

Estudios del polimorfismo de la hemoglobina para identificar especies del género *Chirostoma* del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México

Norma Alaye Rahy

Centro Regional de Investigación Pesquera de Pátzcuaro. INP. Calz. Ibarra #28, Col. Ibarra, Pátzcuaro, Mich.

ALAYE-RAHY, N. 1996. Estudios del polimorfismo de la hemoglobina para identificar especies del género *Chirostoma* del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. INP. SEMARNAP. *Ciencia Pesquera* No. 13.

El control electroforético de las proteínas (*Sistemática Bioquímica*) ha sido ampliamente utilizado para confirmar el *status* taxonómico de especies simpátricas. Aquí el polimorfismo de la molécula de la hemoglobina se usó para discriminar entre especies del género *Chirostoma*, por la electroforesis en gel de acrilamida, con base en el número de bandas y su intensidad. Esta técnica se aplicó en la sangre de 51 individuos del género *Chirostoma* del Lago de Pátzcuaro, Mich., México, L.T.>120 mm, identificados por taxonomía clásica: *C. estor estor* (21), *C. estor copandaro* (5), *C. lucius* (10), *C. humboldtianum* (2), *C. grandocule* (3) y 10 individuos con características de más de una especie. Se observó que todas las especies poseen un patrón electroforético de tres bandas de intensidades variables, con excepción de *C. lucius*, que posee un patrón característico de nueve bandas. Estos datos electroforéticos permiten confirmar la presencia de la especie alopatrica *C. lucius* en el Lago de Pátzcuaro. Finalmente, se recalca que el uso combinado de los datos electroforéticos con el análisis merístico y morfométrico es de suma importancia para impedir la inclusión de alguna progenie individual en la producción total, ya sea experimental o comercial.

Palabras claves: *Chirostoma*, Sistemática, Electroforesis, Hemoglobina, Lago de Pátzcuaro.

The electrophoretic control of proteins (Biochemical Systematics) has been widely used to assess the taxonomic *status* of sympatric species. Thus the hemoglobin polymorphism was used in this study, for interspecies comparisons among species, according to their electrophoretic patterns on acrylamide electrophoretic gel. This technique was applied to the blood of 51 organisms of *Chirostoma* from Lake Patzcuaro, Mich., México, Total length>120 mm, identified according to meristics and morphometrics values: *C. estor estor* (21), *C. estor copandaro* (5), *C. lucius* (10), *C. humboldtianum* (2), *C. grandocule* (3) and organisms with characteristics of more than one species (10). It was observed that the native species exhibit three bands in the cathodic region of the gel, that varies in intensity according to the specie, but the allopatric specie introduced into the ecosystem, *Chirostoma lucius*, presents a remarkable different pattern of bands. In view of the similarities in the electrophoretic patterns of native species, the utility of the present electrophoretic data was to confirm the presence of *C. lucius* in Lake Patzcuaro. Finally the combined use of electrophoretic data along with meristic and morphometric analysis are recommended to avoid the inclusion of any single progenie in the total production, both experimental or commercial.

Keys words: *Chirostoma*, Systematic, Electrophoresis, Hemoglobin, Lake Patzcuaro.

Introducción

El género *Chirostoma* pertenece a la familia Atherinidae de América del Norte y subsiste como un grupo de especies nativas simpátricas que habitan los lagos situados a lo largo del eje neovolcánico transversal mexicano: Chapala, Cuitzeo, Pátzcuaro y Zirahuén. En la población nativa de *Chirostoma* del Lago de Pátzcuaro coexisten especies de tallas pequeñas, como los charales, junto a especies de mayor longitud como el *C. estor estor*, el llamado pescado blanco, que tiene amplia demanda comercial, a la cual contribuyen factores: a) turístico, asociado a los atractivos de la región; b) comercial, ya que su precio es superior al de las demás especies y c) cultural y étnico, asociados con la existencia de la población

purépecha ribereña. Sin embargo, la captura de pescado blanco ha ido disminuyendo por causas ya analizadas por Klimek¹, lo cual hace necesario buscar soluciones alternas para la conservación de la especie. Dentro de éstas, su cultivo en sistemas cercanos a los naturales en canales acuícolas (Klimek, 1987) demostró ser la más apropiada, ya que permite seguir la evolución de los individuos en un medio controlado y no únicamente mediante repoblaciones. Eso es lo que ocurre en las

1 KLIMEK G., R. Análisis de la producción pesquera en el Lago de Pátzcuaro. Aspectos ecológicos, sociales y económicos. Lab. de Limnología y Biogeoquímica, Informe Científico Interno. CRIP-Pátzcuaro. Instituto Nacional de la Pesca. Secretaría de Pesca. México. 1990.

— Síntesis Limnológica del Lago de Pátzcuaro, Instituto de Ecología Aplicada de Guerrero. México. 1990. 105 p.

actuales reservas ecológicas, donde se liberan millones de crías cuyo destino final se desconoce, aunque se pueden plantear como hipótesis que sirven como forraje de carnívoros o que son capturadas como tripilla o charal, en el mejor de los casos. El otro problema que se provoca al desovar especies no clasificadas es el de inducir la formación de híbridos.

Dentro de las líneas prioritarias de investigación del cultivo de especies nativas está la genética, que pretende dar respuesta a necesidades concretas, como la selección de líneas puras de reproductores que puedan ser utilizados en cultivos piloto y posteriormente comerciales.

Se considera que toda biotecnología, o sea la aplicación de sistemas tecnológicos a sistemas biológicos para conseguir un bien o un servicio, tiene como base individualizar con certeza el tipo de sistema biológico con el que se está trabajando desde sus bases genéticas; lo que hasta la fecha no se ha previsto en los experimentos llevados a cabo por diferentes instituciones, ni en las llamadas reservas del Lago de Pátzcuaro, que únicamente contribuyen a una repoblación empírica con resultados aún no evaluados.

La selección de reproductores de *Chirostoma* realizada únicamente por el tamaño de los individuos no es segura. Un estudio taxonómico anterior (Alaye, 1993) demostró que son varias las especies del género que entran en la composición de los individuos a los que indistintamente se denomina "pescado blanco". Por tanto, es necesario resolver el problema taxonómico de *Chirostoma* como punto de partida para cualquier investigación aplicada a la acuicultura.

Dado que los métodos tradicionales de la taxonomía resultan ambiguos al clasificar poblaciones de *Chirostoma* y el auge alcanzado en las dos últimas décadas por métodos bioquímicos (sistemática bioquímica) que permiten caracterizar proteínas y se aplican a problemas taxonómicos, este estudio se basa en los patrones electroforéticos variables que puede presentar la molécula de hemoglobina para identificar especies congénicas.

Entre las conclusiones y recomendaciones derivadas de este trabajo surge que la sistemática clásica no discrimina perfectamente las especies simpátricas de *Chirostoma* y que los individuos que se vaya a utilizar en cultivos sean de longitud total (LT) superior a los 200 mm para introducir la selección de las especies que alcanzan mayores tallas.

Antecedentes

El género *Chirostoma* ha sido estudiado ampliamente por métodos taxonómicos clásicos y una amplia revisión de los mismos figura en Barbour (1973). Con base en la clasificación aplicada por este autor en especies de *Chirostoma* de la meseta central de México, Alaye (1993) realizó en el Lago de Pátzcuaro el análisis taxonómico de las especies conocidas como "pescado blanco" (talla superior a 120 mm L.T.) y encontró entre ellas a las especies y subespecies *C. e. estor*, *C. e.*

copandaro, *C. grandocule*, *C. humboldtianum* y *C. lucius*, además de un cierto número de individuos que poseen caracteres de dos o más especies.

El polimorfismo de la hemoglobina se ha estudiado en una amplia gama de familias de peces a partir de que fuera demostrado por Smithies (1959) el gran poder resolutivo de la electroforesis en gel de almidón. El miógeno, la transferrina y otras enzimas del suero también demostraron ser específicas de especie y subespecie cuando los demás caracteres convencionales de clasificación fueron insuficientes para detectar diferencias, según Tsuyuki y Robert (1965a, 1965b, 1966.), Tsuyuki y Ronald (1970), Tsuyuki *et al.* (1966, 1968), Yamana (1967), Sharp (1969), Utter *et al.* (1970), Chen y Tsuyuki (1970), May (1975), Bodaly (1977), por citar algunos de los trabajos pioneros sobre el tema.

Métodos y materiales

Colecta de individuos

Los individuos se obtuvieron en 1989 y 1990 de la captura comercial con chinchorro en las zonas sur y norte del Lago de Pátzcuaro, frente a las localidades de Uranden, Napízaro, Erongarícuaro, Janitzio, Espíritu, Ichupío y San Jerónimo. Para ello, se escogieron peces de longitudes superiores a 120 mm LT, independientemente de la edad, ya que la expresión de las proteínas permanece constante a lo largo de toda la vida. Los peces fueron sangrados en el campo por punción cardíaca con jeringa tuberculina. La sangre se recogió con anticoagulante de Wintrobe y se trasladó al laboratorio en hielo.

Procesamiento de la muestra de sangre

La concentración de hemoglobina en sangre total se determinó en laboratorio por el método de Sahli utilizando el reactivo de Drabkin. Posteriormente, la hemoglobina fue separada por una combinación de los métodos de Jepsson (1977) y Pharmacia (1982) hasta obtener una concentración final de 5 a 10 g/l de hemoglobina.

Se obtuvo la forma CN estable de la hemoglobina por agregado de KCN (solución de 100 mg/ml) hasta una concentración final 0.01 M. Las muestras se conservaron en refrigeración hasta el momento de ser utilizadas.

Mediciones morfológicas

Se registraron zonas y fechas de captura; se determinó longitud total y patrón, peso, sexo, grado de madurez gonádica de los individuos; se obtuvieron datos de 18 caracteres merísticos y ocho morfométricos de acuerdo con las claves de Hubbs y Lagler para los géneros *Chirostoma* y *Melaniris* (Barbour, 1973)

Tratamiento estadístico de las mediciones morfológicas

Se obtuvieron intervalos y medias de los caracteres y se aplicó análisis de varianza para demostrar diferencias significativas entre las medias de los caracteres entre *C. lucius* y *C. e. copandaro* con respecto a *C. e. estor*. No se aplicó a las otras especies, dado el pequeño tamaño de la muestra. Se compararon los resultados encontrados en el presente estudio, con los de un trabajo anterior (Alaye, 1993) y con Barbour (1973).

Electroforesis en Gel de Poliacrilamida (P.A.G.E.)

Se realizó electroforesis discontinua horizontal según Davis (1964), Canalco² (1968) y Gordon (1975), utilizando un gel de acrilamida (30 g%) y bisacrilamida (0.8 g%) en proporciones adecuadas para obtener un gel concentrador (4% de T y 2.7% de C) en buffer de Tris-HCl, pH 6.7 y un gel resolvidor (10% de T y 2.7% de C) en buffer de Tris-HCl pH 8.5. Como iniciadores de la catálisis se usaron soluciones de N, N', N'-Tetrametiletilenediamina (TEMED) y persulfato de amonio. El aparato de electroforesis horizontal (construido en el laboratorio) está constituido por dos cubetas de acrílico para el buffer de 25x5x6 cm (400 ml de capacidad), con dos compartimentos conectados por puentes de papel filtro, en uno de los cuales están sumergidos los electrodos de platino, que corren dentro de varillas de acrílico, y el otro sirve a su vez de soporte para la placa electroforética, todo cual se sitúa dentro de otro recipiente de acrílico de 37x27x10 cm, con tapa. El equipo se coloca dentro de una hielera para mantener la temperatura 4° C. Los electrodos están conectados a una fuente de poder regulada de 1000 V.

La cantidad de hemolizado sembrada estuvo de acuerdo con la concentración de hemoglobina de las muestras y varió entre 1 y 20 µl, para obtener una concentración de 70 µg de proteína. El buffer de los electrodos fue trisglicina pH 8.3. Las corridas se realizaron a 360 V y, 25 mA, a 4 °C durante nueve horas. Se utilizó albúmina de bovino (PM 65,000) y ureasa (PM 272,000) como marcadores moleculares.

Los geles se tiñeron con azul de Coomassie al 0.5 g% hasta el día siguiente. Como líquido decolorante se utilizó una solución de ácido acético-etanol-agua. Los geles se desecaron en papel celofán dulce y se fotografiaron.

Resultados

Obtención de la muestra

Se sangraron 51 individuos con tallas entre 138 y 298 mm LT. Los volúmenes de sangre extraídos guardaron relación con el tamaño de los peces y variaron entre 0.12 ml y 1.1 ml, con una media de 0.41 ml.

2 CANALCO. Disc Instruction Manual. Canal Industrial Corporation. Rockville. Maryland. Prep. 1968.

Morfología

En cuanto a apariencia general, todos los individuos examinados fueron del género *Chirostoma*, según las claves de Jordan, y en la muestra se identificaron las especies *C. e. estor* (21), *C. e. copandaro* (5), *C. lucius* (10), *C. humboldtianum* (2) y *C. grandocule* (3). Se separaron para otro estudio 10 individuos (19.6%) de la muestra que presentaron caracteres de más de una especie.

Se confeccionaron las *tablas 1 y 2* con el número de individuos y especies encontradas, intervalos, tallas medias y otros datos métricos y morfométricos de los individuos de cada especie.

En las *tablas 3 y 4* se dan los resultados del análisis de varianza (F) entre las medias de caracteres de *C. e. estor* con respecto a *C. lucius* y a *C. e. copandaro* y se comparan las principales diferencias entre los resultados de este estudio y otros dos (Alaye, 1993; Barbour, 1973, ya citados).

Tabla 1. Número de individuos, porcentaje, longitud total y patrón de las diferentes especies de *Chirostoma* en la muestra (n= 51).

ESPECIE	No.	%	LONGITUD TOTAL (mm)		LONGITUD PATRON (mm)	
			Intervalo	Media	Intervalo	Media
<i>C. estor estor</i>	21	41.1	144-298	200	121-252	168
<i>C. e. copandaro</i>	5	9.8	180-257	221	143-215	186
<i>C. lucius</i>	10	19.6	173-231	196	143-193	162
<i>C. humboldtianum</i>	2	3.9	153-259	206	124-217	170
<i>C. grandocule</i>	3	5.8	138-220	169	113-185	141
<i>Chirostoma spp</i>	10	19.6	156-232			

Electroforesis de hemoglobina

Los patrones electroforéticos encontrados en los individuos del género *Chirostoma* pueden describirse como sigue, enumerando las bandas del cátodo (+) hacia el ánodo (-):

1. Los individuos identificados como *C. e. estor* presentaron tres bandas en la región catódica de las cuales la #3 es la más intensa.
2. Los individuos identificados como *C. lucius* presentaron un patrón con bandas catódicas de igual intensidad y movilidad que las de *C. e. estor*, pero también otras bandas hacia la zona anódica, como son: las bandas #4 y 5, tenues y cercanas; la #6, más intensa; las bandas #7 y 8, tenues; y, por último, la #9.
3. Los individuos clasificados como *C. e. copandaro* presentaron las tres bandas catódicas casi de igual intensidad.
4. *C. humboldtianum* presentó un patrón de tres bandas catódicas, de las cuales fueron más intensas la #2, a veces subdividida en dos bandas, y la #3.
5. *C. grandocule* presentó tres bandas catódicas, de las cuales la banda #1 fue la más intensa.

En la *figura 1* se dan los esquemas de los patrones electroforéticos de las distintas especies de *Chirostoma* y los Rf de las bandas obtenidas. Los tres componentes mayores en todos los casos demostraron tener un peso molecular semejante al de la ureasa = 272, 000 (Figs. 1 a 7).

Tabla 2. Intervalo y media de caracteres morfométricos y merísticos (expresados en % de la longitud patron)

C. MORFOMÉTRICO	<i>C. e. estor</i>	<i>C. e. copandaro</i>	<i>C. lucius</i>	<i>C. humboldtianum</i>	<i>C. grandocule</i>
Long. cefálica	28.6-32.9 (28.5)	27.4-30.6 (28.5)	28.9-33.2 (30.1)	27.3-30.7 (28.4)	25.6-28.9 (26.9)
Long. ocular	4.4-7.4 (5.9)	5.2-6.6 (5.8)	5.2-7.2 (6.5)	5.9-6.9 (6.3)	6.4-7.3 (6.9)
Long. mandibular	11.5-14.3 (12.6)	11.2-12.2 (11.8)	13.0-14.3 (13.4)	11.2-12.4 (11.8)	10.6-12.3 (11.5)
Long. del hocico	9.4-12.7 (10.7)	10.0-10.6 (10.3)	9.8-16.2 (11.5)	8.8-10.4 (9.7)	7.3-10.2 (8.9)
Long. postorbital	11.3-13.4 (12.3)	11.9-13.0 (12.3)	11.3-14.3 (12.3)	12.0-13.6 (12.7)	10.4-12.4 (11.4)
Long. H-aleta 1° d	52.2-58.7 (54.7)	52.3-56.6 (54.1)	53.7-60.1 (55.3)	53.5-55.4 (54.3)	52.1-54.5 (53.1)
Long. H-aleta 2° d	64.7-72.5 (67.5)	64.7-69.9 (67.1)	66.8-74.8 (68.3)	66.3-67.7 (67.2)	63.8-67.4 (65.7)
Long. H-aleta anal	57.8-68.7 (62.5)	60.7-65.7 (63.0)	61.1-69.6 (63.3)	60.7-67.2 (63.1)	60.8-62.1 (61.0)
Long. H-aleta pelv.	43.1-49.4 (45.9)	39.4-46.2 (44.0)	44.1-51.8 (46.8)	44.4-47.0 (45.7)	40.7-45.4 (43.1)
Long. base a. anal	15.0-20.7 (19.1)	18.6-20.8 (19.5)	18.0-21.7 (19.7)	18.4-23.0 (20.7)	17.2-21.7 (19.9)
Long. P. caudal	17.8-25.9 (20.9)	20.1-21.0 (20.2)	17.8-23.5 (20.9)	20.1-21.6 (20.8)	20.8-22.7 (21.5)
Altura máxima	13.9-20.1 (17.7)	17.4-19.5 (18.3)	14.7-18.8 (16.9)	14.2-19.3 (17.1)	15.2-17.8 (16.4)
Alt. Mín. P. caudal	6.4-8.0 (7.2)	7.1-7.5 (7.3)	6.5-8.1 (7.2)	7.2-7.5 (7.4)	6.6-8.0 (7.2)
Altura a. anal	11.6-16.2 (13.8)	11.9-19.0 (13.2)	12.2-15.1 (13.4)	12.8-16.7 (14.5)	13.9-15.2 (14.4)
Altura aleta 1° d	6.1-11.9 (8.1)	6.4-8.9 (7.3)	6.6-8.8 (7.7)	7.5-9.6 (8.4)	5.9-8.4 (7.2)
Altura aleta 2° d	9.1-15.0 (12.6)	11.1-15.0 (12.6)	11.8-14.0 (12.6)	12.6-15.0 (13.7)	13.5-14.1 (13.8)
Altura a. pectoral	13.8-18.1 (16.2)	14.9-19.0 (16.3)	14.5-18.7 (16.4)	15.2-18.7 (17.0)	16.2-17.6 (16.9)
C. MERÍSTICOS					
N° esc. predorsales	53-103 (69.3)	58-84 (63.8)	47-84 (63.1)	38-58 (48.6)	40-56 (50.6)
N° esc. laterales	65-92 (75.8)	72-84 (77.6)	66-78 (72.7)	63-72 (68.3)	64-76 (68.0)
N° esc. interdorsal.	11-22 (13.6)	12-16 (14.6)	12-17 (14.5)	12-14 (12.6)	12-16 (13.3)
N° branquiespinas	23-27 (25.0)	22-28 (25.3)	22-28 (26.1)	23-26 (24.6)	28-32 (30.3)
N° r. aleta anal	1-15-1-23 (19.1)	1-17-1-23 (20.4)	1-17-1-23 (19.6)	1-17-1-20 (19.0)	1-19-1-21 (19.6)
N° r. aleta 1° dorsal	1-3-1-5 (4.0)	1-3-1-5 (4.0)	1-4-1-5 (4.5)	1-4-1-4 (4.0)	1-4-1-4 (4.0)
N° r. aleta 2° dorsal	1-11-1-12 (11.9)	1-11-1-12 (11.8)	1-10-1-13 (11.5)	1-10-1-12 (11.0)	1-11-1-12 (11.6)
N° r. aleta pectoral	12-16 (14.6)	13-15 (13.8)	13-16 (14.5)	13-15 (14.0)	13-14 (13.6)

Tabla 3. Resultado del análisis de varianza (f) entre caracteres comparados entre *C. lucius* y *C. copandaro* y *C. estor estor*.

CARACTERES	Medias de <i>C. lucius</i>	Valor de (f)	Medias de <i>C. e. copandaro</i>	Valor de (f)
A) caracteres morfométricos				
Long. cefálica	Mayor	3.50	Igual	0.0
Long. ocular	Mayor	0.40	Menor	0.92
Long. mandibular	Mayor	7.2 (**)	Menor	11.6 (**)
Long. del hocico	Mayor	1.35	Menor	2.5
Long. postorbital	Mayor	1.06	Menor	0.05
Long. hocico a 1° dorsal	Mayor	0.64	Menor	2.69
Long. hocico a 2° dorsal	Mayor	0.82	Menor	1.52
Long. h. A aleta pelv.	Mayor	2.31	Menor	2.63
Long. base de la a. Anal	Mayor	0.66	Mayor	1.8
Long. del pd. caudal	Menor	0.03	Mayor	0.4
Altura máxima	Menor	1.51	Mayor	-----
Altura mín del pd caudal	Mayor	0.24	Mayor	-----
Altura de la aleta anal	Mayor	0.77	Menor	0.54
Altura de aleta 1° dorsal	Menor	0.97	Menor	2.03
Altura aleta 2° dorsal	Mayor	0.50	Menor	0.31
Altura de la aleta pect.	Mayor	0.46	Igual	0.0
B) Caracteres merísticos				
Escamas predorsales	Menor	2.14	Menor	0.34
Escamas laterales	Menor	1.43	Mayor	1.14
N° escamas interdorsales	Menor	1.1	Menor	0.3
N° branquiespinas	Mayor	2.7	Mayor	0.16
N° radios de la aleta anal	Mayor	0.63	Mayor	0.99
N° radios aleta 1° dorsal	Mayor	2.36	Igual	0.0
N° radios de la a. 2° dorsal	Menor	0.71	Menor	0.5
N° radios de la aleta pect.	Menor	0.1	Menor	1.8

(**) significativa al 95% (p < 0.05)

Algunos individuos con caracteres taxonómicos dudosos y patrones atípicos (Fig. 7) fueron analizados en otro estudio (Alaye³).

Tabla 4. Comparación entre intervalos de valores taxonómicos obtenidos en este estudio y por Barbour (1973).

ESPECIE	CARÁCTER	ESTE ESTUDIO	Alaye (1993)	Barbour (1973)	DIFERENCIA OBSERVADA
<i>C. e. estor</i>	long. hocico	9.8-12.7	9.7-12.6	10.5-12.3	< Lim. inferior
<i>C. e. copandaro</i>	N° esc. predorsal.	58-64	48-66	39-64	> Lim inferior
	Long. mandibular	11.2-12.2	11.3-12.3	10.3-12.2	> Lim. inferior
<i>C. lucius</i>	N° esc. lin. media	66-78(*)	50-78	52-76	< Intervalo (*)
	Long. del hocico	9.5-12.7(*)	11.0-13.3-	10.5-12.5	< Lim. inferior
	Long. mandibular	13.0-14.3	12.5-16.4	13.1-17.9	< Lim superior
	Long. base a. anal	18.0-21.7	17.1-21.6	19.2-23.4	Val. menores
	Alt. mín. pd. caudal	6.5-8.1	6.1-7.9	8.3-9.2	Val. menores
<i>C. humboldtianum</i>	N° esc. lin. media	63-72	61-77	43-73	> Lim. inferior
	Long. del hocico	8.8-10.4	9.6-11.9	8.4-13.4	< Lim. superior
	Long. postorbital	12.0-13.6	12.9-15.0	12.2-16.8	< Lim superior
<i>C. grandocule</i>	N° escamas pred.	40-56	44-62	58-77	< N° escamas

(*) Sólo en el presente estudio.

3 ALAYE, N. Híbridos entre especies del género *Chirostoma* del Lago de Pátzcuaro, Mich. México. 1994.

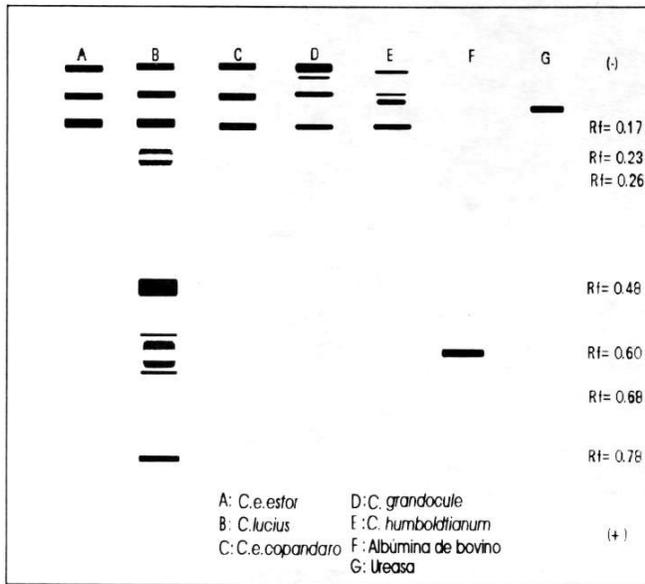


Fig. 1. Esquemas de patrones electroforéticos de la hemoglobina de diferentes especies de pescado blanco *Chirostoma* spp. del lago de Pátzcuaro, Mich., México.

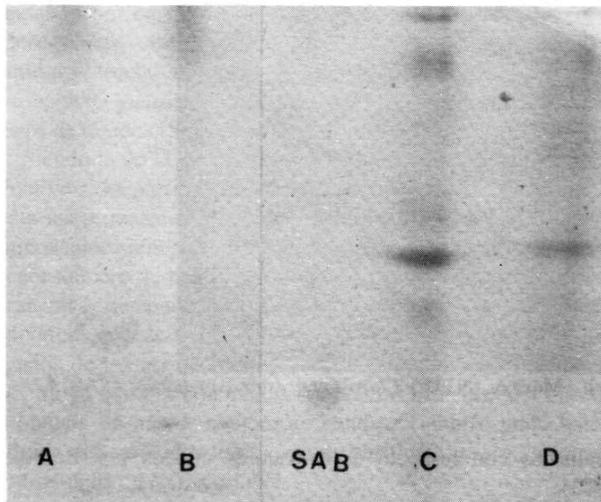


Fig. 2. Electroforesis del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, Mich., México. (A,B), *Chirostoma estor estor*; (SAB), seroalbúmina bovina; (C-D), *Chirostoma lucius*.

Discusión

Morfología

Las especies de *Chirostoma* de tallas típicas de pescado blanco identificadas en este estudio son las mismas que se mencionan en un trabajo anterior (Alaye, 1993), aunque en porcentajes diferentes. Se encontró mayor proporción de *C. lucius* y fueron

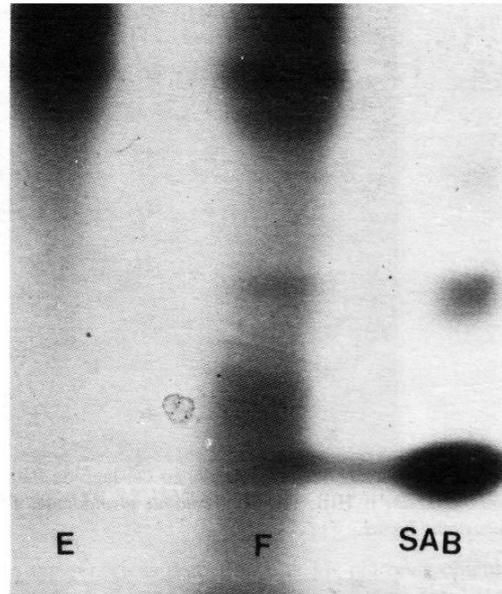


Fig. 3. Electroforesis del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, Mich., México. (E), *Chirostoma estor estor*; (F), *Chirostoma lucius*; (SAB), seroalbúmina bovina.

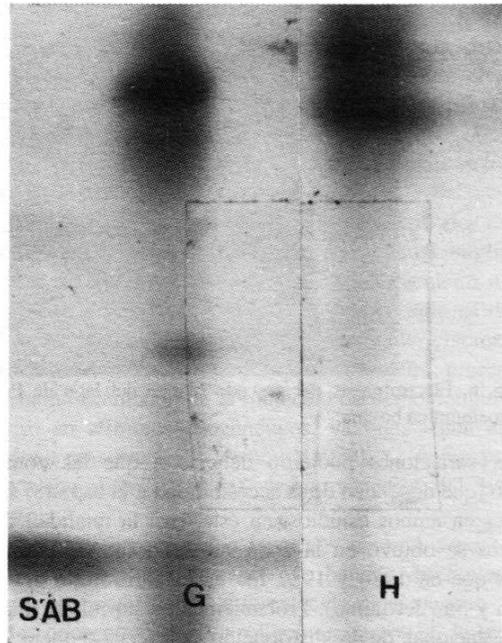


Fig. 4. Electroforesis del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, Mich., México. (SAB), seroalbúmina bovina; (G), *Chirostoma lucius*; (H), *Chirostoma estor estor*.

menores las de *C. copandaro*, *C. humboldtianum* y *C. grandocule*. También fue mayor la proporción de individuos de identidad dudosa, con caracteres de más de una especie.

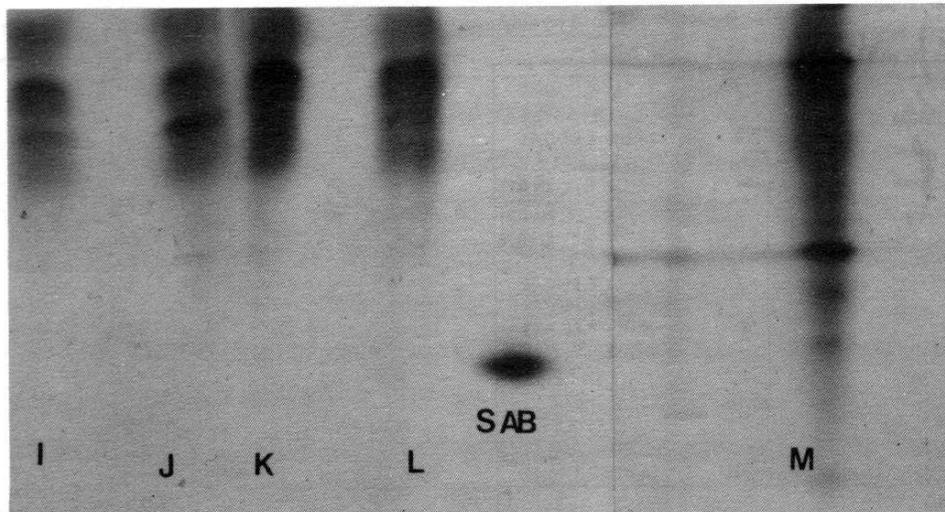


Fig 5. Electroforesis del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, Mich., México. (Y), *Chirostoma humboldtianum*; (J), *Chirostoma humboldtianum* o HIB; (K), *Chirostoma grandocule*; (Y), *Chirostoma grandocule* o HIB; (SAB), seroalbúmina bovina; (M), *Chirostoma lucius*.

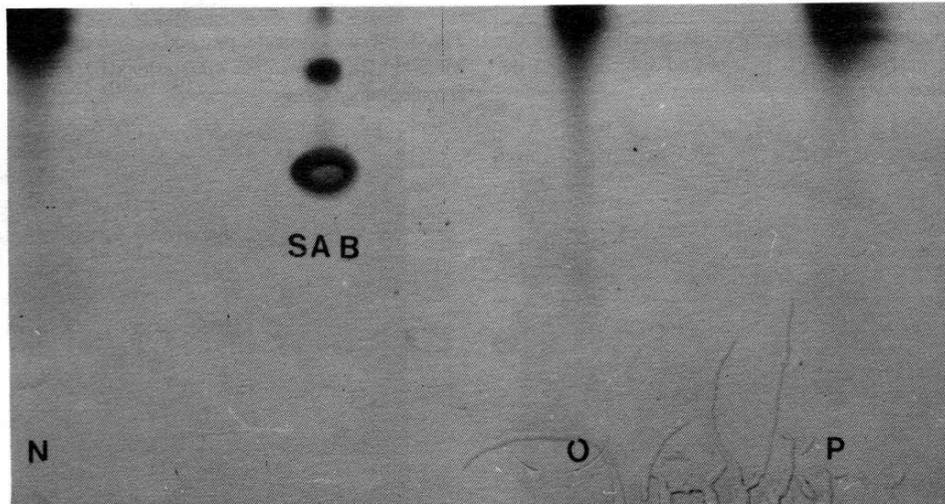


Fig. 6. Electroforesis del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, Mich., México. (N,O,P) *Chirostoma estor copandaro*; (SAB), seroalbúmina bovina.

Estas variaciones pudieron deberse a que las zonas de muestreo (que dependen de la accesibilidad a la captura) fueron diferentes en ambos estudios; en éste, casi la totalidad de los individuos se obtuvo en la zona sur del Lago de Pátzcuaro, mientras que en 1986 y 1987 fue en la parte norte del Lago (Ichupío y San Jerónimo). Probablemente esto refleje una tendencia estacional de la distribución del recurso fuera de la época de desove, ya que, según comentarios de pescadores de la ribera, si bien en la zona norte se obtienen individuos de mayores tallas, en la zona sur la abundancia es mayor.

Al analizar la tabla 4, en la que se comparan los caracteres merísticos y morfométricos entre especies, se observa que en la mayoría de los casos los valores coinciden con los obtenidos en trabajos anteriores y en algunos las desviaciones son más

acentuadas con respecto a los valores citados por Barbour (1973).

Las diferencias más constantes observadas corresponden en *C. e. estor* a la longitud del hocico; en *C. lucius* a la longitud del hocico, longitud mandibular, longitud de la base de la aleta anal, altura mínima del pedúnculo caudal y el número de escamas de la línea media; la subespecie *C. e. copandaro* presenta un número mayor de escamas predorsales y longitud mandibular; *C. humboldtianum* tiene intervalos más restringidos en el número de escamas de la línea media y *C. grandocule* menor número de escamas predorsales, reportadas también por Estrada (1990). Los caracteres que presentaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 3) coinciden también con los reportados por Alaye (1993).

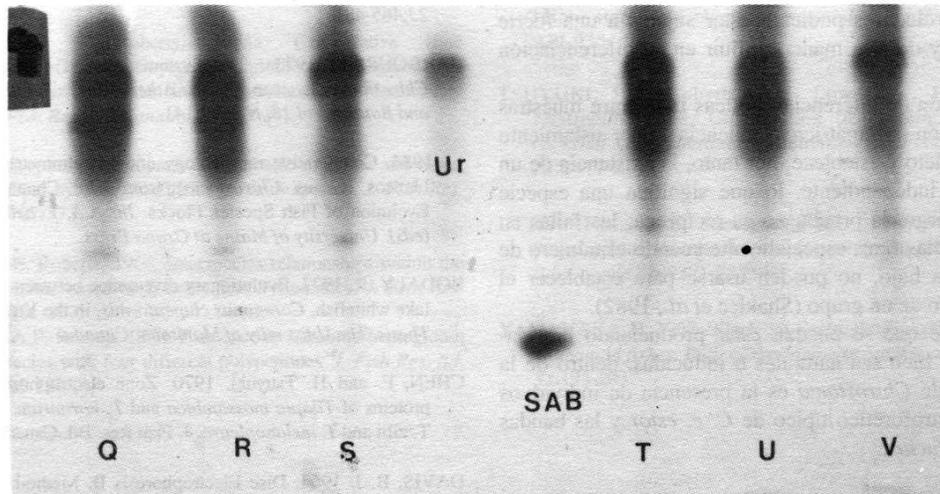


Fig. 7. Electroforesis del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, Mich., México. (Q,R,S,T,U,V), híbridos de *Chirostoma* sp.; (Ur), ureasa; (SAB), seroalbúmina bovina.

Polimorfismo de la hemoglobina

A pesar del mayor poder resolutivo de los geles de poliacrilamida sobre los geles de almidón, los patrones electroforéticos de la hemoglobina de *Chirostoma* presentaron un número de bandas menor en comparación con los reportados por diversos autores sobre otras especies de aguas dulces; por ejemplo, salmón y trucha (Tsuyuki *et al.*, 1965a, 1966; Yamanaka, 1967); pero guardan cierta semejanza con respecto a los patrones de tünidos (Sharp, 1969).

Siendo la de la hemoglobina una molécula que, en términos evolutivos, ha sufrido pocas variaciones desde los ciclóstomos hasta los primates (p.ej.: la hemoglobina de la carpa posee 62 aminoácidos menos que la humana, según Dobzhanky, 1977), el menor número de bandas obtenidas en *Chirostoma* se debería a la técnica de punción cardíaca usada para sangrar a los individuos en este trabajo, evitando la hemolisis, problema que algunos de los autores admiten en sus técnicas (Tsuyuki *et al.*, 1965a), ya que por contaminación con las proteínas del plasma se obtiene un mayor número de bandas. También pudo haber influido el método usado para purificar y conservar la hemoglobina en forma estable.

Otra discrepancia relacionada con los componentes mayores de la hemoglobina de *Chirostoma* es que el autor antes mencionado cita en el mismo trabajo pesos moleculares de las hemoglobinas de peces cercanos a los de la hemoglobina humana, entre 61,000 y 72,000, mientras que los obtenidos en este trabajo son próximos a los de la ureasa de peso molecular de 272,000 (Fig. 7).

Por estudios genéticos se sabe, dada la independencia de los aminoácidos de las cadenas *Alfa* y *Beta* de la hemoglobina, que los genes que determinan sus secuencias se encuentran en *loci* diferentes (Strickberger, 1968), resultando una molécula tetramérica producto de dos genes independientes. En estas

especies congénéricas parecería que los patrones obtenidos en *C. estor estor*, la subespecie *C. e. copandaro*, *C. humboldtianum* y *C. grandocule* corresponden a dos sistemas homocigóticos de cinco bandas de diferentes intensidades, con sólo los heterotetrámeros presentes, mientras que el patrón de *C. lucius* sería producto de dos sistemas heterocigóticos.

La numeración de las bandas (fenotipos) son determinaciones objetivas basadas en sus moviidades sobre el gel. En *Chirostoma* y en varias especies congénéricas se observa que algunos *loci* parecen ser mas conservadores que otros (tres bandas catódicas con algunas variaciones) presentes en todas las especies.

El número de bandas presentes y sus intensidades relativas permanecen constantes en cada especie, lo cual implica una concentración constante de los oligomonómeros en las mismas. Las zonas en donde la concentración de la banda es débil se pierden al fotografiarse; sin embargo, son visibles claramente en el gel original. El hecho de que *C. lucius* presente un polimorfismo acentuado de la molécula de hemoglobina podría explicarse en términos filogenéticos, ya que, según el árbol filogenético presentado en Barbour (1973), *C. lucius* proviene de una rama diferente a las demás especies del Lago de Pátzcuaro.

En las otras especies, los fenotipos obtenidos no exhiben diferencias cualitativas (número de bandas diferentes) sino cuantitativas (intensidades diferentes) que dependen de las diferentes concentraciones de oligomonómeros en la molécula (Strickberger, 1968)

No se sabe si las varias especies congénéricas identificadas por taxonomía clásica son unidades arbitrarias que no reflejan mayores diferencias genéticas o si el grado de resolución de la técnica electroforética empleada es muy limitado para dar seguimiento a diferencias reales; pero ambos elementos pudieran estar incluidos. Por otra parte, estas especies

simpátricas están descritas con base en caracteres morfológicos cuyos genes controladores pudieran estar sujetos a una fuerte selección natural y de esta manera influir en su diferenciación (Avisé, 1974).

La demostración de diferencias alélicas fijas entre muestras de una población simpátrica evidencia un aislamiento reproductor completo y establece, por tanto, la existencia de un paquete genético independiente, lo que significa una especie distinta. Sin embargo, la prueba no es recíproca; las fallas en demostrar diferencias fijas, especialmente cuando el número de loci examinado es bajo, no pueden usarse para establecer el estado coespecífico de un grupo (Shaklee *et al.*, 1982).

Una prueba de que se puedan estar produciendo hibridaciones extensivas, bien sea naturales o inducidas, dentro de la población nativa de *Chirostoma* es la presencia de individuos con el patrón electroforético típico de *C. e. estor* y las bandas adicionales de *C. lucius*,

Conclusiones

1. Por análisis morfológico de la población de *Chirostoma*, dentro de lo que se conoce como "pescado blanco", además de la especie típica (*C. e. estor*), se identificaron otras, que son: *C. lucius*, *C. e. copandaro*, *C. humboldtianum* y *C. grandocule*, ya reportadas por Alaye (1993).
2. Por medio del análisis electroforético de la hemoglobina se confirmó la existencia de la especie *C. lucius* en el Lago de Pátzcuaro, ya que sus patrones de hemoglobina muestran una especificidad que permite identificarla con base en un análisis simple.

Recomendaciones

Se recomienda analizar un número mayor de proteínas y de sistemas enzimáticos para ampliar los hallazgos de este estudio.

Agradecimientos

Al Dr. Ricardo Klimek Gamas, quien diseñó y construyó el aparato de electroforesis horizontal y la fuente de poder regulada que se utilizaron en este trabajo. Al Ing. Petrolero Sergio Sabanero Meza, por su habilidad y paciencia para sangrar los individuos y por la ayuda prestada a bordo de lanchas y camionetas. Así mismo, al Qfb. Jorge Hernández López y al TAc. Nicolás Hernández Zárate, por su valiosa colaboración y ayuda en los muestreos de campo y en el laboratorio.

Referencias bibliográficas

ALAYE R., N. 1993. El pescado blanco (*Gen. Chirostoma*) del Lago de Pátzcuaro: composición de especies. *Ciencia Pesquera, Inst.Nal. de la Pesca. Sría de Pesca. México* (9):113-128.

AVISE, J. 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 23:465-481.

BARBOUR, C. 1973a. The Systematics and evolution of the genus *Chirostoma* Swainson (Pices, *Atherinidae*). *Tulane Studies Zoology and Botany. Vol 18, N 3:* 97:141.

— 1984. Comparative morphology and morphometrics of the pescados blancos (Genus *Chirostoma*) from lake Chapala, Mexico. From Evolution of Fish Species Flocks. In: A.A. Echelle and I. Kornfield (eds). *University of Maine at Orono Press.*

BODALY, R. 1977. Evolutionary divergence between currently sympatric lake whitefish, *Coregonus clupeaformis*, in the Yukon territory. Ph. D. Thesis. *The University of Manitoba, Canada.*

CHEN, F. and H. Tsuyuki. 1970. Zone electrophoretic studies on the proteins of *Tilapia mossambica* and *T. hornorum*, and their F hybrids *T. zillii* and *T. melanopleura*. *J. Fish Res. Bd. Canada.* 27:21676-2177.

DAVIS, B. J. 1964. Disc Electrophoresis II. Method and Application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 121, 404.

DOBZHANSKY, T. 1977. Evolution. *W.H. Freeman and Co. University of California. San Francisco. U.S.A.* 571 pp.

DUARTE, O. 1986. Introducción a la Bioestadística. *Universidad Autónoma de Tamaulipas. Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia.* 331 pp.

ESTRADA R., M.C. 1990. Verificación a nivel experimental de los híbridos entre *Chirostoma estor* y *Chirostoma grandocule* (Pisces: *Atherinidae*) del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. *Escuela de Biología. Universidad Michoacana de S.N.H.*

GORDON, A. 1975. Electroforesis de proteínas en geles de poliamida y de almidón. *Ed. El manual moderno. S.A. México.* 132.

JEPSSON, J. 1977. LKB Application Note, No. 307. Detection of abnormal hemoglobins by analytical thin layer electrofocusing in polyacrylamide gel. *Malmö. Sweden.*

KLIMEK G., R. 1987. Chinampas y canales acuícolas en el Lago de Pátzcuaro. En: Eutroficación y Canales Acuícolas en el Lago de Pátzcuaro. *Acuavisión. Revista Mexicana de Acuicultura. Año II. N° 10.*

MAY, B. 1975. Electrophoretic variation in the genus *Oncorhynchus*. The methodology, genetic basis and practical application to fisheries research. *M. Sc. Thesis. University of Washington.*

PHARMACIA Fine Chemicals. 1982. Isoelectrofocusing. *Principles and Methods.* 163 p.

SHARP, G. 1969. Electrophoretic study of tuna hemoglobins. *Comp. Biochem. Physiol.* 31:749-755.

SHAKLEE, J.B., Tamaru C.S. and R.S. Waples. 1982. Speciation and evolution of marine fishes studied by the electrophoretic analysis of proteins. *Pacific Science* 36, 141-157.

SMITHIES, O. 1959. An improved procedure for starch gels. Group variation in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* 61:629.

STRICKBERGER, M.N. 1968. *Genetics. Mc. Millan Co. New York.*

TSUYUKI, H. and E. Roberts. 1965a. Comparative zone electropherograms of muscle myogenes and blood hemoglobins of marine and freshwater vertebrates and their application to biochemical systematics. *J. Fish Res. Bd. Canada*, 22:203-211.

___1965.b Zone electrophoretic comparison of muscle myogens and blood proteins of artificial hybrids with their parental species. *J. Fish Res. Bd. Canada* 22:767-773.

TSUYUKI, H. and E. Roberts. 1966. Interspecies relationships within the genus *Oncorhynchus* based on Biochemical Systematics. *J. Fish Res. Bd. Canada* 23:101-107.

TSUYUKI, H. and A.P. Ronald. 1970. Existence in salmonid hemoglobin of molecular species with four different polypeptides. *J. Fish Res. Bd. Canada* 27: 1325-1328.

TSUYUKI, H.; E. Roberts, R.H. Kerr, and A.P. Ronald. 1966. Micro starch gel electrophoresis. *J. Fish Res. Bd. Canada* 23: 929-936.

TSUYUKI, H; E.Roberts, R.H. Lowes; W. Hadaway, and S.J. Nestrheim. 1968. Contribution of protein electrophoresis to rockfish (*Scorpaenidae*) systematics. *J. Fish Res. Bd. Canada* 25:2477-2501.

UTTER, F.M.; W.E. Ames; and H.O. Hodgins. 1970. Transferrin polymorphisms in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Fish Res. Bd. Canada* 27: 2371-2373.

YAMANAKA, H. 1967. Starch gel electrophoresis of fish hemoglobins III. Salmonoid fishes. *Bull. of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 33:195-203.