

# Caracterización isoenzimática de *Oreochromis niloticus* y *O. mossambicus* introducidas en México

Guadalupe Tenorio-Colín\*

## Resumen

**Caracterización isoenzimática de *Oreochromis niloticus* y *O. Mossambicus* introducidas en México.** Las tilapias son peces tropicales de agua dulce pertenecientes a la familia de los cíclidos, distribuidos ampliamente en todo el mundo. Sin embargo, las especies comercialmente importantes son marcadamente similares sobre todo en su morfología, lo que limita su identificación. Con el fin de identificar y caracterizar las diferentes especies de tilapias, se empleó la electroforesis de isoenzimas, como un método confiable e independiente de las características morfológicas y merísticas. Las especies empleadas para este estudio son *O. mossambicus*, línea genética albina, y 2 poblaciones de *O. niloticus*, una proveniente del Estado de Morelos, y otra del Estado de Oaxaca.. Los resultados obtenidos de las electroforesis demuestran un alto grado de heterocigosidad en las tres poblaciones, lo que sugiere una alta variabilidad genética, especialmente en *O. mossambicus*. Además, los resultados de similitud genética mostraron ser muy cercanos, no habiendo diferencias en el coeficiente de distancia genética, indicando ésto la imposibilidad de identificar *O. niloticus* de *O. mossambicus*.

**Palabras clave:** Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*), electroforesis, calidad genética, isoenzimas

## Abstract

**Isoenzymatic characterization of *Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus* introduced in Mexico.** Tilapias are fresh water tropical fish from ciclids family, widely spread all over the world. Nevertheless, the species commercially important are significantly similar, specially in its morphology, wich limits their identification. Reaching to identify and customize tilapias different species, it was used isozymes electrophoresis as a reliable method, independent from the morphologic and meristic characteristics. The species used for this study are albino *O. mossambicus* genetic line, and two samples (populations) of *O. niloticus*, one from Morelos and the other from Oaxaca region. The outcoming results from electrophoresis demonstrate high heterozygosity degree in the three populations wich suggests high genetic variability, specially in *O. mossambicus*. Furthermore, the genetic similarity results, proved to be quite close, with no differences in long distance coefficient, pointing out the impossibility to identify *O. niloticus* from *O. Mossambicus*.

**Keywords:** Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*), electrophoresis, genetic quality, isozymes.

## Résumé

**Caractérisation isoenzymatique d'*Oreochromis niloticus* et *O. mossambicus* introduits au Mexique.** Les tilapias sont des poissons tropicaux des eaux douces appartenant à la famille des ciclides, ils sont distribués amplement par tout dans le monde. Mais les espèces d'importances économiques sont très similaires sur tout quand on se réfère a la morphologie, caractéristique que limite son identification. Avec l'intention d'identifier et de caractériser les différentes espèces des tilapias, on a utilisé l'électrophorèse d'isoenzymes comme une méthode sûr et indépendant des caractéristiques morphologiques et de méristématiques. Les espèces utilisées dans cette étude ont été : *Oreochromis mossambicus*, de ligne génétique albina et deux populations de *Oreochromis niloticus*, l'une provenant de l'État de Morelos et l'outre de l'État de Oaxaca. Les résultats obtenus par électrophorèse montrent un haut degré de hétérozygotés dans les trois populations, c'est-à-dire, ils nous indique une grande variabilité génétique, particulièrement pour *O. Mossambicus*. Et les résultats de similitude génétique montrent un rapprochement important, car il y n'a pas de différences pour le coefficient de distance génétique, montrant ainsi l'impossible de identifier *O. niloticus* de *O. mossambicus*.

**Mots clés:** Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*), électrophorèse, qualité génétique, iso-enzymes

\*Instituto de Recursos, Universidad del Mar

## Introducción

La tilapia posee gran importancia en la producción de proteína animal en aguas tropicales y subtropicales de todo el mundo, particularmente en los países en desarrollo, siendo identificadas como las especies de mayor relevancia para la actividad acuícola. Los principales atributos que presenta la tilapia, que le permite ser considerada como uno de los organismos más apropiados para la piscicultura, son su rápido crecimiento, resistencia a enfermedades, elevada productividad, tolerancia a desarrollarse en condiciones de alta densidad, capacidad para sobrevivir a bajas concentraciones de oxígeno y a diferentes salinidades, así como a la habilidad de nutrirse de una amplia variedad de alimentos naturales y artificiales. Por otra parte, la carne es de excelente calidad, ya que es de textura firme, de color blanco y no posee huesos intramusculares, cualidad que la hace muy atractiva para el consumidor.

En las últimas décadas, se han importado diversas líneas genéticas de tilapias con el fin de obtener los resultados deseados en cuanto a las características arriba citadas, y que han demostrado ser efectivas desde el punto de vista productivo; sin embargo, el manejo de estas líneas no ha tenido una base científica, por lo que con el tiempo se han perdido sus características fundamentales, notándose en una baja en su tasa de crecimiento y, por lo tanto, en el rendimiento piscícola y pesquero (Arredondo *et al.*1994).

Las tilapias o mojarrafricanas, como se les conoce comúnmente a los cíclidos introducidos en México y objeto de este estudio, *Oreochromis niloticus*, y *Oreochromis mossambicus*, son especies aptas para el cultivo en zonas tropicales y subtropicales del país. Principalmente se les encuentra habitando en aguas lénticas, pero también en aguas lólicas a orillas de ríos entre piedras y plantas acuáticas. Son especies euritermas, siendo sus límites de tolerancia de 12°C a 42°C. La temperatura ideal para su cultivo fluctúa alrededor de los 25°C, aunque logran reproducirse aún a los 18°C. Son especies eurihalinas, ya que pueden vivir en aguas dulces,

salobres y marinas, con límites de tolerancia de 0/00 a 40 partes por mil, y en algunos casos, por arriba de esta salinidad. Además, son especies que soportan muy bajas concentraciones de oxígeno, con un requerimiento mínimo de 0.5 partes por millón. Se reproducen a temprana edad, alrededor de las 8 a 10 semanas, teniendo una talla de 7 a 16 cm., por lo que se dificulta el control de la población en los estanques donde se cultiva (Morales *et al.*1988).

## Problemas en la identificación y estudios en sistemática

A pesar de que existe una diferencia de criterios en cuanto al manejo de las diferentes cruces de tilapia, Seyoum y Kornfield (1992b), mencionan que el cíclido Africano *O. niloticus* (Linnaeus), es uno de los más ampliamente distribuidos y el pez más importante para la acuicultura de agua dulce. El límite natural de las especies es fragmentado y siete subespecies han sido descritas (Trewavas, 1983), para formalmente reconocer diferencias distintivas en morfología común de poblaciones alopátricas: *O. niloticus baringoensis* (Trewavas, 1983), *O. N. cancellatus* (Nichols, 1923), *O. n. eduardianus* (Boulenger, 1912), *O. n. filoa* (Trewavas, 1983), *O. n. niloticus* (Linnaeus, 1757), *O. n. sugutae* (Trewavas, 1983), y *O. n. vulcani* (Trewavas, 1932). Esta clasificación está basada en características osteológicas y diferencias merísticas y morfométricas mezcladas. No obstante, ninguna de estas características, solas o combinadas, pueden ser usadas para identificar inequívocamente individuos de estas especies de peces, ya que se sobreponen muchos caracteres entre subespecies, como se ve en las claves de identificación de Boulenger (1915), y en las descripciones de Trewavas (1965, 1966a, 1966b, 1973), y en ausencia de datos de localidad confiables, a menudo dificultan la asignación de especímenes individuales a subespecies. Posteriormente, por la amplia introducción y una extensiva selección asociada con programas de reproducción (Pullin, 1988, 1991), las afinidades de los peces no nativos son generalmente desconocidas.

Una rápida identificación de una especie particular de tilapias que ha sido previamente documentada en su hábitat natural, puede ser simple sólo si no existe otra especie de tilapia simpátrica. Cuando existen dos o más especies simpátricas, la identificación morfológica se hace muy difícil. Sin embargo, ésta es todavía más difícil cuando las especies son obtenidas de localidades no documentadas, particularmente por el hecho de que es posible que no todas las especies de tilapias hayan sido descubiertas (Seyoum, 1989). En el campo, la dificultad de identificación puede acaso ser más confusa porque la definición de característica morfológica de una especie en particular puede ser aplicable solamente en un tiempo y lugar en que fue registrado. En otros lugares, y a diferentes tiempos, la misma definición para la misma especie puede no ser obligadamente cierto. Posteriormente, el alto grado de adaptabilidad a nuevos hábitats, potencial de migración, introducciones extensivas accidentales o intencionales, y la hibridación, podrían contribuir a dificultar la clasificación y la identificación de especies, lo que es un serio problema para la acuicultura (Seyoum, 1989). Estos problemas y dificultades han conducido a unos pocos casos de identificaciones equivocadas (Wohlfarth y Hulata, 1983).

En acuicultura los objetivos de investigación son muy diversos, incluyendo la producción de una gama de líneas de peces o *stocks* en cuerpos de agua naturales, el rescate de poblaciones en peligro o amenazadas, o bien para la producción de alimentos. Es importante destacar que cuando se inician las investigaciones siempre se aborde con la pregunta más importante: ¿Cuál población podría ser adquirida? Decidir cuál podría ser empleada, depende de los objetivos de la investigación, para así elegir la apropiada. Una vez delimitados los objetivos, la identificación de *stocks* y subespecies se convierte en un aspecto central en acuicultura para manejar adecuadamente el recurso pesquero. Para lograrlo, se requiere de un método objetivo para la identificación de poblaciones (*stocks*).

Un sinnúmero de técnicas para la identificación de líneas o *stocks* han sido desarrolladas. Estas técnicas pueden ser divididas en métodos genéticos y no genéticos. Los métodos no genéticos como el análisis de caracteres morfométricos y merísticos, consiste en efectuar un análisis estadístico multivariado de los caracteres estudiados. Esta técnica también llamada análisis discriminante, puede distinguir entre especies como *O. niloticus* y *O. mossambicus*, pero todavía no está lo suficientemente desarrollada como para separar líneas o híbridos estrechamente relacionados (Pante, 1988). Por esta razón se han realizado esfuerzos por desarrollar métodos más confiables, como el análisis de isoenzimas (Pullin, 1988; Seyoum, 1989).

Dentro de los métodos genéticos, está el análisis de isoenzimas, que se han empleado como marcadores genéticos que permitan la identificación de las diferentes especies de tilapias, como un método confiable, independiente de las características morfológicas (McAndrew y Majumdar, 1983; Cruz *et al.* 1982; Romana, 1987; Bhattacharyya *et al.* 1989; Camacho *et al.* 1984).

Es importante realizar este tipo de estudios en México, encaminados a conocer con mayor profundidad la identidad de las especies, o la variación que hayan sufrido, ya que la carencia de especialización les ha permitido adquirir una gran plasticidad fenotípica en muchos tipos. Adicionalmente esta situación puede ser acrecentada por la influencia del potencial ambiental en los rasgos merísticos, morfométricos y parámetros poblacionales (Dentry y Lindsey, 1978; Ryman *et al.* 1984; Beacham y Murry, 1986; Camacho *et al.* 1985). En vista de la carencia de información que existe con respecto al uso de la electroforesis de isoenzimas como un método para separar especies de tilapia, en el presente trabajo se realizó una caracterización enzimática de algunas de las tilapias que han sido introducidas al país, para poder separarlas e identificar las líneas o *stocks* de interés comercial.

Por lo anterior, en el presente estudio se pretenden caracterizar los patrones de bandeo de *O. mossambicus*, línea genética albina, proveniente de la Estación de Acuicultura Tropical de Temascal, en el Estado de Oaxaca; *O. niloticus*, línea Stirling, de la Estación Piscícola de Zacatepec, en el Estado de Morelos, y de *O. niloticus* de la Presa de Temascal, en el Estado de Oaxaca; así como determinar el patrón de aloenzimas de las tres poblaciones de tilapia, y realizar un análisis exploratorio de la variación genética entre las 3 poblaciones, y las dos líneas puras y la población de reproducción no controlada de *O. Niloticus*.

## Material y Método

### Colecta de muestras

Partiendo de los sitios originales donde fueron introducidas inicialmente las distintas especies de tilapia, se colectaron 20 organismos en la Presa Miguel Alemán ubicada en Temascal, en el

Estado de Oaxaca; 10 organismos de *O. mossambicus* línea certificada en el Centro Acuícola de Temascal, en el Estado de Oaxaca, localizado cerca de la cortina de la presa; y 20 organismos *O. niloticus*, línea Stirling, en el Centro Acuícola de Zacatepec, en el Estado de Morelos (Figura 1 y Tabla I).

Una vez obtenidos los organismos se les extrajo el hígado y tejido muscular, los cuales fueron colocados en criotubos y transportados en hielo seco hasta el Laboratorio de Genética de la Planta Experimental de Producción Acuícola de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, para ahí ser almacenados en nitrógeno líquido o en ultracongelador a una temperatura de 70°C, para su posterior procesamiento.

### Identificación de especies

Para corroborar que los ejemplares colectados para este estudio correspondieran a *O. niloticus* y *O. mossambicus*, se emplearon las claves de clasificación taxonómica de Berg, modificadas por Trewavas (1983).

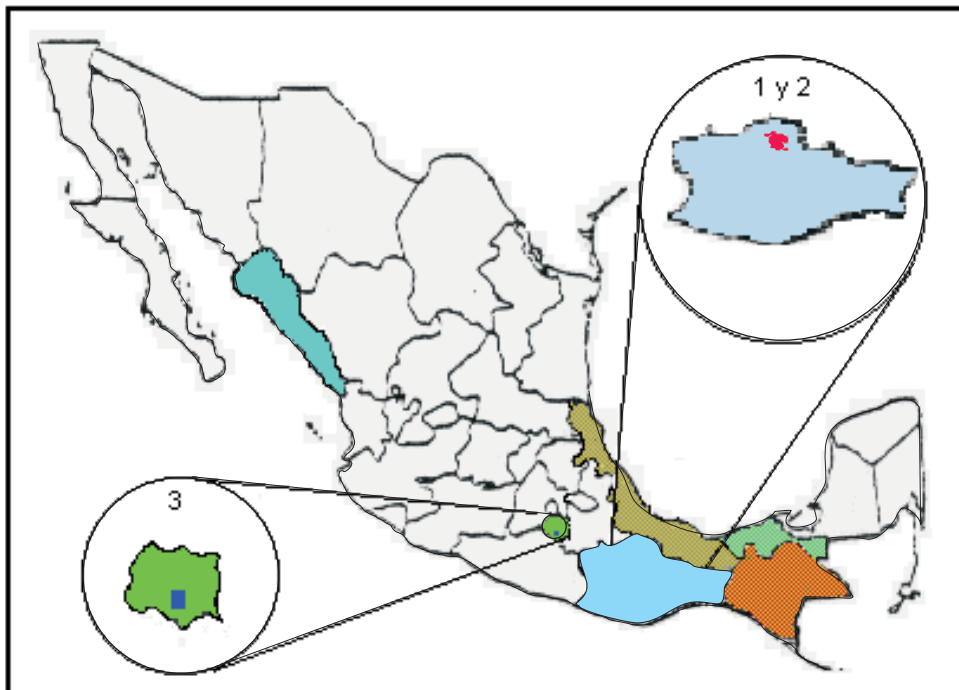


Figura 1. Mapa que indica los sitios de muestreo de las tres poblaciones de *Oreochromis* introducidos a México (los nombres de las localidades están en la Tabla I), y estados de la República con mayor producción de Tilapia (Sinaloa, Morelos, Veracruz, Tabasco, Oaxaca y Chiapas). Tomado de: Arredondo *et al.* 1994.

Tabla I. Sitios de colecta de las 3 poblaciones del género *Oreochromis*, introducidos a México.

Especie	Localidad No.	Sitio de colecta	Fecha de colecta
<i>O. Niloticus</i>	1	Presa de Temascal, Estado de Oaxaca	Junio 1994 y 26 de Mayo 1995
<i>O. Niloticus</i> Línea Stirling	3	Centro Acuícola de Zacatepec, Estado de Morelos*	Diciembre 1993
<i>O. Mossambicus</i>	2	Centro Acuícola de Temascal, Estado de Oaxaca*	Junio 1994

\*Ejemplares transportados vivos a las instalaciones de la Planta Experimental de Producción Acuícola de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa.

### Análisis de aloenzimas

Las muestras de tejidos fueron retiradas del nitrógeno líquido y procesadas para obtener el extracto. Un gel al de almidón de papa hidrolizado a una concentración de 10.4% fue preparado en solución amortiguadora específica para cada sistema enzimático, con el fin de efectuar la electroforesis. Para visualizar el desarrollo de la electroforesis, se empleó una mecha conteniendo un colorante indicador (azul de bromofenol), el cual se colocó al inicio de cada gel. La preparación del gel y las técnicas electroforéticas utilizadas se apegaron a los

métodos descritos por Hillis y Moritz (1990) y Selander *et al.* (1971) con las modificaciones y adaptaciones sugeridas por los Drs. Mike D. Tringali y Fernando Cervantes (comunicación personal).

Se aplicaron también los procedimientos de tinción histoquímica descritos por Hillis y Moritz (1990); para isocitrato deshidrogenasa (IDH), Selander *et al.* (1971), Aebersold *et al.* (1987), Richardson *et al.* (1986); y de Shaw y Prasad (1970) para 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6-GPDH) y glutamato oxalacetato transaminasa (GOT). Las enzimas usadas en este estudio son detalladas en la Tabla II.

Tabla II. Lista de enzimas examinadas, núm. de clasificación, sistema amortiguador, tamaño de muestra, y tejido.

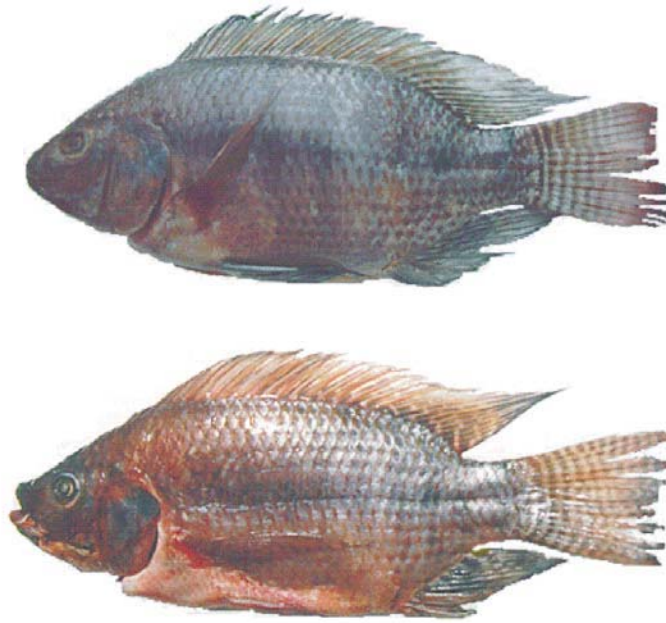
Enzima	Abreviatura	I:U:B*	Sistema amortiguador	N	Nº de poblaciones examinadas	Tejido
Fosfogluconato deshidrogenasa	6 PGD	E.C.				
6-fosfogluconato deshidrogenasa	o 6-PGDH	1.1.1.44	TCE <sup>a</sup>	20	3	Hígado y músculo
Glutamato oxalacetato transaminasa	GOT o AAT	E.C. 2.6.1.1	TM <sup>b</sup>	10	3	Hígado y músculo
Isocitrato deshidrogenasa	IDH o ICD	E.C. 1.1.1.42	TM <sup>b</sup>	20	3	Hígado y músculo

\* I:U:B: Clasificación de enzimas de acuerdo a International Union Biochemical.

<sup>a</sup>TCE.- Tris-Citrato-EDTA, pH 7.0.

<sup>b</sup>TM.- Tris-Malato, pH 7.4

N= Tamaño de muestra



Fotografía 1. Ejemplares de *Oreochromis niloticus* obtenidos de la Presa Miguel Alemán, Oaxaca.

La interpretación de los geles se realizó de acuerdo a los modelos presentados por Utter (1985). El promedio de heterocigocidad fue estimado por los métodos de Nei y Reoychondhry (1974) y Swofford y Selander (1981). La distancia genética fue calculada de las frecuencias alélicas por las fórmulas dadas por Nei (1971, 1972) y Swofford y Selander (1981), mediante el programa BIOSYS-I.

## Resultados

Los ejemplares de *O. niloticus* colectados en la Presa de Temascal, Oaxaca., y del Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos, y de *O. mossambicus* del Centro Acuícola de Temascal, Oaxaca., son mostrados en las fotografías 1,2 y 3.



Fotografía 2. Ejemplar de *Oreochromis mossambicus* obtenido del Centro Acuícola de Temascal, Oaxaca.



Fotografía 3. Ejemplar de *Oreochromis niloticus* obtenido del Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos.

### Análisis de aloenzimas

De las 3 aloenzimas investigadas en músculo esquelético e hígado, cuatro loci (fosfogluconato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa y glutamato oxalacetato transaminasa 1 y 2), fueron polimórficos en las tres poblaciones estudiadas (dos de ellas pertenecientes a la especie *O. niloticus*), correspondiendo el 75% de loci

polimórficos para la población de *O. niloticus* de la Presa de Temascal, Oaxaca; 50% para la población de *O. mossambicus* del Centro Acuícola de Temascal, Oaxaca; y 75% para *O. niloticus* del Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos; y la heterocigocidad media, así como el número promedio de alelos por locus, se muestran en la Tabla III. La frecuencia de alelos se observa en la Tabla IV.

Tabla III. Variabilidad genética de 4 loci en todas las poblaciones.

Población	Tamaño de muestra promedio por locus	Nº promedio de alelos por locus	Porcentaje de loci polimórficos	Heterocigocidad media	
				Conteo Directo	Esperado HdyWbg.
1. <i>Oreochromis niloticus</i> Presa Temascal, Oaxaca.	20.0 ( 0.0 )	1.8 ( 0.3 )	75	0.450 ( 0.263 )	0.276 ( 0.133 )
2. <i>Oreochromis Mossambicus</i> Centro Acuícola Temascal, Oax.	10.0 ( 0.0 )	1.5 ( 0.3 )	50	0.475 ( 0.275 )	0.276 ( 0.151 )
3. <i>Oreochromis Niloticus</i> Centro Acuícola Zacatepec, Mor.	20.0 ( 0.0 )	1.8 ( 0.3 )	75	0.500 ( 0.289 )	0.281 ( 0.135 )

NOTA: Error estándar en paréntesis

Tabla IV. Frecuencia de alelos en las 3 poblaciones.

Locus	Alelo	Población		
		1	2	3
IDHA	A	0.500	0.450	0.500
	B	0.500	0.550	0.500
6-GPDH	A	0.600	0.500	0.500
	B	0.400	0.500	0.500
GOT-1	A	0.950	1.000	1.000
	B	0.050	0.000	0.000
GOT-2	A	1.000	1.000	0.950
	B	0.000	0.000	0.050

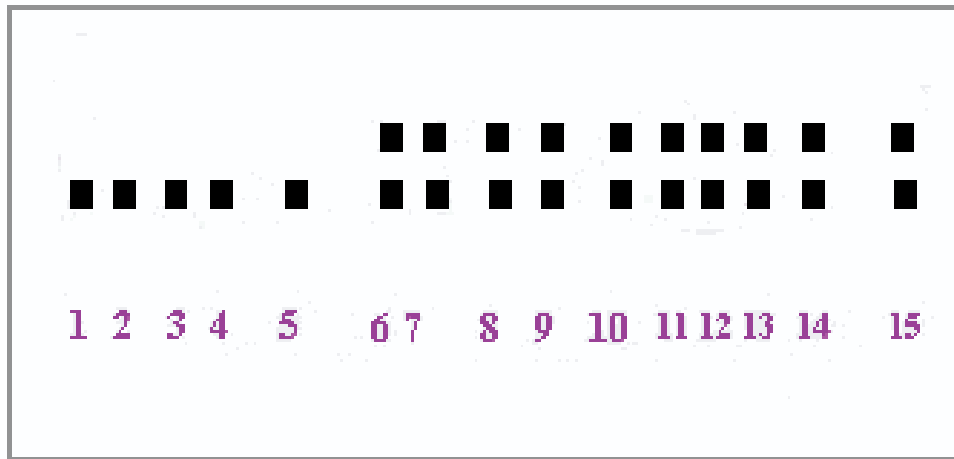


Figura 2 . Zimograma del patrón de bandeo de 6 Fosfogluconato deshidrogenasa (6-GPDH) en músculo. Carril 1-5, *O. niloticus* (muestras obtenidas de la Presa Miguel Alemán, Oax.), mostrando una sola banda, resultando homocigotos; carril 6-10, *O. mossambicus* (muestras del Centro Acuícola de Temascal, Oax.), se aprecian dos bandas; carril 11-15, *O. niloticus* (línea Stirling del Centro Acuícola de Zacatepec, Mor.), al igual que el grupo anterior, se observan dos bandas, las cuales fueron consideradas heterocigotos.

Todas las enzimas empleadas en este estudio, mostraron ser de estructura dimérica y los patrones de bandeo para 6-GPDH, GOT-1 y GOT-2, así como para IDH, son presentados en las figuras 2, 3 y 4. Una breve descripción de las enzimas polimórficas y proteínas es dada abajo por separado para cada enzima.

### 6-Fosfogluconato deshidrogenasa (6-GPDH).

Un solo loci en la región anódica fue detectado en esta enzima, la cual fue polimórfica en *O. niloticus* de la Presa de Temascal, Oaxaca. Los individuos homocigotos mostraron un patrón fenotípico de una sola banda; mientras que para los heterocigotos, fueron evidentes dos bandas (Figura 2).

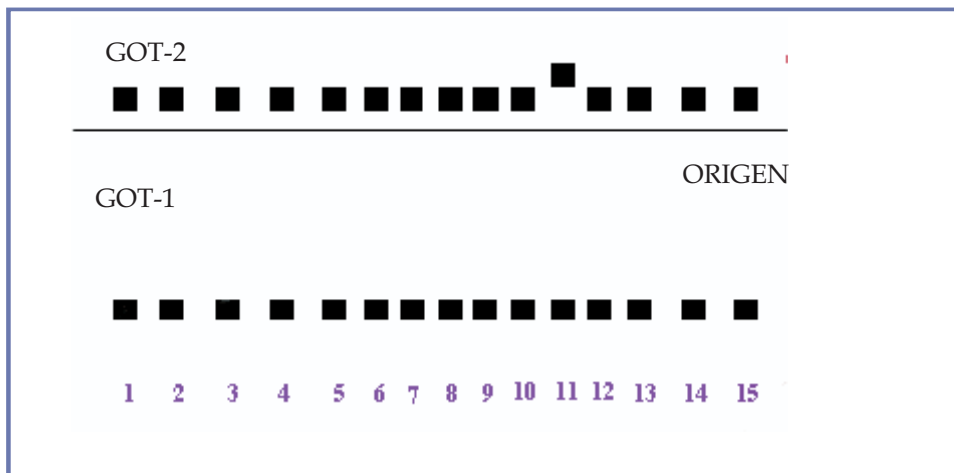


Figura 3. Zimograma del Patrón de bandeo de Glutamato Oxalacetato Transaminasa (GOT) = Aspartato Amino Transferasa (AAT) en músculo. Se presentaron dos loci. Uno ubicado en la región anódica (GOT-1) y el otro en la región catódica (GOT-2). Carril 1-5, *O. niloticus* (Presa Miguel Alemán, Oax.); carril 6-10, *O. mossambicus* (muestras del Centro Acuícola de Temascal, Oax.); carril 11-15, muestras de *O. niloticus* (línea Stirling del Centro Acuícola de Zacatepec, Mor.). En todos los casos de ambos loci, se aprecia una banda, indicando homocigotos.



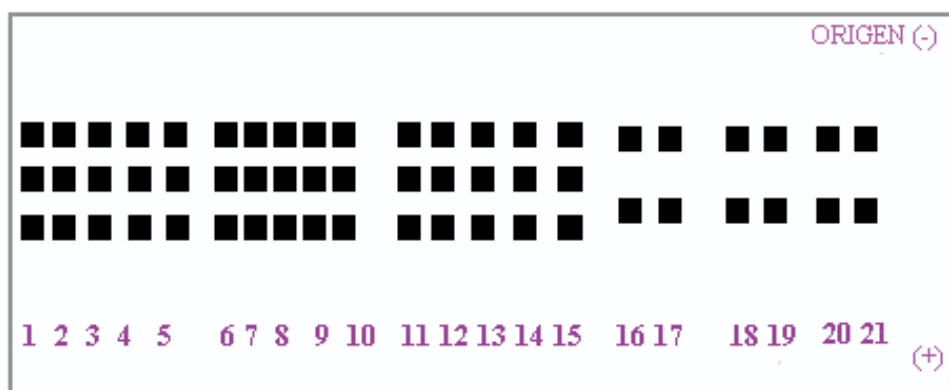


Figura 4. Zimograma del patrón de bandeo de Isocitrato deshidrogenasa (IDH). Carril 1-5, hígado de *O. niloticus* (muestras obtenidas de la Presa Miguel Alemán, Oax.); carril 6-10, hígado de *O. mossambicus* (muestras del Centro Acuícola de Temascal, Oax.); carril 11-15, hígado de *O. niloticus* (línea Stirling del Centro Acuícola de Zacatepec, Mor.), carril 16 y 17, músculo de *O. niloticus* (Presa Miguel Alemán, Oax.); carril 18 y 19, músculo de *O. mossambicus* (Centro Acuícola de Temascal, Oax.); carril 20 y 21, músculo de *O. niloticus* (Centro Acuícola de Zacatepec, Mor.). No se presentaron homocigotos, solo heterocigotos mostrando tres bandas en hígado, correspondiendo a una estructura dimérica, y en músculo solo dos bandas bien definidas.

### Glutamato oxalacetato transaminasa (GOT).

Dos loci codificando para GOT fueron sugeridos. GOT-1, que apareció en la región anodal, fue polimórfico para *O. niloticus* de la Presa de Temascal, Oaxaca, en donde se observa el homócigo lento; mientras que GOT-2, se ubicó en la región catódica del mismo gel; en este caso el polimorfismo se manifestó en *O. niloticus* del Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos. Es importante señalar que todos los ejemplares analizados, mostraron ser homocigotos en los dos loci, con un fenotipo de una sola banda (Figura 3). Por otro lado, la movilidad electroforética en tejido hepático indudablemente fue lento con respecto al extracto de músculo esquelético.

En la población de *O. mossambicus* de este estudio, fue muy claro que tanto para los extractos de hígado y músculo, en GOT-1 y GOT-2, los alelos demostraron ser monomórficos.

### Isocitrato deshidrogenasa (IDH).

Al igual que la deshidrogenasa málica, esta enzima existe en el citoplasma y en las mitocondrias. En los tejidos analizados (hígado y músculo) de un mismo individuo, en cada una de las poblaciones, se observó en todos ellos un patrón fenotípico heterocigoto de tres bandas, con una movilidad electroforética un poco diferente, pero con mayor definición en el tejido hepático, en donde además la tinción fue de una mayor intensidad (Figura 4). Al comparar los

Tabla V. Matriz de similitud genética de Rogers (1972), debajo de la diagonal, y coeficiente de identidad genética de Nei (1978), arriba de la diagonal.

Población	1	2	3
1. Presa Miguel Alemán, Oaxaca	*****	1.000	1.000
2. Centro Acuícola de Temascal, Oaxaca	0.950	*****	1.000
3. Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos	0.950	0.975	*****

resultados de los extractos de músculo esquelético de todas las tilapias, no se observaron diferencias dentro ni entre las mismas, caso similar es observado en los extractos de tejido hepático.

Para las tres poblaciones, se encontró la existencia de dos alelos codificados por un solo loci, el cual mostró polimorfismo en todos los ejemplares analizados, tal y como se muestra en la Tabla IV.

Los índices de similitud genética de Rogers (1972), así como el de identidad genética de Nei (1978), que fueron obtenidos, son presentados en la Tabla V. En ambos casos se observa que existe una gran similitud genética entre las tres poblaciones, y en algunos casos no hay diferencia. Esto sugiere que existe una mayor similitud genética (aunque mínima) entre *O. niloticus* del Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos y *O. mossambicus* provenientes del Centro Acuícola de Temascal, Oaxaca, tal y como se muestra en la Tabla V.

## Discusión y conclusiones

Los resultados del número de loci de este estudio para 6-GPDH son apoyados por los trabajos de Cruz *et al.* (1982), McAndrew y Majumdar (1983), Seyoum (1989), Basiao y Taniguchi (1984), y Sodsuk y McAndrew (1991), quienes encontraron un locus para esta enzima. Sin embargo Van Der Bank *et al.* (1989), encontró 2 loci, el primero de ellos Gpd-1 en hígado y el segundo, Gpd-2 en músculo blanco. Tres bandas fueron resueltas para todos los individuos en el estudio de Cruz *et al.* (1982), mientras que para este estudio se manifestaron dos bandas para el caso de los individuos heterocigotos, así como por los trabajos realizados por Basiao y Taniguchi (1984) y Seyoum (1989).

Para el caso de GOT (o aspartato amino transferasa), se ha reportado la presencia de 3 loci en los trabajos efectuados por Sodsuk y McAndrew (1991), quienes trabajaron con hígado, músculo, riñón y aleta. Mientras que Basiao y Taniguchi (1984), mencionan sólo dos loci en *O. niloticus*, lo cual coincide con lo encontrado en este estudio, con la diferencia de

que ellos encontraron que GOT-1 (AAT-1), fue polimórfico, y en el presente estudio los dos loci se manifestaron polimórficos, en GOT-1, en un ejemplar de los veinte de *O. niloticus* de la Presa de Temascal, Oaxaca, y en GOT-2 en un ejemplar de los diez de *O. niloticus* del Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos. No se presentó el tipo heterocigoto en ninguna de las tres poblaciones analizadas. Cabe aclarar que la GOT-1 se hizo evidente en la región anódica y la GOT-2 en la región catódica, sin diferencias de movilidad electroforética distinguible entre las tres especies y entre los dos tipos de tejido.

Finalmente, para IDH, se confirma lo hallado por Camacho *et al.* (1984), y Seyoum (1989), en lo que se refiere a las bandas de la misma movilidad electroforética y un sólo locus codificando para esta enzima. Sin embargo, Basiao y Taniguchi (1984), mencionan que hallaron 2 loci; el segundo locus presente en hígado de *O. niloticus*; mientras que Cruz *et al.* (1982), en *T. zilli*. Sodsuk y McAndrew (1991), encuentran dos loci en hígado y músculo. Contrariamente, McAndrew y Majumdar (1983), reportan la presencia de este segundo loci en tejido muscular, el cual además fue polimórfico. En lo que si coinciden todos los autores y los resultados del presente estudio, es en la presencia de una sola banda para individuos homocigotos y tres para los heterocigotos, sugiriendo ésto una posible estructura dimérica de la enzima.

Por lo que se refiere a la heterocigosidad media, puede observarse que ésta es mucho mayor por conteo directo que conforme a lo esperado por el equilibrio de Hardy-Weinberg para las tres poblaciones analizadas.

El alto grado de heterocigosidad en las tres poblaciones, medido por los loci isoenzimáticos, sugiere una alta variabilidad génica, especialmente de *O. mossambicus* del Centro Acuícola de Temascal, Oaxaca. con 1.812 y de 1.779 en *O. niloticus* del Centro Acuícola de Temascal, Oaxaca, y con menor variabilidad (1.630) en la población de *O. niloticus*, línea Stirling del Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos. Basiao y Taniguchi (1984), reportaron una variabilidad génica de 1.034 para las líneas de *O. niloticus*,

mientras que para las poblaciones silvestres de la misma especie, obtuvieron una variabilidad de 0.818. Van Der Bank *et al.*(1989), por su parte reporta que la heterocigocidad varió de 0.013 a 0.047 y un promedio de 0.031, lo cual contrasta fuertemente con las poblaciones estudiadas en esta tesis. Eso parece deberse en parte, a que esos autores analizaron un número mayor de loci y no todos fueron polimórficos, y a que en el material del presente estudio todos los loci analizados resultaron polimórficos.

La estimación de la heterocigocidad asume un muestreo al azar de genes examinados. Así, por ejemplo, la heterocigocidad media estimada decrece cuando más loci son analizados en un organismo, entonces existe una razón para sospechar en un inconsistente prejuicio hacia el muestreo de loci génicamente variables.

La variación interlocus, depende de la estructura génica de las poblaciones, la cual está influenciada por la migración, mutación, selección y deriva génica al azar (Nei y Roychoudhury, 1974). Por el otro lado, la variación intralocus, depende solamente del tamaño de muestra y de las frecuencias génicas. Las bajas heterocigocidades observadas para algunos géneros, puede ser atribuída a errores de muestreo. Cruz *et al.* (1982), encontraron que todos los patrones de bandeo de las enzimas estudiadas no mostraron variación entre los individuos, y Kornfield *et al.* (1979), reportaron una carencia total de variación para algunas especies de cíclidos.

Al analizar los resultados obtenidos en la caracterización de *O. niloticus*, tanto en la línea Stirling, como en la población de la Presa de Temascal, Oaxaca, y *O. mossambicus* del Centro Acuícola de Temascal, Oaxaca, resalta el polimorfismo que se observa en todos los loci, hecho que no ha sido reportado en las poblaciones naturales de estas especies según Kornfield y Koehn (1975), Avtalion (1982), y McAndrew y Majumdar (1983).

El empleo de los marcadores proteínicos en la sistemática ha mostrado el valor de la técnica electroforética como herramienta útil en los estudios sistemáticos, especialmente a nivel subgenérico (Avisé, 1974; Avisé, 1976; Wake, 1981; Shaklee *et al.* 1982; Buth, 1984) y han sido usados para examinar las relaciones evolutivas

dentro de un número de grupos de peces cíclidos (Kornfield *et al.* 1979; McAndrew and Majumdar, 1984; Van Der Bank *et al.* 1988). Esto pone de manifiesto la amplia y creciente utilización de las proteínas e isoenzimas en la aclaración de problemas de la clasificación de especies, donde los criterios clásicos no son concluyentes, como sucede con las tilapias (Camacho *et al.* 1984).

Es bien conocido el valor de las proteínas y de las enzimas determinadas mediante la técnica electroforética, como un instrumento en la descripción, caracterización, e identificación de especies estrechamente relacionadas. Las discrepancias halladas en los sistemas isoenzimáticos nos alertan sobre el probable grado de "pureza" de nuestras poblaciones, ya que la hibridación interespecífica es un fenómeno frecuente en las tilapias, motivo por el cual es necesario tener un control muy estricto de las líneas, pero primero se debe tener la identificación plena y certera de la línea a la que pertenece. De lo contrario, si desde el principio no se conoce la identidad de la línea o *stock*, entonces se tendrán serios problemas en la producción para obtener los rendimientos esperados, tanto para lograr los porcentajes de machos deseados, como el hecho mismo de que la cruce no sea favorable desde el punto de vista de velocidad de crecimiento y talla final.

Ciertamente la electroforesis de proteínas ha sido extensivamente usada para separar especies y diferenciar poblaciones de peces (Shaklee, 1983; Utter, 1985). En tilapias, algunos estudios que han usado aloenzimas han sido muy útiles para discriminar entre especies (Kornfield *et al.* 1979; McAndrew y Majumdar, 1983; McAndrew y Majumdar, 1984). Sin embargo, el problema que ha surgido, es que muchas especies de cíclidos resultaron similares cuando se aplicó esta técnica, en virtud de que poseían alelos idénticos en la mayoría de los loci (Sage and Selander, 1975; Kornfield, 1984; McKaye *et al.* 1984; Sage *et al.* 1984; Kornfield, 1991). Esto es particularmente cierto para los taxa de origen muy reciente. En tal caso, la electroforesis de proteínas no es suficientemente sensitiva para revelar características genéticas discriminatorias, por lo menos en las tilapias y en este estudio, por

lo que se recomienda aplicar esta técnica con un tamaño de muestra mayor, más especies y/o poblaciones, así como emplear más sistemas isoenzimáticos, e incrementar el número de loci estudiados.

### Agradecimientos

Agradezco al Dr. Fernando A. Cervantes Reza por sus valiosos comentarios, al Dr. José Luis Arredondo Figueroa y al personal de la Planta Experimental de Producción Acuícola de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, por las facilidades otorgadas para la realización del presente trabajo y mi más sincero reconocimiento al Dr. Héctor F. Serrano por todo el apoyo brindado, su invaluable ayuda para el desarrollo de las técnicas y sus comentarios.

### Bibliografía

- Aebersold, P. B.; G. A. Winans; D. J. Teel; G. B. Milner; and F. M. Utter, 1987. Manual for starch gel electrophoresis: A method for the detection of genetic variation. NOAA Technical Report NMFS 61. U. S. Department of Commerce. 19pp.
- Arredondo, F. J. L., R. Campos V., V. F. Flores M., F. González T. y H. Garduño A., 1994. Desarrollo Científico y Tecnológico del Banco de genoma de Tilapia. SEPESCA-UAMI. 126pp.
- Avise, J. C., 1974. Systematics value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 23: 465-481.
- Avise, J. C., 1976. Genetic differentiation during speciation. In: *Molecular evolution*, F.J..
- Avtalion R. R., 1982. Genetic markers in *Sarotherodon* and their use for sex species identification. In: R.V.S. Pullin and R. H. Lowe-McConnell (Editors). *Biology and culture of Tilapias*. ICLARM Conference Proceeding 7. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila. The Philippines, pp. 269-277.
- Basiao, Z.U. and N. Taniguchi, 1984. An investigation of enzyme and other protein polymorphism in Japanese stocks of the tilapia *Oreochromis niloticus* and *Tilapia zillii*. *Aquaculture*, 38:335-345.
- Beacham, T. D. and Murry, C. B., 1986. The effect of spawning time and incubation temperature on meristic variation in chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Can. J. Zool.*, 64: 45-48.
- Bhattacharyya, A., Sarkar, S.K., Basu, S.K. and Ganguly, S., 1989. Lactate dehydrogenase as genetic marker enzyme in fish *Tilapia mossambica*. *Indian Journal of Experimental Biology* 27 (10): 913-914.
- Boulenger, G. A., 1915. Catalogue of the freshwater fishes of Africa in the British Museum (Natural History). Vol. III. 526 pp.
- Buth, D. G., 1984. The application of electrophoretic data in biosystematics studies. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 501-522.
- Camacho, A., Rivalta, V., Villaescusa, A., y Caballero, R., 1984. Las isoenzimas en el estudio de Tilapia y géneros afines existentes en Cuba. I. Características electroforéticas de seis sistemas proteínicos. *Cien. Biol.* No. 12: 11-22.
- Camacho, A., Rivalta, V., y Torres A., 1985. Las isoenzimas en el estudio de Tilapia y género afines existentes en Cuba. II. Caracterización electroforética de *Oreochromis aureus*. *Cien. Biol.* No. 14: 73-80.
- Cruz, T. A., Thorpe, J. P., and Pullin, R. S. V., 1982. Enzyme electrophoresis in *Tilapia zillii*: A pattern for determining biochemical genetic markers for use in Tilapia Stock identification. *Aquaculture*. Vol. 29. No. 3-4: 311-329.
- Dentry, W. and Lindsay, C. C., 1978. Vertebral variation in zebra-fish (*Brachydanio rerio*) related to the prefertilization temperature history of their parents. *Can. J. Zool.* 56: 280-283.
- Hillis, D. M. and Moritz, C., 1990. *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland Massachusetts, U.S.A. pp. 1-126.
- Kornfield, I. L., 1984. Descriptive genetics of cichlid fishes. In: B. J. Turner (Editor). *Evolutionary genetics of fishes*. Olenum Press. New York, NY. pp. 590-616.
- Kornfield, I. L., 1991. Genetics. In: M. Keenleyside (Editor), *Cichlid Fishes: Behavior, Biology and Evolution*. Chapman and Hall, London. pp. 103-128.
- Kornfield, I. L., and Koehn, R., 1975. Genetic variation and speciation in new world cichlids. *Evolution* 29: 427-437.
- Kornfield, I. L., Ritte, U., Richler, C., and Wahrman, J., 1979. Biochemical and cytological differentiation among cichlid fishes of the sea of Galilee. *Evolution*. 33: 1-14.
- McAndrew, B. J., and K. C. Majumdar, 1983. Tilapia stock identification using electrophoretic markers. *Aquaculture* Vol. 30, No 1-4: 249-262.
- McAndrew, B. J., and K. C. Majumdar, 1984. Evolutionary relationships within three Tilapiine genera (Oisces: Cichlidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 80: 421-435.

- McKaye, K. R., T. Kocher, P. Reinthal, R. Harrison and I. Kornfield, 1984. Genetic evidence for allopatric and sympatric differentiation among color morphs of a lake Malawi cichlid fish. *Evolution* 38: 215-219.
- Morales, D. A., A. Castañeda C., C. De la Paz O., H. H. Olmedo S., J. R. Galván U., J. M. Montoya M., M. Pérez Galicia R. y P. Cabañas L., 1988. Manual técnico para el cultivo de la tilapia en los Centros Acuícolas de la Secretaría de Pesca. Secretaría de Pesca, México, 202 pp.
- Nei, M., 1971. Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on protein identity. In: Hedrick, P. W. 19. Genetics of populations. Jones and Bartlett Publishers, Inc. pp. 39-81.
- Nei, M., 1972. Genetic distances between populations. In: Hedrick, P. W. 19. Genetics of populations. Jones and Bartlett Publishers, Inc. p.p. 39-81.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nei, M. and A. K. Roychondhry, 1974. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. In: Hedrick, P. W. 19. Genetics of populations. Jones and Bartlett Publishers, Inc. pp. 39-81.
- Pante, M.R.J., 1988. Multivariate analysis of morphometric/meristic data In: R.S.V Pullin (Editor), 1988. Tilapia genetic resources for aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 16, 108 p. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Pullin, R. S. V. (Editor), 1988. Tilapia genetic resources for aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 16 108 p. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Pullin, R. S. V., 1991 Cichlids in aquaculture. In Cichlids fishes. Ed. by M. Keenleyside. Chapman and Hall, London. pp 280-300.
- Richardson, B.J; P. R. Baverstock; and M. Adams, 1986. Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematics and population studies. Academic. Press. pp. 20-21, 161-218.
- Rogers, J. S., 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. *Studies in genetic*. Univ. Texas Publ. 7213:145-153.
- Romana, M. R. R., 1987. Electrophoretic studies on induced gynogenetic diploid and triploids in *Tilapia*. Second International Symposium on *Tilapia* in Aquaculture. Metro Manila (Philippines). ICLARM: Dept of Fisheries: 267-274.
- Ryman, N., Lagercrantz, U., Andersson, L., Chakraborty, R. and Rosenberg, R., 1984. Lack of correspondence between genetic and morphological variability patterns in Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Heredity*, 53: 687-704.
- Sage, R. D. and R. K. Selander, 1975. Tropic radiation through polymorphism in cichlid fishes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 72: 4669-4673.
- Selander, R., Smith, S., Yang, Y., Johnson, W., and Gentry, G., 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse (*P. polinotus*). *Stud. Genet. VI. Univ. Texas Publ. Genet.* (7103): 49-90.
- Seyoum, S., 1989. Stock identification and evolutionary relationships of the Tilapiine fishes of the genera *Oreochromis*, *Sarotherodon* and *Tilapia* (Pisces: Cichlidae) using allozyme analysis and restriction endonuclease analysis and restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. Thesis presented to the University of Waterloo in fulfilment of the thesis requirement for the degree of Doctor of Philosophy in Biology. Waterloo, Ontario, Canada. 336 pp.
- Seyoum, S., and Kornfield, I., 1992b. Taxonomic notes on the *Oreochromis niloticus* subspecies-complex (Pisces Cichlidae), with a description of a new subspecies. *Can. J. Zool.* 70: 2161-2165.
- Shaklee, J. B., 1983. The utilization of isozymes as gene markers in fisheries management and conservation. In: M.C. Rattazzi, J. G. Scandallos and G. S. Whitt (Editors). *Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research*, Vol. II. Alan R. Liss. New York, NY. pp. 213-247.
- Shaklee, J. B., C. S. Tamaru, and R. S. Waples, 1982. Speciation and evolution of marine fishes studied by the electrophoretic analysis of proteins. *Pacific Science* 36: 141-157.
- Shaw, C. R. and Prasad R., 1970. Stach gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochem. Genet.* 4: 297-320.
- Sodsuk, P., and McAndrew, B. J., 1991. Molecular systematics of three tilapiine genera *Tilapia*, *Sarotherodon* and *Oreochromis* using allozyme data. *Journal of Fish Biology*. 39 (Supplement A), 301-308.
- Swofford, D., Selander, R., 1981. BIOSYS-I: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data population genetics and systematics. *J. Hered* 72: 1-281.
- Trewavas, E., 1965. *Tilapia aurea* (Steindachner) and status of *T. nilotica exul*, *T. monodi* and *T. lemasoni* (Pisces, Cichlidae). *Israel Journal of Zoology*. Vol. 14: 258-276.

Trewavas, E., 1966a. A preliminary review of the fishes of the genus *Tilapia* in the Eastward flowing rivers of Africa, with proposal of two new specific names. *Rev. Zool. Bot. Afr.* 74: 394-424.

Trewavas, E., 1966b. The name and natural distribution of the *Tilapia* from Zanzibar. F.A.O. World Symposium on warm water pond fish culture. FR: VIII-IV/E-8.

Trewavas, E., 1973. On the cichlid fishes of the genus *Palmeochromis* with proposal of a new genus for *P. congicus*, on the relationship between *Pelatochromis* and *Tilapia* and the recognition of *Sarotherodon* as a distinct genus. *Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology* 25: 1-26.

Trewavas, E., 1983. Tilapiine fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. *British Museum (Natural History)*. In: Arredondo, F. J. L. y A. Guzmán, 1986. Actual situación taxonómica de las especies de la Tribu Tilapiini (Pisces Cichlidae) introducidas en México. *An. Inst. Biol. Universidad Nacional Autónoma de México, Ser. Zool.* 54 (2): 555-572.

Utter, F., 1985. Protein electrophoresis and stock identification in fishes. In: H. E. Kumpff, R. N. Vaught, C. B. Grimes, A. G. Johnson and E. L. Nakamura (Editors). *Proceedings of the Stock Identification Workshop, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-199*. U. S. Department of Commerce, Washington, DC, pp. 63-104.

Van der Bank, F. H., W. S. Grant, and J. T. Ferreira, 1988. Evolutionary relationships between fifteen old world cichlid species. In: Seyoum, S., 1989. Stock identification and evolutionary relationships of the Tilapiine fishes of the genera *Oreochromis*, *Sarotherodon* and *Tilapia* (Pisces: Cichlidae) using allozyme analysis and restriction endonuclease analysis and restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. Thesis. Waterloo, Ontario, Canada.

Van der Bank, F. H., W. S. Grant, and J. T. Ferreira, 1989. Electrophoretically detectable genetic data for fifteen southern African cichlids. *J. Fish. Biol.* 34: 465-483.

Wake, D. B., 1981. The application of allozyme evidence to problem in the evolution of morphology. In : *Evolution today*, E. G. Schudder and J. L. Reveal (eds), pp. 257-270. *Proc. 2nd Int. Congr. Syst. Evol. Biol.* Pittsburg: Hunt Inst. Bot. Doc., Carnegie Mellon University.

Wohlfarth, G. W. and G. Hulata, 1983. Applied genetics of tilapias. *ICLARM studies and Reviews*, No 6. International Center for Living Aquatic resources Management, Manila, The Philippines, 26pp.

*Recibido: 17 de diciembre de 2002*

*Aceptado: 10 de enero de 2003*