida. 1999. Reduced mitochondrial DNA variation in hatchery populations of ayu (*Plecoglossus altivelis*) cultured of multiple generations. *Aquaculture*, 178: 235-243.
- IUBNC (International Union of Biochemistry, Nomenclature Committee). 1984. *Enzyme nomenclature*. Academic Press, Orlando, Florida, 646pp.
- Josupeit, H. 2005 (Tilapia Market Report April). *Globefish*. USA. 28 pp.



- Jover-Cerdá, M., L. Pérez-Igualada, L. Zaragoza y J. Fernández-Carmona. 1998. Growth of Tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) with cooked-extruded diets of several protein levels. *Archivos de Zootecnia*, 47: 11-20.
- Klug, W. y M.R. Cummings. 1999. *Genética*. Ed. Pearson Educación. España. 814 pp.
- Koljonen, M.L. 1989. Electrophoretically detectable genetic variation in natural and hatchery stocks of Atlantic salmon in Finland. *Hereditas*, 110: 23-36
- Laubier, A., N. Pasteur y M. Morycasu. 1984. Estimation du polymorphisme enzymatique d'une population de *Penaeus japonicus* maintenue en élevage depuis quatre générations. *Océanología Acta*, 7: 451-456.
- Li, C.C. y D.G. Horvitz. 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *American Journal of Human Genetics*, 5: 107-117.
- Liu, Z.J. y J.F. Cordes. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 238: 1-37.
- Lovelees, M.D. y J.L. Hamrich. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review in Ecology and Systematics*, 15: 65-95.
- Lutz, C.G. 1996. Genetics & breeding. Quantify genetic variance: Heritability. *Aquaculture*, 22: 79-86.
- Macaranas, J.F., P.B. Mather, S.N. Lal, T. Vereivalu, M. Lagibalavu y M. Capra. 1997. Genotype and environment, a comparative evaluation of four tilapia stocks in Fiji. *Aquaculture*, 150: 11-24.
- Mair, G.C., J.S. Abucay, J.A. Beardmore y O.F. Skibinski. 1995. Growth performance trials of genetically male tilapia (GMT) derived from Y-Y males in *Oreochromis niloticus*; on station comparisons with mixed sex an sex reversed male populations. *Aquaculture*, 137: 313-322.



- Matthew, R.M. e I.F. Greenbaum. 1999. Allozymic variation and biogeography of snapping shrimp (*Alpheus*) from the Gulf of Mexico and northwestern Atlantic coasts. *The Southwestern Naturalist*, 44: 462-469.
- McAndrew, B.J., K.J. Rana y D.J. Penman. 1993. Conservation and preservation of genetic variation in aquatic organisms. pp: 295-336. En: J.F. Muir y R.J. Roberts (Eds.), *Recent Advances in Aquaculture*. Vol. 4. Croom Helm.
- McAndrew, B.J. y K.C. Mujumdar. 1983. Tilapia stock identification using electrophoretic markers. *Aquaculture*, 30: 249-261.
- Morales, D.A. 1974 El cultivo de la tilapia en México. Datos biológicos. Serie Informativa. INP/SI:124, 35 pp.
- Morales, D.A. 1991. La Tilapia en México. Biología, Cultivo y Pesquerías. AGT, México. 190 pp.
- Moran, P.A.M. Pendás y E. García-Vázquez. 1996. Mitochondrial DNA variation in wild and hatchery brown trout (*Salmo trutta* L) populations from Spain. *Aquaculture*, 141: 59-65.
- Muñoz, G. 2000. Heterosis, habilidad combinatoria, proporción de sexos y segregación del color rojo en un cruzamiento dialélico completo de tres especies de tilapia (*Oreochromis niloticus*, *O. mossambicus* y *O. aureus*). Tesis de maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 134 pp.
- Müller-Starck, G. 2001. Isozymes. pp: 75-81. En: A. Kary, P. G. Issac y D. S. Ingram (Eds.), *Molecular Tools for Screening Biodiversity*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Murakaeva, A., K. Kohlmann, P. Kersten, B. Kamilov y D. Khabibullin. 2003. Genetic characterization of wild and domesticated common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations from Uzbekistan. *Aquaculture*, 218: 153-166.

- Murphy, R.W., J.W. Sites, Jr., D.G. Buth y C.H. Haufler. 1990. Proteins I: Isozyme Electrophoresis. pp: 45-126. En: D.M. Hillis y C. Moritz (Eds.), *Molecular Systematics*. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89:583-590.
- Oosthuizen, S., F.H. Van Der Bank y J.T. Ferreira. 1993. Genetic distance between an evolutionary relationships for *Tilapia guinasana*, *T. rendalli* and *T. sparrmanii*. *Biochemistry and Systematic Ecology*, 21: 351-362.
- Park, L.K. y P. Moran. 1994. Developments in molecular genetic techniques in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4: 272-299.
- Poulik, M.D. 1957. Starch gel electrophoresis: a discontinuous system of buffers. *Nature*, 180: 1477-1479.
- Pouyaudn, L. y J.F. Agnese. 1995. Differentiation génétique de plusieurs populations *Sarotherodon melanotheron* et *Tilapia guineensis* de Cote d'ivoire et du Sénégal. pp: 62-66 En : Pullin, R. S. V. Lazar, J., Legendre, M., Amon Kothias, J. B. and Pauly, D. (Eds.). *Third International Symposium on Tilapias in Acuaculture*. pp: 62-66.
- Pruginin, Y. 1975 All-male broods of *Tilapia nilotica* x *T. aurea* hybrids. *Aquaculture*, 6(1):11-21
- Ramos-Cruz, S. 1995. Reproducción y crecimiento de la mojarra tilapia (*Oreochromis aureus*) en la presa Benito Juárez, Oaxaca, México, en 1993. *Ciencia Pesquera* No. 11.
- Redfield, J.A. y J.P. Salini. 1980. Techniques of starch-gel electrophoresis of penaeid prawn enzymes (*Penaeus* spp. and *Metapenaeus* spp.) CSIRO. Division of Fisheries and Oceanography. Cronulla, SSW, Australia. 116: 1-20.



- Richardson, B.J., P.R. Baverstock y M. Adams. 1986. Allozyme Electrophoresis. A Handbook for Animal Systematics and Population Studies. Academic Press. Sidney. 410 pp.
- Rice, W.R. 1989. Analyzing tables of statistic tests. *Evolution*, 43: 223-225.
- Rieger, R., A. Michaelis and M.M. Green. 1991. Glossary of genetics classical and molecular. 5<sup>th</sup> Edition. Springer-Verlag. Germany. 553 pp.
- Rodríguez-Romero, F. y M. Gasca-Montes de Oca. 1999. La genética y sus aplicaciones en el desarrollo de la camaronicultura moderna pp: 261-268. En : L.R. Martínez-Córdova (Ed.), Cultivo de Camarones Peneidos, Principios y Practicas. AGT. Editor. S.A. de C.V. México.
- Rognon, X., M. Adriamanga, B. McAndrew y R. Guyomard. 1996. Allozyme variation in natural and cultured populations in two tilapia species: *Oreochromis niloticus* and *Tilapia zillii*. *Heredity*, 76: 640-650.
- Rowena, M., R. Romana-Euguia, M. Ikeda, Z.U. Basiao, y N. Taniguchi. 2004. Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture*, 236: 131-150.
- CONAPESCA 2002. Carta Nacional Pesquera. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (SAGARPA/ CONAPESCA 2006).
- Sbordoni, V., E. de Mattheis, M. Cobolli-Sbordoni, G. la Rosa y M. Mattoccia. 1986. Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Aquaculture*, 57: 239-251.
- Sbordoni, V., la Rosa, M. Mattoccia, M. Cobolli-Sbordoni y E. De Mattheis. 1987. Genetic changes in seven generations of hatchery stock of the kuruma prawn, *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). Proceedings of the Word Symposium on Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture, Bordeaux 23-30 Mayo, 1986, Vol. I. Berlin, Germany.



- Selander, R.K., M.H. Smith, S.Y. Tang, W.E. Johnson y J.B. Gentry. 1971. Biochemical polymorphisms and systematics in the genus *Peromyscus* I. Variation in the old field mouse (*Peromyscus polonatus*) Studies on Genetics VI. University of Texas Publications, 7103: 49-90.
- Secretaria de Pesca (SEPESCA). 1993. Atlas Pesquero de México. Instituto Nacional de la Pesca. México. 234 pp.
- Shaklee, J.B., F.W. Allendorf, B.C. Morizot y G.S. Whitt. 1990. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. Transactions of the American Fisheries Society, 119: 2-15.
- Shaw, C.R. y A.L. Koen. 1968. Starch gel zone electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. Biochemistry Genetics, 4: 297-320.
- Shikano, T., T. Chiyokubo, M. Nakadate y Y. Fujio. 2000. The relationship between allozyme heterozygosity and salinity tolerance in wild and domestic populations of the guppy (*Poecilia reticulata*). Aquaculture, 184: 233-245
- Shulz, F.T. 1986. Developing a commercial breeding program. Acuaculture, 57: 65-76
- Smith, P.J. y A.M. Conroy. 1992. Loss of genetic variation in hatchery produced abalone, *Haliotis iris*. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 26: 81-85.
- Sugama, K., N. Taniguchi y S. Umeda. 1988. An experimental study on genetic drift in hatchery population of red sea bream. Nippon Suisan Gakkaishi, 54: 739-744.
- Sugama, K., Haryanti, J.A.H. Benzie y E. Ballment. 2002. Genetic variation and population structure of giant tiger prawn, *Penaeus monodon*, in Indonesia. Aquaculture, 205: 37-38
- Swofford, D. y R. Selander. 1981. BIOSYS-1 - A Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoresis data in population genetics and systematics. Journal of Heredity, 72: 281-283.

- Tassanakajon, A., S. Pongsomboon, V. Rimphanitchayakit P. Jarayabhand, S. Klinbunga y V. Boonsaeng. 1997. Random amplified polymorphic DNA (RADP) markers for determination of genetic variation in wild populations of black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 6: 110-115.
- Tassanakajon, A., S. Pongsomboon, P. Jarayabhand, S. Klinbunga y V. Boonsaeng. 1998. Genetic structure in wild populations of black tiger (*Penaeus monodon*) using randomly amplified polymorphic DNA analysis. *Journal of Marine Biotechnology*, 6: 249-254
- Tave, D. y R.O. Smitherman, 1980. Predicted response to selection for early growth in *Tilapia nilotica*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 109: 439-445.
- Tave, D. 1999. Inbreeding and brood stock management. Fisheries Technical Paper. No. 392. Rome, FAO. 122p.
- Toline, C.A. y A.J. Baker. 1995. Mitochondrial DNA variation and population genetic structure of the northern redbelly dace (*Phoxinus sp.*). *Molecular Ecology*, 4: 542-745.
- Utter, F., P. Aebersold y G. Winans. 1987. Interpreting genetic variation detected by electrophoresis. pp: 21-45. En: N. Ryman, y F. Utter (Eds.), *Population Genetics and Fishery Management*. University of Washington Press, Seattle, pp: 21-45.
- Van Der Bank, H., W.S. Grant, y J.T. Ferreira. 1989. Electrophoretically detectable genetic data for fifteen southern African cichlids. *Journal of Fish Biology*, 34: 465-483.
- Van Der Bank, F.H. 1988. Determination of the genetic basis and diversity in six genera of the family cichlidae. PhD. Thesis, Rand Afrikaans University, Johannesburg. 164 pp.
- Verspoor, E. 1988. Reduced genetic variability in first-generation hatchery populations of Atlantic salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45: 1686-1690.



- Ward, R.D., N.G. Elliot, B.H. Innes, A.J. Smolenski y P.M. Grewe. 1997. Global population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, inferred from allozyme and mitochondrial DNA variation. *Fishery Bulletin*, 95: 566-575.
- Ward, R.D y P.M. Grewe. 1994. Appraisal of molecular genetic technique in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4: 300-325.
- Wohlfarth, G. y R. Moav, 1978 The genetic correlation of growth-rate with and without competition in carp. *Verh.Int.Ver.Theor.Angew.Limnol.*, 17:1702-4
- Workmand, P.L. y Niswader, J.D. 1970. Population studies on southwestern Indian Tribes. II Local genetic differentiation in the Papago. *American Journal of Human Genetics*, 22: 24-29.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution*, 19: 395-420.
- Yant, D.R., R.O. Smitherman y O.L. Green, 1976 Production of hybrid (Blue × Channel) catfish and channel catfish in ponds. *Proc.Southeast.Assoc.Game Fish Comm.*, 29:82-5
- Yue, G.H. y L. Orban. 2002. Microsatellites from genes show polymorphism in two related *Oreochromis* species. *Molecular Ecology Notes*, 27: 13-14.
- Zapata, C. 1987. Variabilidad genética de las poblaciones pp : 33-57. En: J. Espinosa de los Montero y U. Labarta (Eds.), *Genética en Acuicultura*. Industrias Gráficas España, S. L. Madrid. pp : 33-57.
- Zar, J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 718 pp.



## IX. APÉNDICE.

### IX.1.- SOLUCIONES DE REVELADO PARA LOS SISTEMAS ENZIMÁTICOS

#### 1. Aspartato amino transferasa AAT (2.6.1.1)

|                              |       |
|------------------------------|-------|
| Solución sustrato AAT pH 7.4 | 25 ml |
| Agua                         | 25 ml |

Incubar en oscuridad 15 min. a 37° C y realizar post-unión.

POST-UNIÓN: Agregar 5 ml del solución sustrato + agua y agregue:

Azul rápido BB 0.125 g

Incorporar la mezcla con el pigmento Incubación hasta que se definan las bandas y fijar y registrar

Solución sustrato AAT pH 7.4:

|                                  |           |
|----------------------------------|-----------|
| Ácido $\alpha$ cetoglutárico     | 0.01825 g |
| Ácido L-aspartico                | 0.0665 g  |
| Polivinil pirrolidona            | 0.25 g    |
| EDTA-Na <sub>2</sub>             | 0.025 g   |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 0.71      |
| Agua                             | 25 ml     |

#### 2. Alcohol deshidrogenasa ADH (1.1.1.1)

|                                       |         |
|---------------------------------------|---------|
| Etanol 95%                            | 2.5 ml  |
| NAD                                   | 0.025 g |
| MTT 1%                                | 1.5 ml  |
| PMS 0.1%                              | 1 ml    |
| Amortiguador de fosfatos 0.5 M pH 7.0 | 5 ml    |
| Agua                                  | 40 ml   |

Incubar en oscuridad a 37° C hasta que se definan las bandas, fijar y registrar

#### 3. Esterasas EST (3.1.1.1)

|                       |         |
|-----------------------|---------|
| Solución sustrato EST | 1.5 ml  |
| Tris-HCl 0.5 M pH 7.1 | 5.0 ml  |
| Agua                  | 43.5 ml |

Incubar en oscuridad 15 min. a 37° C y realizar post-unión.

POST-UNIÓN: Agregar 5 ml de agua + 0.05 g de Azul rápido BB.

#### 4. Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa GAPDH (1.2.1.12)

|                        |         |
|------------------------|---------|
| NAD                    | 0.025 g |
| Arseniato de sodio     | 0.09 g  |
| Solución sustrato      | 5 ml    |
| MTT                    | 1.5 ml  |
| PMS                    | 1 ml    |
| Tris-HCl 0.5 M. pH 7.1 | 10 ml   |
| Agua                   | 32.5 ml |

Incubar en oscuridad a 37° C hasta que se definan las bandas, fijar y registrar.

Solución sustrato GAPDH:

|                  |        |
|------------------|--------|
| 1-Naftil acetato | 0.05 g |
| 2-Naftil acetato | 0.05 g |
| Acetona          | 2.5 ml |
| Agua             | 2.5 ml |

*Ris. T. 948*

#### 5. Glucosa 6 fosfato isomerasa GPI (5.3.1.9)

|   |         |
|---|---------|
| D-fructuosa 6 fosfato                       | 0.080 g |
| NADP  | 0.005 g |
| Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (100 u/ml) | 0.8 ml  |
| MTT 1 %                                     | 0.7 ml  |
| PMS 0.1%                                    | 0.7 ml  |

Aforar a 50 ml con Tris-HCl 0.1M pH 8.0

Incubar en oscuridad a 37°C o temperatura ambiente por solo 2-7 minutos; fijar, registrar y digitalizar el gel inmediatamente porque es muy inestable el producto de la reacción.

#### 6. Isocitrato deshidrogenasa IDH (1.1.1.42)

|                      |         |
|----------------------|---------|
| Isocitrato de sodio  | 0.070 g |
| NBT                  | 0.010 g |
| NADP                 | 0.015 g |
| PMS 0.1%             | 1.0 ml  |
| MgCl 10%             | 0.2 ml  |
| Tris-HCl 0.1M pH 8.0 | 48.8 ml |

### 7. Lactato deshidrogenasa LDH (1.1.1.27)

|                       |         |
|-----------------------|---------|
| NAD                   | 0.025 g |
| Solución sustrato LDH | 5.0 ml  |
| MTT 1%                | 1.5 ml  |
| PMS 0.1%              | 1.0 ml  |
| Tris-HCl 0.5 M pH 7.1 | 7.5 ml  |
| Agua destilada        | 35.0 ml |

Incubar en oscuridad a 37° C hasta que se definan las bandas, fijar y registrar.

Solución sustrato:

|                                    |          |
|------------------------------------|----------|
| Ácido láctico 80%                  | 1.125 ml |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 1M | 4.9 ml   |
| Agua                               | 3.975 ml |

### 8. Enzima málica MEZ (1.1.1.40)

|                       |         |
|-----------------------|---------|
| NADP                  | 0.01 g  |
| NBT                   | 0.01 g  |
| Solución sustrato MDH | 2.5 ml  |
| PMS 0.1%              | 10 ml   |
| MgCl <sub>2</sub> 10% | 0.1 ml  |
| Tris-HCl 0.1 M pH 8.4 | 1.0 ml  |
| Agua                  | 27.5 ml |

Incubar en oscuridad a 37° C hasta que se definan las bandas, fijar y registrar.

Solución sustrato MDH:

|                                    |        |
|------------------------------------|--------|
| DL-ácido málico                    | 1.34 g |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 2M | 4.9 ml |
| Agua                               | 5.1 ml |

### 9. Malato deshidrogenasa MDH (1.1.1.37)

|                       |         |
|-----------------------|---------|
| NAD                   | 0.025 g |
| Solución sustrato MDH | 5 ml    |
| MTT                   | 1.5 ml  |
| PMS 0.1%              | 1 ml    |
| Tris-HCl 0.1 M pH 7.0 | 5 ml    |
| Agua                  | 37.5 ml |

Incubar en oscuridad a 37° C hasta que se definan las bandas, fijar y registrar.

Solución sustrato MDH:

|                                    |        |
|------------------------------------|--------|
| DL-ácido málico                    | 1.34 g |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 2M | 4.9 ml |
| Agua                               | 5.1 ml |



### 10. Octanol deshidrogenasa ODH (1.1.1.73)

|                       |          |
|-----------------------|----------|
| NADP                  | 0.0125 g |
| Solución sustrato ODH | 0.5 ml   |
| MTT 1%                | 1.0 ml   |
| PMS 0.1%              | 2.5 ml   |
| Tris-HCl 0.1 M pH 7.4 | 46.0 ml  |

Incubar en oscuridad a 37° C hasta que se definan las bandas, fijar y registrar.

#### Solución sustrato:

|           |        |
|-----------|--------|
| 1-octanol | 1.0 ml |
| Etanol    | 4.0 ml |

### 11. Fosfoglucomutasa PGM (5.4.2.2)

|   |         |
|---|---------|
| $\alpha$ -D- glucosa 1 fosfato              | 0.250 g |
| EDTA-Na <sub>2</sub>                        | 0.025 g |
| NBT   | 0.010 g |
| NADP  | 0.005 g |
| Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (100 u/ml) | 0.4 ml  |
| MgCl <sub>2</sub> 10%                       | 0.1 ml  |
| PMS 0.1%                                    | 1.0 ml  |

Aforar a 50 ml con Tris\_HCl 0.1M pH 7.1

Incubar en oscuridad a 37° C hasta que se definan las bandas, fijar y registrar.

### 12. Proteínas generales PTO (-----)

Cubrir el gel con solución azul de coomasie R250 (2.5%) de una a 12 horas.  
Enjuagar con solución fijadora y desteñidora y dejar en esta solución 24 horas o el tiempo requerido para que se de un buen contraste entre las bandas y el gel. Hacer recambios periódicos de la solución

### 13. Superóxido dismutasa SOD (1.15.1.1.)

|                      |         |
|----------------------|---------|
| Sorbitol             | 0.25 g  |
| NAD                  | 0.005 g |
| MTT 1%               | 0.7 ml  |
| PMS 0.1%             | 1 ml    |
| Tris-HCl 0.1M pH 8.0 | 48.3 ml |

Incubar en oscuridad a 37° C hasta que se definan las bandas, fijar y registrar.

#### 14. Xantina deshidrogenasa XDH (1.1.1.204)

|  |         |
|--|---------|
| Hipoxantina <sup>c</sup>                                   | 0.05 g  |
| Tris-HCl 0.5 M pH 7.0                                      | 5.0 g   |
| <sup>c</sup> Disolverse 15 minutos antes de mezclarse con: |         |
| NAD  | 0.015 g |
| MTT 1%   | 1 ml    |
| PMS 0.1%   | 1 ml    |
| Agua   | 43 ml   |

Incubar en oscuridad a 37° C hasta que se definan las bandas, fijar y registrar.

## IX.2.- SOLUCIONES AMORTIGUADORAS PARA ELECTROFORESIS

### 1.- Amortiguador A.

|           |               |          |
|-----------|---------------|----------|
| Electrodo |               |          |
| pH = 7.0  | Tris          | 0.135 M  |
|           | Acido Citrico | 0.045 M  |
|           | EDTA          | 0.0012 M |

#### Gel

|          |               |          |
|----------|---------------|----------|
| PH = 7.0 | Tris          | 0.009 M  |
|          | Acido Citrico | 0.003 M  |
|          | EDTA          | 0.0012 M |

### 3.- Amortiguador C.

|           |               |         |
|-----------|---------------|---------|
| Electrodo |               |         |
| pH = 8.0  | Tris          | 0.687 M |
|           | Acido Citrico | 0.157 M |

#### Gel

|          |               |           |
|----------|---------------|-----------|
| PH = 8.0 | Tris          | 0.02289 M |
|          | Acido Citrico | 0.00522 M |

### 2.- Amortiguador B.

|           |                      |        |
|-----------|----------------------|--------|
| Electrodo |                      |        |
| pH = 7.4  | Tris                 | 0.1 M  |
|           | Acido maléico        | 0.1 M  |
|           | EDTA-Na <sub>2</sub> | 0.01 M |
|           | Cloruro de magnesio  | 0.01 M |

#### Gel

Dilución 1:9 del amortiguador

### 4.- Amortiguador E.

|           |                      |        |
|-----------|----------------------|--------|
| Electrodo |                      |        |
| pH = 8.0  | Tris                 | 0.5 M  |
|           | EDTA-Na <sub>2</sub> | 0.02 M |
|           | Acido Borico         | 0.65   |

#### Gel

Dilución 1:9 del amortiguador