

Especiación y evolución de peces marinos estudiadas mediante el análisis genético-bioquímico de proteínas

LUIS GERARDO LOPEZ LEMUS

Centro de Investigaciones de Baja California Sur, A. C.

División de Investigación Biología Marina

Apartado Postal 128

La Paz, Baja California Sur, 23000, México.

LÓPEZ LEMUS, L. G., 1988. Especiación y evolución de peces marinos estudiadas mediante el análisis genético-bioquímico de proteínas. *An. Esc. nac. Cienc. biol., Méx.* 32: 155-176.

RESUMEN: El análisis electroforético de proteínas puede utilizarse para clarificar el status taxonómico e interrelaciones evolutivas de poblaciones, especies y taxa mayores. Los datos electroforéticos de 16 loci en cuatro especies de cabrillas del Mar de Cortés, género *Epinephelus* (Serranidae) demuestran el estrecho parentesco genético entre dos especies de distinto subgénero (*Epinephelus* y *Cephalopholis*), por lo cual se propone un esquema alterno en la filogenia del grupo y se discute sobre la posición taxonómica del segundo subgénero para la especie americana. Estudios similares de peces lagarto (Synodontidae) de los géneros *Synodus* y *Saurida* revelan que varias especies no reportadas o no descritas ocurren en las islas Hawaii. Las interrelaciones de especies y géneros de los peces lagarto, cabrillas y salmonetes (Mullidae) se investigaron utilizando valores de distancia genética derivados de similitudes o diferencias proteicas. Estas comparaciones nos proporcionan casos clásicos de independencia en las tasas de evolución molecular y morfológica.

Se revisan en este trabajo publicaciones sobre investigaciones electroforéticas (incluidos los trabajos del autor), y se proponen guías para la aplicación futura de la técnica. Se enfatiza sobre el uso de muestras simpátricas, de un amplio muestreo genético y la interpretación conservadora de los valores de distancia genética. Se discute la utilidad del análisis electroforético para (a) la identificación de especies, (b) de híbridos F_1 interespecíficos y (c) la estimación de los tiempos absolutos y relativos de divergencia filogenética entre los taxa estudiados. Finalmente, se recomienda el uso de los datos electroforéticos junto con análisis morfométricos multivariados de especímenes frescos y especímenes tipo preservados en museos como una aportación importante en la resolución de problemas genético-evolutivos y taxonómicos.

INTRODUCCIÓN

Para aquellos organismos gonocóricos y con reproducción sexual, tales como los peces, el concepto de especie está basado en el aislamiento reproductivo de los grupos de poblaciones que se entrecruzan verdaderamente, con respecto a otros. En la práctica, las especies casi siempre se distinguen y describen sobre la base de diferencias anatómicas. Dada esta práctica, es razonable esperar que

casi todas las especies reconocidas actualmente sean morfológicamente distintas unas de otras. Sin embargo, la diferenciación anatómica no constituye una base necesaria ni suficiente para el reconocimiento de especies separadas. La literatura está llena de ejemplos de especies que exhiben polimorfismos anatómicos dramáticos que son aun coespecíficos, y ejemplos de complejos de especies morfológicamente crípticos que son, de hecho, unidades genéticas independientes (Grassle y Grassle, 1976; Borden *et al.*, 1977; Gould *et al.*, 1979; Salmón *et al.*, 1979).

Un criterio alternativo para el reconocimiento de especies distintas —aquel de aislamiento reproductivo— parece obvio dada la anterior definición de especie. Sin embargo, este criterio se debilita por numerosos ejemplos de entrecruzamiento ocasional entre especies bien reconocidas. De hecho, tal hibridación interespecífica bajo condiciones naturales o de laboratorio está muy bien documentada para los peces (Schwartz, 1981) y para otros grupos de animales. La técnica de electroforesis en gel para proteínas provee de un examen poderoso, aunque indirecto, de la validez de las especies como tales. Dado que esta técnica permite la medición de la relación genética entre los individuos (debido a la expresión codominante de la mayoría de los alelos en los loci analizados), puede servir como medio para determinar la exclusividad genética de cualquier conjunto de organismos (por ejemplo, la identificación de distintas especies). Este modo de abordar el problema es particularmente fuerte en casos de simpatria verdadera (en espacio y tiempo). En tales casos, las especies genéticamente diferenciadas son fácilmente reconocibles cuando se detectan diferencias alélicas fijadas. Aquellas poblaciones simpátricas caracterizadas por diferencias alélicas fijadas habrán evolucionado, clara y efectivamente, por medio de aislamiento reproductivo. Así, tales poblaciones deben considerarse como especies biológicas verdaderas. Por otra parte, las observaciones de uniformidad genética, ya sea en términos de distribuciones de frecuencias alélicas similares entre las muestras o especialmente en términos de los loci invariablemente idénticos en todos los individuos, son consistentes con, pero no establecen efectivamente, la naturaleza coespecífica de tales poblaciones (Graves y Rosenblatt, 1980; Sage y Selander, 1975; Turner y Grosse, 1980; Manooch *et al.*, 1976).

En los casos de alopatría verdadera (en espacio o tiempo) las distinciones descritas se vuelven oscuras y vagas debido a efectos confundidores potenciales de diferencias geográficas o temporales en la composición genética de los organismos. Geográficamente, esto puede tomar la forma de clinales aparentes en las frecuencias alélicas o, dado un muestreo discontinuo en espacio o tiempo, podrían aparecer como diferencias alélicas fijadas entre las muestras (Aspinwall, 1974; Powers y Place, 1978). Por ello, se debe tener extremo cuidado al interpretar tales datos para muestras alopátricas, pues el aislamiento reproductivo resultante de alopatría espacial o temporal puede carecer de toda base biológica. De hecho, es extremadamente difícil determinar si las poblaciones alopátricas son o no capaces de entrecruzarse libremente si el contacto se restableciera bajo condiciones naturales.

Además de proveer una medida lo suficientemente fuerte de las relaciones reproductivas de poblaciones simpátricas, la aportación electroforética brinda otros beneficios, estos se derivan de la hipótesis del reloj molecular (Nei, 1971; Kimura y Ohta, 1971; Maxson y Wilson, 1974; Wilson *et al.*, 1977; Carlson *et al.*, 1978) que asume que las proteínas evolucionan a un ritmo relativamente constante. Así, con la propia calibración, es posible estimar el tiempo aproximado de divergencia en cualquiera de las especies que se analicen (Gorman y Renzi, 1979; Wyles y Gorman, 1980; Vawter *et al.*, 1980), basado en los valores de distancia genética derivados de los estudios electroforéticos (Nei, 1972).

Este artículo describe las investigaciones electroforéticas de tres grupos de peces marinos costeros y provee ciertas guías generales concernientes a la aplicación de los métodos genético-bioquímicos en estudios de especiación y genética evolutiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los especímenes se obtuvieron mediante captura directa o mediante compra a las fuentes comerciales. Todos los organismos se almacenaron en congelación a 20° C hasta su procesamiento. Los métodos de preparación de la muestra, electroforesis en gel y tinción histoquímica de enzimas ya se han descrito en varias publicaciones (Selander *et al.*, 1971; Gorman 1975; López-Lemus, 1985a). Cada sistema enzimático fue analizado utilizando un solo sistema de gel y solución amortiguadora. Los cálculos de frecuencias alélicas corresponden a Stansfield (1969) y aquellos de distancia genética de acuerdo a Nei (1978). Los dendrogramas basados en las estimaciones de distancia genética se construyeron utilizando el método de grupos pares no sesgados con medias aritméticas (UPGMA) de Sokal y Sneath (1963).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cabrilla (Género *Epinephelus*)

Los meros y cabrillas del género *Epinephelus* exhiben una distribución pantropical. Las cuatro especies consideradas son similares ecológicamente y comparten un número considerable de caracteres morfológicos. Se ha subdividido al género en cinco subgéneros (*Epinephelus*, *Promicrops*, *Cephalopholis*, *Dermatolepis* y *Alphestus*) de los cuales el primero contiene a tres de las especies estudiadas y *Cephalopholis* a la otra. Sin embargo, mientras unos reconocen a estos subgéneros como géneros formales (Randall y Ben-tuvia, 1983) otros sostienen la clasificación anterior debida a Smith (1971).

Los resultados del estudio electroforético presentados en la tabla 1, las distancias genéticas (Nei, 1972) calculadas de los datos electroforéticos, mostradas en la tabla 2 y el fenograma de identidad genética de las cuatro cabrillas presentado en la figura 1, hacen evidente que las dos cabrillas que se presen-

tan en aguas templadas (*Epinephelus panamensis* y *E. labriformis*), se encuentran más cercanamente relacionadas entre sí, que con la especie tropical *E. acanthistius*. Las distancias genéticas entre las combinaciones pares del grupo *E. analogus*, *E. panamensis* y *E. labriformis* son de alrededor de un medio con respecto a las distancias entre cualquier miembro de ese grupo y *E. acanthistius*.

Las distancias genéticas calculadas a partir del estudio electroforético de estas cuatro especies de cabrillas del Mar de Cortés, se prestan a discusión con aquellas afinidades basadas en análisis morfológicos descritos por López-Lemus (1985a).

E. acanthistius fue referido al género *Cephalopholis* durante mucho tiempo (Meek y Hildebrand, 1925; Smith, 1971) por tener 9 espinas dorsales; sin embargo, por el resto de sus caracteres ha sido claramente asignado al grupo-especie *E. niveatus* del género *Epinephelus*, por compartir largos radios pélvicos, cuerpo profundo, coloración rojiza-“achocolatada” y aletas pélvicas oscuras (Smith, 1971). Por otra parte, *Cephalopholis* difiere del resto de los *Epinephelus* por tener 9 espinas dorsales únicamente y pequeñas modificaciones en el cráneo. Este género comprende una sola especie en el Pacífico Oriental, *E. (C.) panamensis* que muestra una cercana relación con *E. (E.) labriformis* de acuerdo con los resultados aquí presentados. Es evidente que si la clasificación de *E. acanthistius* fuera correcta dentro de *Cephalopholis* (Meek y Hildebrand, 1925), cabría esperar un parentesco genético más cercano con *E. panamensis* y sin embargo, se observa que no es así (Fig. 1). Más aún, las afinidades genéticas de *E. panamensis* son mayores hacia la especie *E. labriformis* y *E. analogus*, de aguas templadas, que al mismo *E. acanthistius*.

Con objeto de esclarecer los puntos de discusión, considérese la figura 2.

El esquema evolutivo del tronco *Epinephelus*, en sí mismo dista mucho de ser completo para las especies analizadas con base en caracteres morfométricos y merísticos. Smith (1971, Figura 2A) identificó dos linajes distintos para estas especies: una línea más especializada de *Epinephelus* y a *Cephalopholis*, como subgéneros (las observaciones realizadas concuerdan con aquellas de Smith en cuanto a caracteres anatómicos: López-Lemus, 1985a).

La investigación electroforética de estas especies ~~revela~~ ~~la~~ existencia de suficientes ~~diferencias~~ ~~atéticas~~ ~~trazadas~~ entre ellas, hecho que reconfirma su status de especies separadas; sin embargo, el parentesco de *E. panamensis* con *E. labriformis* sugiere una reciente diversificación del tronco *Epinephelus*. Es trabajo de los taxónomos el tratarla dentro de un grupo diferente con base en sus caracteres anatómicos o como una especie dentro del propio género *Epinephelus*. Tomando como base sus afinidades genéticas, constituye un importante punto de discusión en el cual se deberá tomar muy en cuenta que la reciente definición evolutiva del género aún no muestra la suficiente divergencia genética (a nivel molecular) en comparación con la divergencia de caracteres anatómicos. No existe, por tanto, razón suficiente para reconocer a *Cephalopholis* como género ni subgénero para la especie americana *Epinephelus panamensis*; sin embargo, será prudente tomar en cuenta toda la información que se encuentre y

discutirla de la manera más amplia para llegar al acuerdo sistemático que habrá de definir las categorías de los géneros y especies del tronco *Epinephelus*.

Las dos especies de aguas templadas, *E. analogus* y *E. labriformis*, y aquella subtropical *E. panamensis*, muestran afinidades genéticas aunque no anatómicas, a lo largo de la zona costera del bajo golfo subcaliforniano. Hubbs (1952) señaló que tales distribuciones de afinidad son comunes en los peces del Pacífico Oriental y probablemente, son resultado, de cruzamientos ecuatoriales en los períodos de compresión tropical durante el Pleistoceno. Sin embargo, al aplicar la correlación distancia genética-tiempo de divergencia de Carlson *et al.*, (1978), modificada de aquella de Sarich (1977) obtenida para otros vertebrados, a las distancias genéticas que separan a las cabrillas, se obtiene un tiempo de divergencia de 3.5 millones de años para el par más cercanamente relacionado, *E. panamensis* y *E. labriformis*. La distancia genética (0.190) que separa a estas dos especies es, además, cercana a la distancia media entre especies pares de peces separados por la emersión del Istmo de Panamá (Vawter *et al.*, 1980), evento que ocurrió hace unos 3 millones de años (Keigwin, 1978). Así, a pesar de que las cabrillas templadas y subtropicales pueden mostrar ciertas afinidades y/o diferencias genéticas y/o morfológicas, los tiempos de divergencia obtenidos de las distancias genéticas, indican que la separación ocurrió durante el Plioceno, que la separación de *E. analogus* ocurrió en cierta época anterior del mismo Plioceno (5-7 millones de años) y que *E. acanthistius* se separó de todas ellas durante el Mioceno-Plioceno (11-15 millones de años).

Salmonetes (familia Mullidae)

Existen alrededor de 55 especies reconocidas de salmonetes en seis géneros distribuidos por todo el mundo. En esta familia, las especies se reconocen generalmente por una combinación de diferencias en caracteres merísticos y/o morfométricos, y diferencias en los patrones de coloración.

Shaklee y Samollow (1980) analizaron electroforéticamente nueve especies y géneros en esta familia. Se analizaron 26 loci génicos en cada especie. Tres loci fueron monomórficos y aparentemente idénticos en las nueve especies. Los valores pareados entre especies correspondientes a similitud genética y distancia, se presentan en la tabla 3. Estos fueron desde un valor de $D = 0.11$ ($I = 0.90$) para las especies más parecidas (*Parupeneus bifasciatus* y *P. chryserydos*), hasta un valor de $D = 1.85$ ($I = 0.16$) para las especies más separadas (*Upeneus taeniopterus* y *P. chryserydos*).

Se muestra el dendrograma que ilustra las interrelaciones genéticas inferidas de las especies y géneros de los salmonetes estudiados, en la figura 3. Como se pudo haber predicho a través de la taxonomía formal, los tres géneros fueron más distintos entre sí de lo que lo fueron cualesquiera de las especies dentro de un género. Sería peligroso dar interpretaciones más precisas de las interrelaciones en este último aspecto, debido a grandes errores estándar asociados con las estimaciones de distancia.

Como excepción a lo descrito en el párrafo anterior, vale la pena hacer notar a dos de las especies involucradas en *Mulloidichthys* y a dos especies de *Parupeneus*: *Parupeneus bifasciatus* y *P. chryserydos* son el par de especies examinadas que presentan mayor similitud bioquímica, teniendo una distancia genética estimada de sólo 0.11. Estas dos especies son fácilmente distinguibles por diferencias en varias características morfológicas, incluyendo la coloración del cuerpo, longitud de las "barbas", tallas de ojos y cabeza, el número de radios en la aleta pectoral y de branquiaspinas (Gosline y Brock, 1960; Lachner, 1960). Por otra parte, *M. vanicolensis* y *M. flavolineatus* difieren genéticamente con un valor de $D = 0.34$, pero con excepción de sutiles diferencias en la pigmentación, estas especies no exhiben una diferenciación morfológica substancial (Gosline y Brock, 1960). La primera situación indica claramente el caso en el que dos especies perfectamente reconocidas muestran una diferenciación bioquímica relativamente pequeña. Cabe hacer hincapié en que amplias diferencias bioquímicas no se correlacionan necesariamente con la especiación (Avisé *et al.*, 1975; Kirkpatrick y Selander, 1979; Ryman *et al.*, 1979, Turner, 1974).

La ocurrencia común de diferencias alélicas fijadas entre las especies, hace posible la construcción de claves bioquímicas (Avisé 1974; Buth, 1984). Cuando ocurren numerosas diferencias fijadas, se pueden formular claves alternativas que involucren diferentes sistemas enzimáticos. La repetición asociada en estos caracteres, por lo general independientes, incrementa notablemente el poder de este método en la identificación de las especies (López-Lemus, 1985c).

Peces Lagarto (familia Synodontidae)

Esta familia consiste en la actualidad en 39 especies con alrededor de cinco géneros (Nelson, 1984). Cuatro de las seis especies comúnmente reconocidas en aguas del Pacífico Occidental están en el género *Synodus*, con una especie dentro de *Saurida* y *Trachinocephalus* contiene a la última (Gosline y Brock, 1960). Las cuatro especies de *Synodus* se distinguen generalmente sobre la base de pequeñas diferencias merísticas.

El análisis electroforético que realizó Waples (1981) en el Instituto de Biología de la Universidad de Hawaii, utilizando 29 loci génicos, revela la existencia de varias especies morfológicamente crípticas y previamente no reconocidas en la familia, dos de ellas en el género *Saurida* y la otra dentro de *Synodus*. Cada una de estas "nuevas" especies fue reconocida inicialmente por poseer un gran número de diferencias alélicas fijadas, otorgándoles un fenotipo bioquímico único, distinto a cualquier otra especie de pez lagarto conocido.

Los valores de distancia genética derivados de las combinaciones pares de 4 especies de *Synodus* y una de *Saurida* se presentan en la tabla 4. Estos valores de distancia comprendieron desde 0.61 entre *Synodus ulae* y *S. variegatus*, que fueron las más parecidas, hasta 1.75 entre *Saurida gracilis* y cada una de las especies de *Synodus*.

En la figura 4 se muestran las interrelaciones entre las especies, basadas en

los valores mostrados en la tabla anterior. Existe gran semejanza entre estas estimaciones y aquellas basadas en similitudes morfológicas. Fue también de interés el hecho de que los valores de distancia genética en los nodos conectores de los taxa se extendieron en un rango de 0 - 2.0; esto significa que la distancia genética estimada entre los géneros no fue sustancialmente mayor que entre las especies más divergentes de *Synodus*.

Al investigar sobre la literatura las estimaciones electroforéticas de diferenciación genética intergrupala para peces marinos y dulceacuicolas (Avisé y Ayala, 1976; Avisé y Smith, 1977; Buth, 1979; 1980; 1984; Buth y Burr, 1978; Buth *et al.*, 1980; Johnson, 1975; Kornfield *et al.*, 1979; Ryman *et al.*, 1979; Smith *et al.*, 1978; Turner, 1974; Utter *et al.*, 1973; Vawter *et al.*, 1980; Winans, 1980) se obtienen los valores con los que se construye la tabla 5, donde a pesar de que los rangos de los valores para cada nivel taxonómico se solapan, los valores medios son razonablemente diferentes. Así, asumiendo que la taxonomía de los grupos involucrados es correcta, estos valores sirven como referencia útil para interpretar otros datos, especialmente si éstos se refieren a grupos taxonómicos de posición dudosa. A este respecto, los valores observados para las especies de salmonetes hawaianos caen dentro del rango esperado. Lo mismo es cierto en algunas comparaciones pares entre las especies de cabrillas, aunque el promedio excede con mucho los valores promedio de la tabla 5. Por otra parte, las comparaciones interespecíficas e intergenéticas de peces lagarto y la comparación única en las especies de cabrillas del Mar de Cortés, sobrepasan los valores más altos observados en los estudios revisados. Estas inconsistencias enfatizan la independencia fundamental de las tasas de evolución morfológica y molecular advirtiendo que la rígida interpretación cuantitativa de los valores de distancia genética no es recomendable en términos de la taxonomía formal de los organismos.

CONCLUSIONES

El aislamiento reproductor puede ser considerado como la piedra angular sobre la cual descansa el concepto de especie biológica. Conociendo que el aislamiento reproductor con el curso del tiempo resulta en la diferenciación genética progresiva de especies separadas, la demostración de diferencias genéticas cualitativas es un criterio suficiente (aunque no necesario) por el cual se pueden distinguir especies. Tal vez la aportación más simple y directa para determinar la similitud o diferencia genética entre grupos, es la técnica de electroforesis en gel para proteínas. Utilizando esta metodología, la demostración de diferencias alélicas fijadas entre grupos simpátricos provee de evidencia genética directa que indica aislamiento reproductor completo.

Con el descubrimiento de que muchas enzimas existen en formas alternas se reconoció, virtual y simultáneamente, que los animales exhiben patrones isoenzimáticos especie-específicos (Markert y Moller, 1959). La aplicación de esta observación a estudios taxonómicos, involucrando particularmente la identifica-

ción y descripción de especies de peces, fue rápidamente reconocida y explotada (Allendorf y Utter, 1979; Avise y Smith, 1977; Buth, 1979; 1980; 1984; Daly y Richardson, 1980; Ferguson y Mason, 1981; Herzberg y Pasteur, 1975; Johnson, 1975; Lundstrom, 1977; Manwell y Baker, 1970; Miller y El-Tawill, 1974; Page y Whitt, 1973; Smith y Robertson, 1981; Smith *et al.*, 1979; Tsuyuki y Roberts, 1965; Turner y Liu, 1976; Vawter *et al.*, 1980).

La demostración electroforética de diferencias alélicas fijadas entre pares de especies, sugiere inmediatamente otra poderosa utilidad de la metodología: la identificación de híbridos interespecíficos en F_1 . De hecho, la intermediación morfológica general de la mayoría de estos híbridos hace que la identificación de los mismos, basada en caracteres anatómicos, sea difícil en el mejor de los casos. El fenotipo electroforético híbrido, por otro lado, es una característica distintiva que hace la identificación de los híbridos simple, rápida y confiable. Numerosos estudios en hibridización de peces han utilizado esta aportación con éxito considerable (Abramoff *et al.*, 1968; Aspinwall y Tsuyuki, 1968; Brassington y Fergusson, 1976; Clayton *et al.*, 1973; Hulata *et al.*, 1981; Manwell *et al.*, 1963; Metcalf *et al.*, 1972; Nyman, 1970; Reinitz, 1977; Tsuyuki y Roberts, 1965; Turner *et al.*, 1980; Vrijenhoek, 1972; Wheat *et al.*, 1971; 1973).

Gran número de investigaciones se han encaminado a la descripción y entendimiento de los cambios isoenzimáticos que ocurren durante el desarrollo temprano de los peces (Champion y Whitt, 1976a y b; Shaklee *et al.*, 1974; Whitt, 1981; Wright *et al.*, 1975). Estos estudios muestran que, a pesar de que un locus génico expresado en un momento dado cambia durante el desarrollo, las alozimas (isozimas alélicas) se expresan en embriones y larvas tal cual lo hacen en organismos adultos. Así, es posible utilizar alelos especie-específicos como marcadores en la identificación de juveniles, larvas y embriones, a nivel de especie (Gardiner, 1974; Sidell *et al.*, 1978; Smith y Crossland, 1977; Smith *et al.*, 1980).

Las estimaciones electroforéticas de diferenciación genética se pueden utilizar en la estimación de tiempos de divergencia para eventos cladísticos. Esta aplicación, dependiente de la existencia de un reloj molecular (Maxson y Wilson, 1974; Nei, 1971), parece dar estimaciones razonablemente precisas de tiempos absolutos de divergencia para varias especies pares de peces (Gorman y Kim, 1977; Vawter *et al.*, 1980) y se espera que sean aún más precisas para estimar tiempos relativos de divergencia en taxones cercanamente emparentados (Tabla 2, 3 y 4; Figuras 1, 3, 4).

Los siguientes apartados suman las recomendaciones al respecto de la aplicación de estudios electroforéticos de proteínas a problemas de especiación y evolución en peces marinos:

1. Ventajas de los datos electroforéticos

Los caracteres electroforéticos cualitativos (ej. clases electromórficas de movilidad) son resultado, generalmente, de la expresión codominante de alelos de

un locus génico único. Esta propiedad permite inferir el genotipo de un individuo directamente a partir de su fenotipo bioquímico. Dado que las variables del entorno tales como temperatura, salinidad, tensión de oxígeno, etcétera, no afectan la expresión cualitativa de los caracteres electroforéticos en peces (Shaklee *et al.*, 1977; Somero, 1975; Baldwin, 1971), se pueden comparar especímenes habitantes de ambientes un tanto diferentes (López-Lemus, 1985a y b). Mas aún, dado que cuando menos un tanto de la variación electroforética detectada es selectivamente neutral, tales caracteres no muestran convergencia evolutiva significativa, lo cual es propio de los caracteres morfológicos y constituye un problema importante, pues confunde la interpretación sistemática de los organismos en estudio.

2. Examen en simpatria

La demostración de diferencias alélicas fijadas entre las muestras de poblaciones simpátricas es la evidencia de aislamiento reproductivo completo y establece así la existencia de pozas genéticas independientes (= especies separadas).

Sin embargo, la prueba no es recíproca. Si se falla en demostrar diferencias fijadas (especialmente cuando es pequeño el número de loci muestreados), esto no significa el establecimiento del status coespecífico de los grupos en cuestión.

3. Examen en alopatria

La demostración de aparentes diferencias alélicas fijadas entre muestras alopátricas no es particularmente una prueba sólida de especiación, pues la variación geográfica o temporal en la composición alélica puede generar diferenciación significativa entre poblaciones coespecíficas. El muestreo cercanamente espaciado fortalece la prueba. La carencia de solidez no es problema de la metodología sino que refleja lo fundamentalmente inadecuado del concepto de especie biológica al tratar con poblaciones alopátricas.

4. Distribución del esfuerzo

Si se maximiza el número de loci génicos analizados (en lugar de utilizar grandes cantidades de individuos por grupo), se obtiene una estimación más precisa de distancia genética entre grupos y del status coespecífico de dos o más de tales grupos. Esta estrategia es particularmente apropiada para estudiar organismos como los peces que poseen, generalmente, niveles bajos de polimorfismo genético y heterocigosidad, pues el componente interlocus (diferencias fijadas en algunos loci versus identidad en otros) contribuye de manera más importante a la estimación de distancia genética que la variabilidad intralocus (debido a la estimación imprecisa de frecuencias alélicas en loci polimórficos utilizando pocos individuos). Este resultado no es sorprendente dada la distribución observada, en forma de U, para la vasta mayoría de especies animales, cuando la frecuencia de los loci se grafica contra similitud genética.

5. Interpretación semicuantitativa de resultados

- a) Dado que los valores de distancia genética estimados tienen amplios errores típicos asociados con ellos (tabla 2, Nei, 1978), se debe ser en extremo cauteloso para no sobreinterpretar pequeñas diferencias, ya sea que éstas ocurran en tablas de distancia genética o en dendrogramas derivados de tales valores. La magnitud de los errores típicos es lo suficientemente grande para construir varios dendrogramas de las interrelaciones grupales (algunos de los cuales pueden ser substancialmente diferentes de aquel generado como el más parsimonioso).
- b) No existe un criterio cuantitativo definitivo en cuanto a la medición de valores observados de distancia genética en la resolución de problemas taxonómicos. Sin embargo, la comparación de los valores de distancia con aquellos publicados para otros grupos cercanamente relacionados sirve como útil patrón de referencia en la interpretación de resultados relativos al status taxonómico de los organismos sujetos de investigación.

6. Construcción de claves bioquímicas

Los datos electroforéticos de diferencias alélicas fijadas entre las especies pueden ser muy útiles en la construcción de claves de identificación, especialmente cuando las especies bajo estudio son muy similares morfológicamente como para decidir no utilizar los caracteres anatómicos en la identificación de las mismas. Tales claves bioquímicas son muy útiles, particularmente si se trata de identificar muestras tisulares aisladas (ej. filetes de pescado), carentes de las características morfológicas normales, o estadios de la vida temprana (ej. juveniles, larvas y embriones) que pueden ser inidentificables morfológicamente.

7. Identificación de híbridos interespecíficos en F_1

Cuando se demuestra que dos especies poseen numerosas diferencias alélicas fijadas, la demostración electroforética de fenotipos heterocigotos (para los dos alelos parentales) en todos estos loci y en uno o más individuos, constituye un procedimiento sólido y directo para identificar a estos peces como híbridos interespecíficos F_1 .

8. Estimación de los tiempos de divergencia

Dado que en promedio las proteínas evolucionan a ritmos casi constantes, los valores electroforéticos de distancia genética se pueden utilizar para aproximar el tiempo absoluto de divergencia evolutiva en dos linajes, si la calibración es posible. Cuando tales estimaciones son para grupos similares de organismos que hayan tenido historias evolutivas similares y están basadas en datos de gran número de loci génicos, nos permiten obtener valores lo suficientemente precisos

de tiempos relativos de divergencia de los diferentes grupos, aun sin una calibración muy exacta.

9. Resolución de problemas de nomenclatura

- a) El uso combinado de estudios electroforéticos de material fresco o congelado, junto con análisis morfométricos multivariados de especímenes tipo frescos o preservados en museos, constituye una aportación poderosa, general y poco usual para resolver problemas de taxonomía formal de las especies involucradas. Este aspecto multidisciplinario es particularmente fructífero cuando la nomenclatura de las especies en cuestión está basada en especímenes tipo históricos que no se pueden someter al análisis electroforético.
- b) Cuando el reconocimiento de una nueva especie se basa, en todo o en parte, sobre caracteres electroforéticos, se debe incluir una discusión de los caracteres bioquímicos diagnósticos en la publicación de la descripción de la especie (Miller y El-Tawil, 1974; Shaklee y Tamaru, 1981; Waples, 1981). En tales casos, se recomienda que los especímenes paratipo intactos, o tejidos aislados de los paratipos, o el holotipo, sean depositados en congelación ($A-80^{\circ} C$) como material de referencia en un museo apropiado.

10. Limitaciones de aplicabilidad

Para cuestiones referentes a las interrelaciones de taxa mayores (sobre el nivel de especie), los conjuntos de datos bioquímicos pueden dar útiles interpretaciones (Shaklee y Whitt, 1981), pero no se deben utilizar en exclusión de otra información tal como aquella sobre caracteres anatómicos, comportamiento, patrones de desarrollo, cariotipos, etcétera. Los datos obtenidos a partir de experimentos electroforéticos tienen la ventaja de ser casi enteramente genéticos, y la desventaja de representar un conjunto pequeño de loci génicos y posiblemente no representativo.

AGRADECIMIENTOS

Me siento particularmente agradecido con los profesores Francisco de Lachica y Joaquín Arvizu, por fructíferas discusiones y valiosas recomendaciones. El proyecto "Estructura genética y evolución en peces de la familia Serranidae en las costas de Baja California Sur", apoyado a través de un convenio de apoyo financiero CIB-CONACyT (PCECCNA-020963) y una beca-tesis CONACyT No. 44182 otorgada al autor, subvencionaron aquellas porciones de investigación original aquí descritas. Agradezco a la señora María Gómez y a la señorita Ana Luz Álvarez su apreciable colaboración en la preparación del manuscrito.

SUMMARY

Electrophoretic analysis of proteins can be utilized to clarify the taxonomic status of species as well as the evolutionary relationships of populations, species

and higher taxa. Electrophoretic data for 16 gene loci in four species of groupers from the Sea of Cortés, genus *Epinephelus* (Serranidae) demonstrate the existence of a close genetic relationship between two species of different subgenus (*Epinephelus* and *Cephalopholis*). Thus, an alternate scheme on the group phylogeny is proposed and the taxonomic status of the second subgenus for the american species is discussed. Similar studies of lizardfishes (Synodontidae) in the genera *Synodus* and *Saurida* reveal that several unreported and/or undescribed species occur in the Hawaiian Islands. The interrelationships of species and genera of lizardfishes, groupers and of goatfishes (Mullidae) were investigated by using values of genetic distance derived from protein similarities and differences. These comparisons provide classic examples of the basic independence of the rates of biochemical and morphological evolution.

Published electrophoretic investigations (including those of the author) on fish speciation and evolution are reviewed and several guidelines for future applications of the technique are proposed. The importance of sympatric samples, the use of large numbers of gene loci and the conservative interpretation of genetic distance values are emphasized. The utility of electrophoretic data for (a) identifying species; (b) identifying F_1 interspecific hybrids; and (c) estimating absolute and relative divergence times between taxa, are discussed. Finally, the combined use of electrophoretic data from fresh specimens together with multivariate morphometric analysis of both fresh specimens and preserved museum type specimens is recommended as a robust approach for sorting out evolutionary genetic and taxonomical problems.

BIBLIOGRAFÍA

- ABRAMOFF, P. R., R. M. DARNELL y J. S. BALSANO, 1968. Electrophoretic demonstration of the hybrid origin of the gynogenetic teleost *Poecilia formosa*. *Amer. Nat.* **182**: 555-558.
- ALLENBORG, F. W. y F. M. UTTER, 1979. Population Genetics. In: Randall, D. J., J. S. Hoar y R. Brett (Eds), *Fish Physiology*, **8**: Academic Press, New York. 407-454 pp.
- ASPINWALL, N., 1974. Genetic analysis of North American populations of the pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, possible evidence for the neutral mutation-random drift hypothesis. *Evolution* **28**: 295-305.
- ASPINWALL, N. y H. TSUYUKI, 1968. Inheritance of muscle proteins in hybrids between the reidside shiner (*Richardsonius balteatus*) and the peamouth chub (*Mylocheilus carinatum*). *J. Fish. Res. Bd. Canada* **25**: 1317-1322.
- AVISE, J. C., 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* **23**: 465-481.
- AVISE, J. C., J. J. SMITH y F. J. AYALA, 1975. Adaptive differentiation with little genic change between two native California minnows. *Evolution* **29**: 411-426.
- AVISE, J. C. y F. J. AYALA, 1976. Genetic differentiation in speciose versus depauperate phylads: Evidence from the California minnows. *Evolution* **30**: 46-58.
- AVISE, J. C. y M. H. SMITH, 1977. Gene frequency comparisons between sunfish (Centrarchidae) populations at various stages of evolutionary divergence. *Syst. Zool.* **26**: 319-335.
- BALDWIN, J. 1971. Adaptation of enzymes to temperature: acetylcholinesterases in the central nervous system of fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* **40B**: 181-187.
- BORDEN, D., E. T. MILLER, G. S. WHITT y D. L. NANNEY, 1977. Electrophoretic analysis of evolutionary relationships in *Tetrahymena*. *Evolution* **31**: 91-102.

- BRASSINGTON, R. A. y A. FERGUSON, 1976. Electrophoretic identification of roach (*Rutilus rutilus* L.), rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) bream (*Abramis brama* L.) and their natural hybrids. *J. Fish Biol.* **9**: 471-477.
- BUTH, D. G., 1979. Biochemical systematics of the cyprinid genus *Luxilus*. *Biochem. Syst. Ecol.* **7**: 69-79.
- BUTH, D. G., 1980. Evolutionary genetics and systematic relationships in the catostomid genus *Hypentelium*. *Copeia* pp. 280-290.
- BUTH, D. G., 1984. The application of electrophoretic data in systematic studies. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **15**: 501-522.
- CARLSON, S. S., A. C. WILSON y R. D. MAXSON, 1978. Do albumin clocks run in time? A reply. *Science* **200**: 1183-1185.
- CHAMPION, M. J. y G. S. WHITT, 1976a. Differential gene expression in multilocus isozyme systems of the developing green sunfish. *J. Exp. Zool.* **196**: 263-282.
- CHAMPION, M. J. y G. S. WHITT, 1976b. Synchronous allelic expression at the glucosephosphate isomerase A and B loci in interspecific sunfish hybrids. *Biochem. Genet* **14**: 723-737.
- CLAYTON, J. W., R. E. K. HARRIS y D. N. TRETIAK, 1973. Identification of supernatant and mitochondrial isozymes of malate dehydrogenase on electropherograms applied to the taxonomic discrimination of walleye (*Stizostedium vitreum vitreum*). Sauger (*S. canadense*), and suspected interspecific hybrid fishes. *J. Fish Res. Bd. Canada* **30**: 927-938.
- DALY, J. C. y B. J. RICHARDSON, 1980. Allozyme variation between populations of baitfish species *Stolephorus heterolobus* y *St. devisi* (Pisces: Engraulidae) and (*Spratelloides graciliss*) (Pisces: Dussumieriidae) from Papua, New Guinea waters. *Austral. J. Mar. Freshw. Res.* **31**: 701-711.
- FERGUSON, A. y F. M. MASON, 1981. Allozyme evidence for reproductively isolated sympatric populations of brown trout *Salmo trutta* L. in Lough Melvin, Ireland. *J. Fish. Biol.* **18**: 629-642.
- GARDINER, W. R. 1974. An Electrophoretic method for distinguishing the young fry of salmon *Salmo salar* (L.), from those of trout *Salmo trutta* (L.). *J. Fish. Biol.* **6**: 517-519.
- GORMAN, G. C., M. SOULE, S. Y. YANG y E. NEVO, 1975. Evolutionary genetics of insular Adriatic lizards. *Evolution* **29**: 52-71.
- GORMAN, G. C. y Y. J. KIM, 1977. Genotypic evolution in the face of phenotypic conservatism: *Abudefduf* (Pomacentridae) from the Atlantic and Pacific sides of Panamá. *Copeia* pp. 694-697.
- GORMAN, G. C. y J. RENZI, JR., 1979. Genetic distance and heterozygosity estimates in electrophoretic studies: Effects of sample size. *Copeia* 242-249.
- GOSLINE, W. A. y V. E. BROCK, 1960. Handbook of Hawaiian fishes. Univ. Hawaii Press, Honolulu.
- GOULD, S. J., D. S. WOODRUFF y J. P. MARTIN, 1975. Genetics and morphometrics of *Cerion* at Pongo Carpet: A new systematic approach to this enigmatic land snail. *Syst. Zool.* **23**: 518-535.
- GRASSLE, J. L. y J. F. GRASSLE, 1976. Sibling species in the marine pollution indicator *Capitella* (Polychaeta). *Science* **192**: 567-569.
- GRAVES, J. E. y R. H. ROSENBLATT, 1980. Genetic relationships of the color morphs of the serranid fish *Hypoplectrus unicolor*. *Evolution* **34**: 240-245.
- HERZBERG, A. y R. PASTEUR, 1975. The identification of grey mullet species by disc electrophoresis. *Aquaculture* **5**: 99-106.
- HUBBS, C. L., 1952. Antitropical distribution of fishes and other organisms. *Proc. 7 Pacific Sci. Cong.* **3**: 324-329.
- HULATA, G. S. ROTHBARD y R. R. AUTALION, 1981. Evidence for multiple paternity in *Sarotherodon* broods. *Aquaculture* **25**: 281-283.

- JOHNSON, M. S., 1975. Biochemical systematics of the atherinid genus *Menidia* Copeia pp. 662-691.
- KEIGWIN, J. D. JR., 1978. Pliocene closing of the Isthmus of Panama based on biostratigraphic evidence from nearby Pacific Ocean and Caribbean Sea cores. *Geology* 6: 630-654.
- KIMURA, M. y T. OHTA, 1971. Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. *Nature* 229: 467-469.
- KIRPATRICK, M. y R. K. SELANDER, 1979. Genetics of speciation in Lake Whitefishes in the Alleghash Basin. *Evolution* 33: 478-485.
- KORNFIELD, I. L., U. RITTE, C. RICHLER y J. WAHRMAN, 1979. Biochemical and cytological differentiation among cichlid fishes of the Sea of Galilee. *Evolution* 33: 1-14.
- LACHNER, E. A., 1960. Family Mullidae: Goatfishes. In: Schultz, L. P. (Ed): Fishes of the Marshall and Marianas Islands. U. S. Nat. Mus. Bull. 2 (202). 438 pp.
- LÓPEZ-LEMUS, L. G., 1985a. Análisis sistemático bioquímico en cuatro especies de cabrillas del Mar de Cortés, género *Epinephelus* (Serranidae: Epinephelinae). X CIBCASIO Meeting Transactions (en prensa).
- LÓPEZ-LEMUS, L. G., 1985b. Comparación enzimática funcional en cuatro especies de cabrillas del Mar de Cortés, género *Epinephelus* (Pisces: Serranidae: Epinephelinae). *Memorias del 8vo. Congreso Nacional de Zoología*, 1: 230-247.
- LÓPEZ-LEMUS, L. G., 1985c. La utilización de isoenzimas como marcadores genéticos en prácticas de manejo pesquero y conservación de los recursos marinos. Memorias de la Conferencia Internacional sobre el Uso y Preservación de los Recursos Marinos y de Zonas Áridas (en prensa).
- LUNDSTROM, R. C., 1977. Identification of fish species by thin-layer polyacrilamide gel isoelectric focusing. *Fish. Bull.* 75: 571-576.
- MANOCH, C. S. III, G. R. HUNTSMAN, B. SULLIVAN y J. ELLIOT, 1976. Conspecific status of the sparid fishes *Pagrus sedecim* Ginsburg and *P. pagrus* Linnaeus. *Copeia* pp. 678-684.
- MANWELL, C., C. M. A. BAKER y W. CHILDERS, 1963. The genetics of hemoglobin in hybrids. I. A molecular basis for hybrid vigor. *Comp. Biochem. Physiol.* 10: 103-120.
- MANWELL, C. y C. M. A. BAKER, 1970. Molecular Biology and the origin of species. University of Washington Press, Seattle.
- MARKERT, C. L. y F. MOLLER, 1959. Multiple forms of enzymes: Tissue, ontogenetic and species specific patterns. *Proc. Natl. acad. Sci. USA*, 45: 753-763.
- MAXSON, L. R. y A. C. WILSON, 1974. Convergent morphological evolution detected by studying proteins of tree frogs in the *Hyla eximia* species group. *Science* 185: 66-68.
- MEEK, S. E. y S. F. HILDEBRAND, 1925. The marine fishes of Panama. *Publ. Fields Mus. Nat. Hist. Zool. Ser.*, No. 249, pp. xv-xix + 331-707, 25-71 pls.
- METCALF, R. A., G. S. WHITT, W. F. CHILDERS y R. L. METCALF, 1972. Inheritance of esterases in the white crappie (*Pomoxis annularis*), black crappie (*P. nigromaculatus*), and their F₁ and F₂ interspecific hybrids. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* 3: 19-33.
- MILLER, P. J. y M. Y. EL-TAWIL, 1974. A multidisciplinary approach to a new species of *Gobius* (Teleostei: Gobiidae) from southern Cornwall. *J. Zool. London* 174: 539-574.
- NEI, M. 1971. Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on protein identity. *Amer. Nat.* 105: 385-397.
- , 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Nat.* 106: 283-292.
- , 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- NELSON, J. S., 1984. Fishes of the world, 2nd. Edition. John Wiley & Sons, Inc. N. Y. pp. 181-182.
- NYMAN, O. L., 1970. Electrophoretic analysis of hybrids between salmon (*Salmo salar* L.) and trout (*Salmo trutta* L.). *Trans. Amer. Fish. Soc.* 99: 229-236.

- PAGE, L. M. y G. S. WHITT, 1973. Lactate dehydrogenase isozymes, malate dehydrogenase isozymes and tetrazolium oxidase mobilities of darters (*Etheogtomahni*). *Comp. Biochem. Physiol.* 448-623.
- POWERS, D. A. y A. R. PLACE, 1978. Biochemical genetics of *Fundulus heteroclitus* (L.) I. Temporal and spatial variation in gene frequencies of Ldh-B, Mdh-A, Gpi-B and Pgm-A. *Biochem. Genet.* 16: 593-607.
- REINITZ, G. L., 1977. Electrophoretic distinction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), west-slope cutthroat (*S. clarki*) and their hybrids. *J. Fish Res. Bd. Canada* 34: 1236-1239.
- RYMAN, N., F. W. ALLENDORF y G. STAHL, 1979. Reproductive isolation with little genetic divergence in sympatric populations of brown trout (*Salmo trutta*). *Genetics* 92: 247-262.
- SAGE, R. D. y R. K. SELANDER, 1975. Trophic radiation through polymorphism in cichlid fishes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72: 4669-4673.
- SALMON, M. S., D. FERRIS, D. JOHNSON, G. HYATT y G. S. WHITT, 1979. Behavioral and biochemical evidence for species distinctiveness in the fiddler crabs *Uca speciosa* and *U. spinicarpa*. *Evaluation* 33: 182-191.
- SARICH, V. M., 1977. Rates, sample sizes and the neutrality hypothesis for electrophoresis in evolutionary studies. *Nature* 265: 24-28.
- SCHWARTZ, F. J., 1981. World literature to fish hybrids with an analysis by family, species, and hybrid: Supplement 1. NOAA Tech. Rept. NMFS SSRF-750. U. S. Gut. Printing Office. Washington, D. C.
- SELANDER, R. K., M. H. SMITH, S. Y. YANG, W. E. JOHNSON y J. B. GENTRY, 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). *Univ. Texas Publ.* 7103: 49-90.
- SHAKLEE, J. B., J. A. CHRISTIANSEN, B. D. SIDELL, C. L. PROSSER y G. S. WHITT, 1977. Molecular aspects of temperature acclimation in fish: Contribution of changes in enzyme activities and isozyme patterns to metabolic reorganization in the green sunfish. *J. Exp. Zool.* 201: 1-20.
- SHAKLEE, J. B., M. J. CHAMPION y G. S. WHITT, 1974. Developmental genetics of teleosts: A biochemical analysis of lake chubsucker ontogeny. *Dev. Biol.* 38: 356-382.
- SHAKLEE, J. B. y P. B. SAMALLOW, 1980. Genetic aspects of population structure of four species in the Northwestern Hawaiian Islands. *In: Grigg, R. W. y R. T. Pfund (Eds): Proceedings of the Symposium on Status of Resource Investigations in the Northwestern Hawaiian Islands. Sea Grant Misc. Rept. UNIH-SEAGRANT-MR-80-04, pp. 264-277.*
- SHAKLEE, J. B. y C. S. TAMARU, 1981. Biochemical and morphological evolution of Hawaiian bonefishes (*Albula*). *Syst. Zool.* 30: 125-146.
- SHAKLEE, J. B. y G. S. WHITT, 1981. Lactate dehydrogenase of gadi form fishes: Divergent patterns of gene expression indicate a heterogeneous taxon. *Copeia* pp. 563-578.
- SIDELL, B. D., R. G. OTTO y D. A. POWERS, 1978. A biochemical method for distinction of striped bass and white perch larvae. *Copeia* pp. 340-343.
- SMITH, C. L., 1971. A revision of the American groupers: *Epinephelus* and allied genera. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* 146: 67-241.
- SMITH, P. J., R. I. C. C. FRANCIS y L. J. PAUL, 1978. Genetic variation and population structure in the New Zealand snapper. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 12: 343-350.
- SMITH, P. J., B. A. WOOD y P. G. BENSON, 1979. Electrophoretic and meristic separation of blue maomao and sweep. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 13: 549-551.
- SMITH, P. J., P. G. BENSON y A. A. FRENTZOS, 1980. Electrophoretic identification of larval and o-group flounders (*Rhombosolea* spp.) from Wellington Harbour. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 14: 401-404.
- SMITH, P. J. y J. CROSSLAND, 1977. Identification of larvae of snapper *Chrysophrys auratus* Forster by electrophoretic separation of tissue enzymes. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 11: 795-798.

- SMITH, P. J. y D. A. ROBERTSON, 1981. Genetic evidence for two species of sprat (*Sprattus*) in New Zealand Waters Mar. *Biol.* 62: 227-233.
- SOKAL, R. R. y P. H. A. SNEATH, 1963. Principles of Numerical Taxonomy. W. H. Freeman, San Francisco.
- SOMERO, G. N., 1975. The roles of isozymes in adaptation to varying temperatures. In: Markert, C. L. (Ed) Isozymes. III. Physiological function. Academic Press, N. Y. 221-234 pp.
- STANSFIELD, W. D., 1969. Genetics. McGraw-Hill Book Co., N. Y.
- TSUYUKI, H. y E. ROBERTS, 1965. Zone electrophoretic comparisons of muscle miogens and blood proteins of artificial hybrids of salmonidae with their parental species. *J. Fish. Res. Bd. Canada* 22: 767-773.
- TURNER, B. J., 1974. Genetic divergence of Death Valley pupfish species: biochemical versus morphological evidence. *Evolution* 28: 281-294.
- TURNER, B. J., B. L. BRETT, E. M. RASCH y J. S. BALSANO, 1980. Evolutionary Genetics of a gynogenetic fish, *Poecilia formosa*, the Amazon molly. *Evolution* 34: 246-258.
- TURNER, B. J. y D. J. GROSSE, 1980. Trophic differentiation of *Ilyodon* a genus of stream-dwelling goodeid fishes: Speciation versus ecological polymorphism. *Evolution* 34: 259-270.
- TURNER, B., J. y R. K. LIU, 1976. The specific identity of the introduced pupfish population at Zzyzx Spring, California. *Copeia* pp. 211-212.
- UTTER, F. M., F. W. ALLENDORF y H. O. HODGINS, 1973. Genetic variability and trout based on protein variations. *Syst. Zool.* 22: 257-270.
- VAWTER, A. T., R. H. ROSENBLATT y G. C. GORMAN, 1980. Genetic diversity among fishes of the Eastern Pacific and the Caribbean: Support for the molecular clock. *Evolution* 34: 705-711.
- VRIJENHOECK, E. C., 1972. Genetic relationships of unisexual-hybrid fishes to their progenitors using lactate dehydrogenase isozymes as gene markers (*Poeciliopsis*, *Poeciliidae*). *Amer. Nat.* 106: 754-766.
- WAPLES, R. S., 1981. A biochemical and morphological review of the lizardfish genus *Saurida* in Hawaii, with the description of a new species. *Pac. Sci.* 35: 217-235.
- WHEAT, T. E., W. F. CHILDERS, E. T. MILLER y G. S. WHITT, 1971. Genetic and *in vitro* molecular hybridization of malate dehydrogenase isozymes in interspecific bass (*Micropterus*) hybrids. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet* 2: 3-14.
- WHEAT, T. E., G. S. WHITT y W. F. CHILDERS, 1973. Linkage relationships of six enzyme loci in interspecific sunfish hybrids (genus *Lepomis*) *Genetics* 74: 343-350.
- WHITT, G. S., 1981. Developmental genetics of fishes: Isozymic analyses of differential gene expression. *Amer. Zool.* 21: 549-572.
- WILSON, A. C., S. S. CARLSON y T. J. WHITE, 1977. Biochemical evolution. *Ann. Rev. Biochem.* 46: 573-639.
- WINNANS, G. A., 1980. Geographic variation in the milkfish *Chanos chanos*. I. Biochemical evidence. *Evolution* 34: 558-574.
- WRIGHT, J. E., J. R. HECKMAN y L. M. ATHERTON, 1975. Genetic and developmental analyses of LDH isozymes in trout. In: Markert, C. L. (Ed), Isozymes III. Developmental Biology. Academic Press, N. Y. 375-401 pp.
- WHYLES, J. S. y G. C. GORMAN, 1980. The albumin immunological and Nei electrophoretic distance correlation: A calibration for the saurian genus *Anolis* (Iguanidae). *Copeia* pp. 66-71.

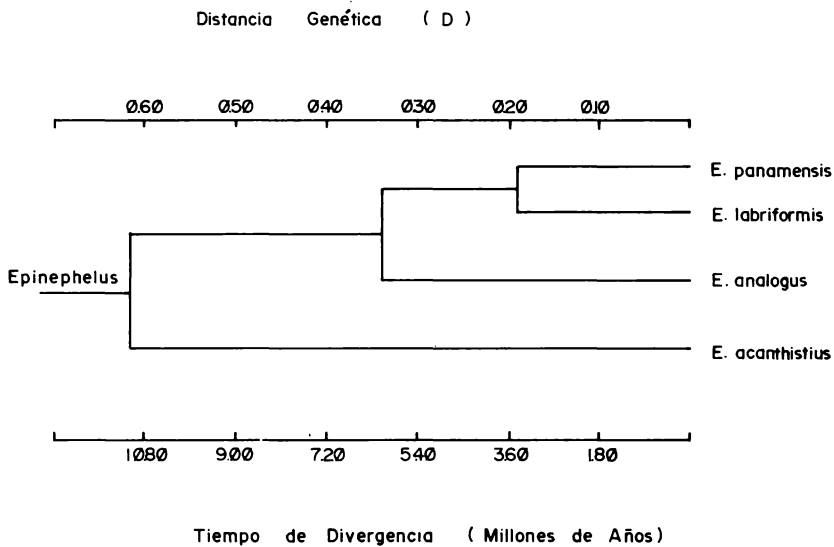


Fig. 1. Dendrograma (UPGMA, Sokal y Sneath, 1963) de valores de distancia genética (Nei, 1972) basado en todas las comparaciones pares posibles de cuatro especies de cabrillas del Mar de Cortés, género *Epinephelus*.

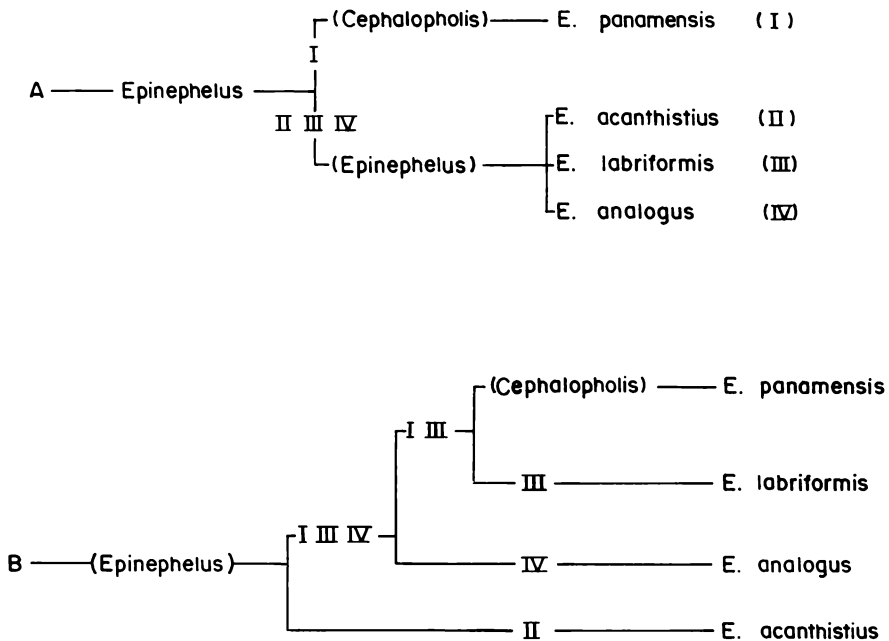


Fig. 2. Dendrogramas comparativos que muestran las posibles relaciones filogenéticas de cuatro especies de cabrillas del Mar de Cortés, (A) en base a las características anatómicas (Smith, 1971); (B) de acuerdo con los caracteres genéticos descritos en el texto. I, II, III y IV son los subgéneros aparecen entre paréntesis.

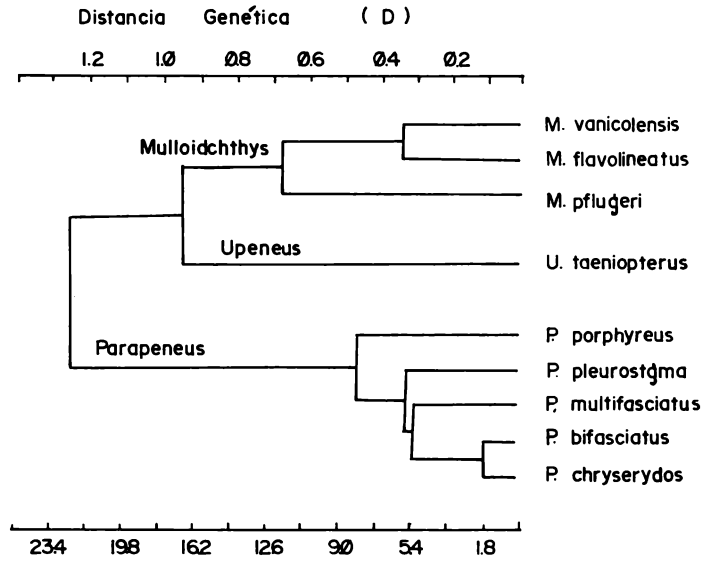


Fig. 3. Dendrograma (UPGMA, Sokal y Sneath, 1963) de valores de distancia genética (Nei, 1978) basado en todas las comparaciones pares posibles de nueve especies de salmonetes del Archipiélago Hawaiano, géneros *Mulloidichthys*, *Upeneus* y *Parupeneus*.

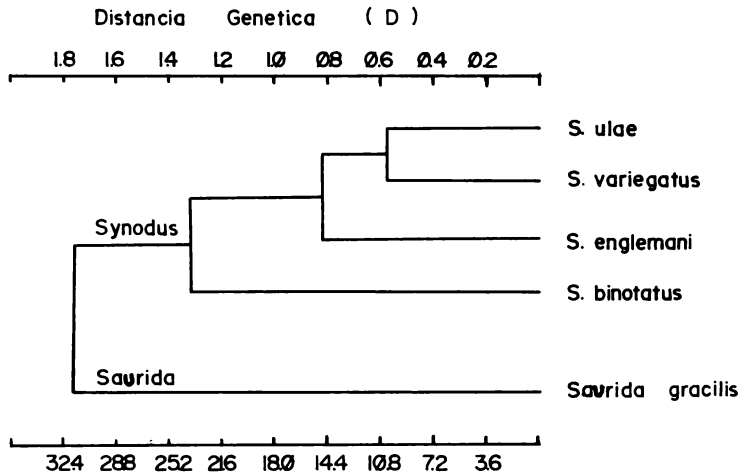


Fig. 4. Dendrograma (UPGMA, Sokal y Sneath, 1963) de valores de distancia genética (Nei, 1978) basado en todas las comparaciones pares posibles de cuatro especies de peces lagarto, géneros *Synodus* y *Saurida*.

TABLA 1. Frecuencias alélicas de los loci polimórficos en y entre cuatro especies de cabrillas del Mar de Cortés (género *Epinephelus*). Aquellos loci no listados aquí, se encontraron fijados para el mismo alelo en las cuatro especies. Los valores próximos a los nombres específicos indican el tamaño de las muestras.

Loc. *	Ale.	<i>E. analogus</i> (15)	<i>E. panamensis</i> (25)	<i>E. acanthistius</i> (15)	<i>E. labriiformis</i> (25)
Ldh-a	a	—	—	1.00	—
	b	—	1.00	—	—
	c	1.00	—	1.00	1.00
m-Mdh	a	—	—	1.00	—
	b	—	1.00	—	1.00
	c	1.00	—	—	—
s-Mdh	a	—	—	1.00	—
	b	1.00	1.00	—	1.00
Me	a	1.00	1.00	—	1.00
	b	—	—	1.00	—
Mpi-a	a	1.00	1.00	—	1.00
	b	—	—	1.00	—
Pgm-b	a	1.00	1.00	—	1.00
	b	—	—	1.00	—
Gpi-a	a	—	—	0.20	—
	b	0.90	1.00	0.80	0.84
	c	0.10	—	—	0.16
Gpi-b	a	—	—	1.00	—
	b	—	1.00	—	1.00
	c	1.00	—	—	—
Adh	a	—	1.00	—	1.00
	b	1.00	—	1.00	—
Sod-a	a	1.00	1.00	—	1.00
	b	—	—	1.00	—
Sod-b	a	—	—	1.00	—
	b	1.00	1.00	—	1.00
Gdh	a	1.00	1.00	—	1.00
	b	—	—	1.00	—

* Nombres (abreviaturas) de los loci investigados: lactato deshidrogenasa (Ldh-a, Ldh-b, Ldh-c), malato deshidrogenasa (m-Mdh, s-Mdh-a, s-Mdh-b), enzima málica (Me), manosa fosfato isomerasa (Mpi-a), fosfoglucomutasa (Pgm-a, Pgm-b), glucosa fosfato isomerasa (Gpi-a, Gpi-b), alcohol deshidrogenasa (Adh), superóxido dismutasa (Sod-a, Sod-b), glucosa deshidrogenasa (Gdh).

TABLA 2. Estimaciones de identidad genética, I (Nei, 1972) sobre la diagonal, y de distancia genética, $D = -\ln I$ bajo la diagonal, para cuatro especies de cabrillas del Mar de Cortés (género *Epinephelus*). Las estimaciones se basan en 16 loci comunes, aparentemente, a las cuatro especies. Entre paréntesis, bajo los valores de distancia genética, están los tiempos de divergencia (en millones de años) basados en la correlación de Sarich (1977) entre los valores de distancia genética y los tiempos de divergencia para vertebrados, modificado por Carlson *et al.* (1978).

	<i>E. panamensis</i>	<i>E. labriiformis</i>	<i>E. analogus</i>	<i>E. acanthistius</i>
<i>E. panamensis</i>	—	0.8269	0.6941	0.4584
<i>E. labriiformis</i>	0.190 (3.42)	—	0.7393	0.5299
<i>E. analogus</i>	0.365 (6.57)	0.302 (5.43)	—	0.5460
<i>E. acanthistius</i>	0.780 (14.04)	0.635 (11.43)	0.605 (10.89)	—

TABLA 3. Estimaciones de identidad genética, I (Nei, 1978), sobre la diagonal y de Distancia genética, $D = -\ln I$, bajo la diagonal para nueve especies de salmonetes del Archipiélago Hawaiano (géneros *Upeneus*, *Mulloidichthys* y *Parupeneus*).

	<i>U. taeniopterus</i>	<i>M. flavolineatus</i>	<i>M. pflugeri</i>	<i>M. vanicolensis</i>	<i>P. bifasciatus</i>	<i>P. chryserydos</i>	<i>P. multifasciatus</i>	<i>P. pleurostigma</i>	<i>P. porphyreus</i>
<i>U. taeniopterus</i>	—	0.39	0.31	0.47	0.20	0.16	0.19	0.28	0.19
<i>M. flavolineatus</i>	0.93	—	0.48	0.71	0.41	0.35	0.37	0.44	0.29
<i>M. pflugeri</i>	1.17	0.74	—	0.54	0.28	0.28	0.20	0.27	0.24
<i>M. vanicolensis</i>	0.76	0.34	0.61	—	0.32	0.35	0.31	0.45	0.27
<i>P. bifasciatus</i>	1.63	0.89	1.29	1.13	—	0.90	0.74	0.74	0.66
<i>P. chryserydos</i>	1.85	1.04	1.29	1.05	0.11	—	0.73	0.71	0.69
<i>P. multifasciatus</i>	1.64	1.00	1.63	1.18	0.30	0.32	—	0.70	0.58
<i>P. pleurostigma</i>	1.29	0.82	1.31	0.79	0.30	0.34	0.36	—	0.56
<i>P. porphyreus</i>	1.67	1.23	1.43	1.44	0.41	0.37	0.54	0.58	—

TABLA 4. Estimaciones de identidad genética, I (Nei, 1978), sobre la diagonal y de Distancia genética, $D = -\ln I$, bajo la diagonal para cinco especies de peces lagarto (géneros *Synodus* y *Saurida*).

	<i>S. ulae</i>	<i>S. variegatus</i>	<i>S. englemani</i>	<i>S. binotatus</i>	<i>S. gracilis</i>
<i>Synodus ulae</i>	—	0.54	0.41	0.31	0.17
<i>S. variegatus</i>	0.61	—	0.45	0.28	0.17
<i>S. englemani</i>	0.89	0.80	—	0.24	0.17
<i>S. binotatus</i>	1.17	1.28	1.42	—	0.17
<i>Saurida gracilis</i>	1.78	1.75	1.76	1.76	—

TABLA 5. Diferenciación genética promedio entre grupos de peces.

	<i>Poblaciones</i>	<i>Especies</i>	<i>Géneros</i>
Similitud genética promedio, I.	0.97	0.75	0.40
Distancia genética promedio, D.	0.05	0.30	0.90
Intervalo de valores D.	0.002-0.065	0.025-0.609	0.580-1.21