



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

24
8/18

“ESTUDIO ELECTROFORETICO DE LA
ANCHOVETA (ENGRAULIS MORDAX) EN LA
ZONA DE BAJA CALIFORNIA”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

GABRIELA GONZALEZ AVILA

MEXICO, D. F.

1986.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

Introducción.....	1
Antecedentes.....	5
Objetivo.....	22
Material y Método.....	23
Resultados.....	30
Discusión.....	51
Conclusiones.....	56
Referencias.....	59

INTRODUCCION

Uno de los principales problemas que afronta la humanidad es la escasez de alimentos, agravados por factores de gran complejidad como son; el rápido crecimiento demográfico, la mala distribución de los recursos, y la orientación inadecuada en cuanto a su producción y consumo.

Es bien conocido el alto valor nutritivo del pescado y de los demás productos del mar. Se destaca por la cantidad y calidad de su proteína, así como de las cantidades apreciables de diversas vitaminas y minerales. Los pescados de origen marino tienen alto contenido de sales y yodo. Algunas especies, además de los mariscos, tienen también cantidades importantes de vitamina A. En general, desde el punto de vista nutricional, el pescado presenta ventaja sobre otros alimentos protéicos de origen animal ya que contiene poca grasa y sobre todo poco colesterol.

Una de las áreas de mayor productividad es la corriente de California, con uno de los potenciales pesqueros más altos en el mundo (Cushing, 1975), siendo una de las especies de mayor importancia económica y ecológica la anchoveta, Engraulis mordax,

la cual ha sido mejor estudiada a raíz del descenso de la pesquería de la sardina del Pacífico (Sardinops sagax), (Escudero, 1984).

Las proteínas ocupan una posición central en cuanto a la arquitectura y funcionamiento de la materia viviente. Están íntimamente relacionadas con todas las fases de la actividad física y química que constituye la vida de la célula ya que todas las enzimas, los catalizadores biológicos, son proteínas.

Las proteínas son grandes moléculas con pesos moleculares que varían desde 5.000 a muchos millones. Puesto que las proteínas están constituidas por numerosos aminoácidos que poseen radicales ácidos (COO^-) y básicos (NH_3^+), pueden cargarse positiva, negativamente o permanecer en estado neutro, es decir, con igual número de radicales COO^- y NH_3^+ . Debido a la presencia de estos grupos se dice que las proteínas poseen carácter anfotérico, es decir, se comportan tanto como ácidos o como bases y se les denomina zwitteriones o iones dipolares.

La carga neta de una proteína está influida por el pH, existiendo para cada proteína un valor de pH en el cual no se mueve en un campo eléctrico; este valor del pH es denominado como el punto isoeléctrico (pI). A valores de pH más ácidos que el correspondiente a dicho punto, la proteína tendrá una carga posi

tiva y como catión emigrará al polo negativo (cátodo). Análogamente para valores del pH más alcalinos que el del punto isoeléctrico, la proteína tendrá una carga negativa, y al igual que los aniones emigrará hacia el polo positivo (ánodo). El punto isoeléctrico de una proteína determinada es una constante que ayuda a la caracterización de estas sustancias.

Straub encontró que en el extracto de músculo predominaban dos proteínas la miosina, obtenida por extracción breve con disolución salina concentrada, y la actina, preparada por diversos procedimientos que implican la separación preliminar de los lípidos mezclados del músculo, (White, et. al. 1979).

La actina y miosina son los materiales que componen la miofibrilla, unidad contráctil fundamental del músculo, y el comportamiento de estas dos proteínas en presencia de ATP es la base de la contracción.

La electroforesis destaca entre los métodos de estudio de las proteínas. El análisis electroforético se utiliza para determinar la pureza de proteínas individuales y para el análisis cualitativo y cuantitativo de mezclas complejas.

La electroforesis es un método de separación que se basa en las propiedades eléctricas de los componentes de una mezcla.

Se define como el movimiento de un ión cargado o grupo

iónico hacia uno de los electrodos cuando se les suministra una corriente eléctrica. De esta manera un ión cargado positivamente migrará hacia el cátodo (polo negativo) y un ion cargado negativamente migrará hacia el ánodo.

La electroforesis puede realizarse en forma libre, o bien en forma de electroforesis de zona.

Electroforesis libre: En este tipo de electroforesis las sustancias que han de separarse se colocan en una solución buffer a través de la cual se desplazan al aplicarles una corriente eléctrica y se difundirán en el momento en que cese la corriente. Es costosa, complicada y se requieren grandes cantidades de muestra y su resolución es limitada.

Electroforesis de zona: Los iones o proteínas se mueven sobre un medio de soporte que puede ser papel, acetato de celulosa, agar, agarosa, gel de almidón, el de sílice, el de acrilamida y algunos otros. En éste método las partículas con carga se separan de sus componentes en zonas bien definidas y tiene la ventaja de ser más fácil, más barato y requiere cantidades de muestra del orden de microlitros.

Las diversas zonas de proteínas pueden hacerse visibles mediante tinciones, usando una gran variedad de colorantes.

ANTECEDENTES

El interés por el conocimiento de la vida de los peces ha sido el resultado del deseo innato de saber más sobre la naturaleza, así como de nuestra necesidad de recabar más información acerca de las especies que nos son útiles.

El nombre científico de la anchoveta se debe a los trabajos de Girard (1856-1858), en los cuales identificó dos especies: Engraulis mordax y Engraulis nanus.

La anchoveta pertenece al orden Clupeiforme, que tiene como características: Aletas carentes de espinas, sostenidas sólo por radios generalmente ramificados; las aletas pélvicas implantadas siempre en la región abdominal y la vejiga natatoria que falta en algunos de los subórdenes, está comunicada con el tracto digestivo.

Dentro de la familia Engraulidae tenemos varios géneros, como son: Engraulis mordax; Anchoa sp.; Cetengraulis mysticetus; Engraulis capensis.

Clasificación de Engraulis mordax

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Superclase: Pisces

Clase: Osteichthyes

Orden: Clupeiformes

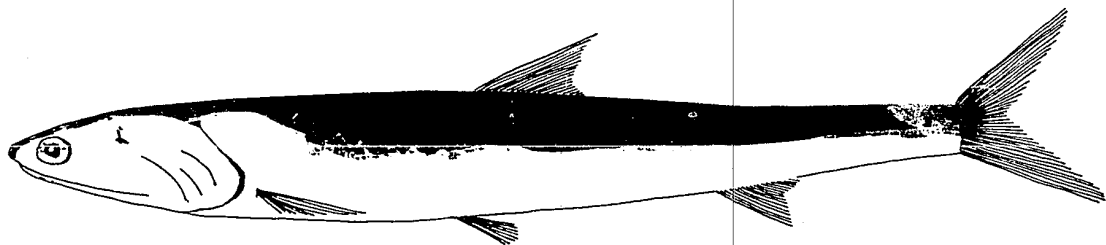
Suborden: Clupeoidei

Familia: Engraulidae (anchoa, anchoveta)

Género: Engraulis

Especie: mordax

Tomada de Lagler, et. al. (1984)



Engraulis mordax

Figura N° 1

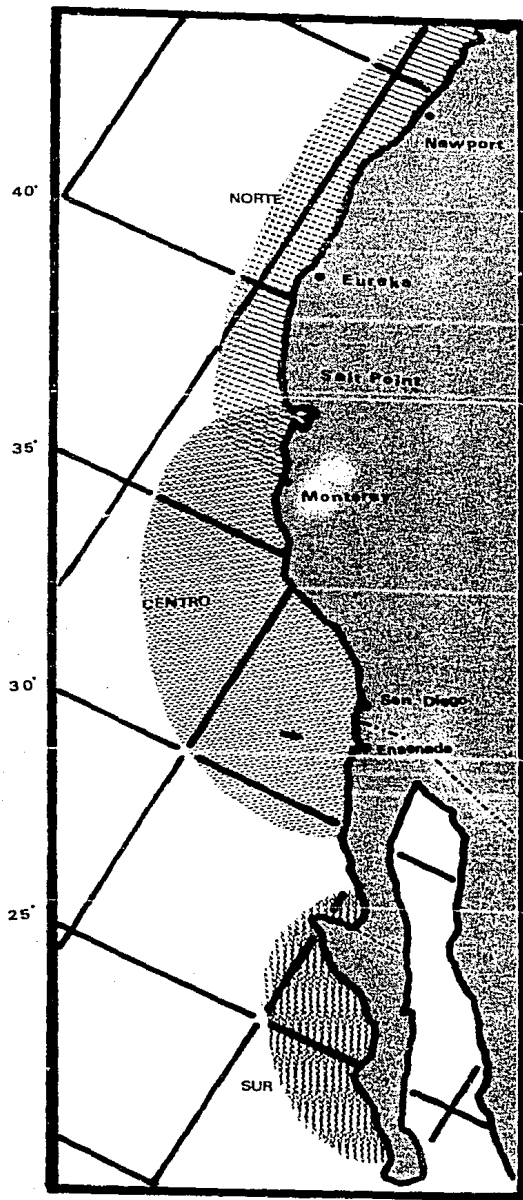
Hubbs (1925) encontró pequeñas diferencias morfométricas en muestras de Engraulis mordax colectadas de San Francisco al sur de California. Describe una subespecie distinta, Engraulis mordax nanus que habita las aguas saladas de la Bahía de San Francisco.

McHugh (1951) encontró tres subpoblaciones de anchoveta del norte: Una de la Columbia Británica al norte de California, una del sur de California y norte de Baja California, y una del centro y sur de Baja California. (Fig. 2).

Este estudio se basa en la subpoblación de Baja California Norte.

Se extiende 650 km. aproximadamente de norte a sur desde la frontera con los Estados Unidos, en el paralelo 32°43' hasta el paralelo 28°00' donde limita con el estado de Baja California Sur. De este a oeste su mayor longitud es de 140 km. aproximadamente, entre los meridianos 112°48' en la costa del Golfo de California o Mar de Cortés y el de 117°08' en la del Océano Pacífico.

Las costas de California en su parte exterior están influidas por una corriente que viene desde el norte de los Estados Unidos de Norteamérica, denominada corriente de California y que se junta a la altura de los 20° con la contracorriente ecuatorial.



Mapa de distribución de
anchoveta

Figura N° 2

Las costas de California son muy ricas en nutrientes, lo que junto con la temperatura fría de la corriente de California, hace a esta región altamente productiva.

Las anchovetas son organismos pelágicos que forman grandes cardúmenes. Se encuentran en aguas oceánicas con temperaturas superficiales que oscilan entre 14.5 y 20°C. Efectúan migraciones verticales durante el día, sumergiéndose en las capas inferiores. De noche se desplazan hacia capas superiores. Son organismos consumidores de plancton principalmente y en ocasiones de pequeños peces y larvas. Es un fitófago típico.

La edad de las anchovetas puede determinarse por las escamas (Clark y Philips, 1952) o por el uso de los otolitos (Collins y Spratt, 1969).

Más en 1974 reportó, que existe un gradiente definido en la distribución de las anchovetas cerca de la costa, generalmente predominan los ejemplares más grandes y de mayor edad; además, se señala un repliegue de la anchoveta hacia la costa y superficie durante el verano (Villamar, et. al., 1979).

Se ha observado que en la anchoveta existe una tendencia a evitar la zona de mayor intensidad de corrientes (Parrish, et. al., 1981). Así mismo, Husby y Nelson (1982) corroboraron la relación existente entre la reproducción de la anchoveta y la

estabilidad de la columna de agua.

Alcanzan la madurez sexual al completar un año de vida, tiempo en el que miden entre los 9.0 y los 10.0 cm. de longitud total. La talla máxima de esta especie es de 22.8 cm.

La época de reproducción de la anchoveta cerca de las costas de California y Baja California se observa prácticamente durante todo el año, pero la más alta intensidad tiene lugar a fines de invierno, principios de primavera y en algunas semanas de otoño. En esta época se dirigen hacia mar abierto en cardúmenes de alta densidad y gran tamaño alcanzando varios kilómetros.

En los cardúmenes de anchoveta se ha observado una segregación por sexos (Klingbeil, 1978) y la mayoría de los desoves ocurren en cardúmenes dominados por los machos (Hunter y Goldberg, 1980), pudiendo ser este un mecanismo para asegurar una alta tasa de fertilización.

El índice de fecundidad de esta especie oscila entre los 20 000 y 30 000 huevecillos por desove, siendo la forma del huevo elíptica.

Hunter y Macewicz (1985), concluyeron que el primer período de desove de las hembras jóvenes, es más corto que en las hembras viejas. Hunter y Leong (1981) estimaron que el promedio de desoves es aproximadamente 20 veces por año. Por

lo tanto, las hembras viejas desovan con mayor frecuencia y probablemente contribuyen en una mayor parte en la producción total de la población. Esto indica la importancia de mantener a los peces viejos en la población y el peligro que existiría si hay una sobrepoblación.

Hunter y Leong (1981), señalan que cuando una población está en tensión por falta de alimento como resultado de aguas cálidas, la duración de la estación de desove es más corta y el número de desoves por hembra puede ser menor.

Las áreas de desove se localizan en aguas del sur de California y el sur de Baja California.

Lo (1985), estima que el tiempo promedio de incubación es de 3.15 días.

Sin embargo, en años recientes el aumento de la mortalidad de huevos y larvas, es completamente variable dependiendo del año y de los estados de vida (Ahlstrom, 1954; Marr, 1956; Colton, 1959; Burd y Parnell, 1972; Cushing, 1973; Fager, 1973; Harding y Talbot, 1973), (tomado de Lo, 1985).

En México, el estudio de la anchoveta en forma integral y multidisciplinaria se inició a finales de 1974 a través del Programa Anchoveta del Instituto Nacional de Pesca (Anónimo, 1974); su buena planificación y la atención científica y técnica recibida en sus inicios permitieron lograr un diagnós-

tico integral de la pesquería hasta 1978. Desafortunadamente, el estudio de la anchoveta, se ha parcializado y reducido día a día.

No existe información precisa en donde opera la flota anchovetera, sin embargo la escasa información disponible indica que se restringe a la zona costera.

Una de las posibles causas en la baja registrada en las capturas de anchoveta en las dos últimas temporadas puede deberse: a cambios estructurales de la población como consecuencia de una explotación inadecuada y a fuertes variantes ambientales, como la corriente del Niño. En los últimos 100 años se ha acentuado el fenómeno del Niño. A mediados de 1982, se hicieron sentir en el Pacífico tropical incrementos anormales en la temperatura superficial (superiores a 2°C), que se observaron después en California a principios de Noviembre (Fiedler, 1983). Este mismo autor señala que el stock de reproductores de anchoveta en 1983, se caracterizó por una alta incidencia de organismos viejos dando por resultado una fecundidad y frecuencia de reproducción más baja, maduración de huevos más rápida, mortalidad de huevos reducida, como consecuencia de temperaturas superficiales más calidas.

Laurs y Doston (1983), señalaron algunos impactos del Niño en 1982-1983, en la distribución, tasas de crecimien-

to, factor de condición y capturabilidad de muchas pesquerías en la corriente de California.

La explotación integral del mar para la obtención de proteínas es considerada mundialmente como una solución.

En muchos países desarrollados, como Japón, Rusia y varios de Europa, el pescado constituye la principal fuente proteica y de hecho el alimento principal de su dieta.

México nunca ha sido un país consumidor de pescado y sólo algunas comunidades costeras y parte de la población ribereña a los lagos del altiplano consumen pescado con cierta frecuencia, aunque, como lo han demostrado diversas encuestas, lo hacen en forma irregular y en cantidades limitadas.

La Ciudad de México absorbe la mayor parte de los productos del mar comercializables, habitualmente para la mesa de los sectores de alto ingreso y sólo esporádicamente son incluidos en la dieta popular.

La explotación pesquera no ha sido diversificada, pues de 200 especies existentes con posibilidades comerciales, sólo se explotan 30 especies, de las cuales el 80% son comestibles y el 20% industriales.

Según las investigaciones realizadas por Ramírez, et al. (1978), la sardina crinuda, la anchoveta, el tiburón, la mo

jarra tilapia y la carpa común, son las especies que más pueden tomarse en cuenta para un programa de mejoramiento nutricional, ya que la calidad nutricional de la anchoveta es alta (Calorías 310.0; Proteínas 20.6; Grasas 24.4; en valores de 100 gramos de peso neto, según las Tablas de valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. División de Nutrición del I.N.N., México (1976).

La anchoveta casi en su totalidad se utiliza como materia prima para la elaboración de harina de pescado. También se usa como carnada en la pesca del atún. Además se enlata en pequeñas cantidades y sale al mercado con el nombre de sardina. La empresa que enlata más anchoveta es "Empacadora Mar", ubicada en Ensenada, Baja California. Se consume en mínima parte en el D.F. en estado fresco y en algunos casos seco, cuando el charal escasea y los comerciantes la expenden como tal.

Algunos investigadores de la F.A.O. calculan que la captura de anchoveta podría aumentarse hasta dos millones de toneladas por año sin agotar el recurso, aunque la recomendación de algunos científicos de Estados Unidos es comenzar por efectuar una captura anual de 400 000 toneladas, de las cuales 200 000 deben capturarse al norte de los 31° de latitud norte (al norte del Cabo Calmett), y las otras 200 000 al sur de esta latitud. Esto significa que de las 200 000 correspondientes al Norte del Cabo Calmett, México puede capturar más de la mitad y

de las otras 200 000 las debe aprovechar íntegramente.

Vrooman, Paloma y Zweifel (1981), estudiaron la estructura poblacional de la anchoveta del norte encontrada entre el sur de Baja California y Newport, Oregón. Usaron métodos electroforéticos en transferrinas donde encontraron un polimorfismo originado en el sistema genético de 4 alelos autosómicos co-dominantes. Se infirieron las diferencias y semejanzas de las subpoblaciones, en base a la distribución fenotípica observada en las poblaciones norte-central y central-sureña.

Otro de los métodos empleados por ellos fue el morfométrico, donde se midieron el largo de la cabeza, diámetro del ojo, del hocico al margen postorbital, depresión de la cabeza y la depresión del cuerpo.

También llevaron a cabo estudios morfológicos, y encontraron que las anchovetas del sur fueron significativamente más pequeñas. Contaron las vertebras, rayos de la aleta anal y rayos de la aleta dorsal.

Grant (1984), utilizando los marcadores bioquímicos heredados, estimó la cantidad de aislamiento genético entre anchovetas de Namibia y Sudafrica, Engraulis capensis, las cuales parecen estar separadas en su estado larvario por una barrera de bajas temperaturas en la superficie del agua. Estudió la frecuencia alelica de 10 proteínas polimórficas para inferir la can-

tividad de aislamiento reproductivo entre las dos principales áreas de desove de estos organismos, y lo realizó por medio de electroforesis horizontal en gel de almidón.

Morgan y Ulanowicz (1976), separaron las proteínas del músculo de Menidia menidia, sobre geles de acrilamida al 8%, encontrando tres fenotipos, en base a dos alelos autosómicos codominantes.

Munilla y Matallanas (1979), estudiaron las proteínas musculares de seis especies de Raja, utilizando electroforesis de disco cuyo soporte fue un polímero de acrilamida y bisacrilamida. Y observaron que cada una de las especies estudiadas posee un electroferograma y una curva densitométrica características y diferentes de los de las demás especies.

En un estudio de las proteínas musculares de 27 especies del Océano Pacífico de Sebastes (Johnson, et.al., 1972), se identificaron 14 diferentes grupos bioquímicos, basándose en proteínas musculares no específicas y cinco sistemas enzimáticos. Ningún grupo tuvo más que 4 especies, y 10 especies tuvieron perfiles bioquímicos únicos. Estos criterios bioquímicos tienen un considerable potencial práctico en estas especies por su importancia económica y el hecho de que algunas especies únicamente pueden ser distinguidas por los expertos. Accidental o intencionalmente este error puede ser minimizado a través de

pruebas de rutina con muestras de músculo obtenidas de fuentes comerciales.

Tsuyuki y colaboradores (1965), estudiarón los mioge- nos del músculo de aproximadamente 50 especies de peces, repre- sentando especímenes de tres (Elasmobranchii, Holocephali, Teleostomi) de las cuatro clases vivientes de la superclase Gnathostomata. Estos estudios fueron realizados por medio de electroforesis de zona en gel de almidón.

Parece ser más útil para obtener información filoge- nética, un grupo de proteínas del músculo solubles en solucio- nes salinas de baja fuerza iónica. Los patrones del miógeno del músculo mostraron un alto grado de especificidad de las es- pecies cuando se separaron por electroforesis en gel de almidón (Thompson, 1960; Giles, 1962; Tsuyuki, et. al., 1962 y Roberts, 1963).

Después de la introducción de la cromatografía en pa- pel, se hicieron intentos para mejorar la separación de substan- cias iónicas por la aplicación de un campo eléctrico y esto nos lleva al desarrollo de la electroforesis en papel.

Existen diferentes formas de electroforesis también llamada ionofóresis, y son útiles para el análisis y separación de mezclas de proteínas. El prototipo de los métodos modernos,

fue desarrollado por A. Tiselius en Suecia en los 1930s.

La electroforesis es un método muy poderoso para separar macromoléculas que tienen grupos cargados. Especialmente en la química de las proteínas, las diferentes formas de electroforesis son de gran valor para analizar mezclas proteicas, y para trabajos preparativos. Para evitar la desnaturalización, estos corrimientos electroforéticos son principalmente llevados a cabo en bajos voltajes y frecuentemente en frío.

Las substancias separadas aparecen como una serie de bandas, cuya distancia del origen depende de la carga ión, su movilidad en el campo aplicado (y así sobre el voltaje y la corriente aplicada) y el pH del buffer.

Cuando se hacen pasar proteínas de la sangre o extractos de otros tejidos o de organismos completos a un medio que actúa como soporte (por ejemplo, una plancha de almidón o de gel de acrilamida) bajo la influencia de un campo eléctrico, las diferencias en la carga electrostática neta están reflejadas en las distintas movilidades. Después de la electroforesis, las posiciones de los enzimas específicos, pueden demostrarse mediante tinciones histoquímicas específicas aplicadas directamente al medio electroforético. Los fenotipos resultantes son bandas de colorante que indican regiones de actividad enzimática o de concentración proteínica para las que se ha propuesto reciente-

mente la denominación de electromorfos (King y Ohta, 1975).

Hay varios medios de soporte entre ellos, el acetato de celulosa, el agar, los geles de almidón, de sílice y de poliacrilamida.

El gel de poliacrilamida posee muchas ventajas, entre las cuales se encuentran: La fácil preparación e inercia relativa de los componenetes del gel; es un polimero sintético: puede ser preparado mediante reactivos altamente puros; es reproducible; las condiciones de polimerización son standard, y estables dentro de un amplio rango de pH, temperatura y fuerza ióninica; es transparente; sin embargo su mayor ventaja estriba en que puede variarse el tamaño del poro de acuerdo a la concentración de acrilamida y bisacrilamida; es una técnica sencilla; y el tiempo para el desarrollo del experimento es menor.

La electroforesis puede ser combinada con la immunodifusión para dar immunoelectroforesis. Este método tiene gran poder de resolución para mezclas de proteínas.

La electroforesis ha sido usada extensivamente para distinguir poblaciones discretas de peces de agua dulce y de agua salada (Utter, et. al., 1971). Poblaciones aparentemente idénticas de peces pueden ser separadas por esta técnica en unidades genéticamente distintas, basadas en las diferentes frecuencias alélicas de sus loci genéticos.

Los datos resultantes de estos estudios sobre la estructura comparativa de las proteínas deben interpretarse en función de los cambios en la economía fisiológica y en la biología total del organismo, es decir, su adaptación con respecto a su medio ambiente interno y externo. Pueden persistir los cambios en el genome de un organismo y extenderse a través de las especies solo cuando haya un valor de supervivencia en aumento; los cambios que producen un valor de supervivencia equivalente solo pueden difundirse si van unidos a un cambio ventajoso, mientras que aquellos que disminuyen el valor de la supervivencia se eliminarán en la competencia por un nicho ecológico dado.

OBJETIVO

El presente trabajo constituye la primera fase de un proyecto que pretende comparar electroforéticamente las poblaciones sureña y central de la anchoveta, Engraulis mordax.

En esta fase se ha buscado la caracterización de la población central colectada en la zona de Baja California Norte, utilizando técnicas electroforéticas en el suero total de músculo. Se colectaron en diferentes épocas del año, a fin de evitar posible variación estacional.

Estos estudios son un antecedente necesario para la comparación con los de poblaciones de la anchoveta sureña, resultando herramientas útiles en el estudio de este importante recurso pesquero de los mares de México.

MATERIAL Y METODO

Los ejemplares de anchoveta Engraulis mordax que se utilizaron para la realización de este trabajo, pertenecen a la subpoblación central.

Las primeras muestras fueron capturadas por el barco "Libertador del Sur", a 12 millas al este de Ensenada, a una profundidad de 30 cm., el día 24 de agosto de 1984.

Con ayuda del personal de la Escuela de Ciencias Marinas de Ensenada, Baja California, se obtuvieron las demás muestras, las cuales fueron capturadas el 10 de febrero de 1986 por pescadores de la región.

Se congelaron los organismos con hielo seco, y se trasladaron en avión al D. F., al laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, de la UNAM, donde se guardaron en refrigeración a una temperatura de -9°C , hasta que fueron estudiados.

a) Preparación del suero de músculo.

La técnica para la obtención de la muestra fue toma-

da de Lundstrom (1979) con modificaciones de Arreguín (comunicación personal, 1984). Se retiraron las escamas y la piel de la porción latero-posterior del animal, cortando 0.6 gr. del músculo. Este se llevó a un homogenizador manual en un volumen de 5 ml. de agua destilada y desionizada. Ya homogenizado, se centrifugó a 1900 rpm durante 5min., con el fin de eliminar grasas o partículas de músculo que no se hubieran homogenizado. El sobrenadante fue filtrado con Whatman del No. 1 y una cama de Celite. Posteriormente, se dializaron en el Instituto de Química de la UNAM. La diálisis se realizó en Spectrapore Membrane tubing con un diámetro del poro de 6,000-8,000, contra agua destilada, aproximadamente durante 6 hrs. y luego se liofilizaron de 12 a 14 horas.

Una vez liofilizadas las muestras, se pesaron y guardaron en frascos dentro del congelador a una temperatura de -9°C .

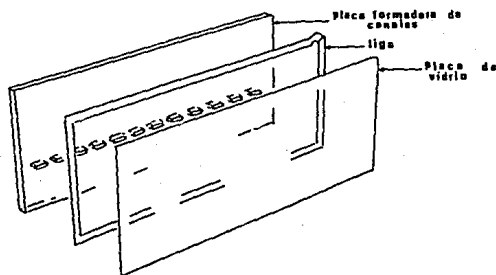
Todo el procedimiento anterior, se efectuó en frío para evitar la desnaturalización de las proteínas.

También se midió la absorbancia a 280, con lámpara de deuterio, de algunas muestras para poder obtener el coeficiente de extinción y su concentración más adecuada de las mismas, a fin de estandarizar la cantidad de proteína aplicada en cada uno de los corrimientos.

b) Preparación de los geles.

Para la separación proteica se emplearon como medio de soporte geles de poliacrilamida a una concentración del 10%, según la técnica de Fehrström y Moberg (1977).

El montaje de los geles se llevó a cabo de la manera siguiente: Se utilizó una placa de plástico formadora de canales que se rodeó de una liga de dos milímetros de grosor y sobre de ésta se colocó una placa de vidrio, prensándose con unas pinzas, dejándose libre una abertura en donde con una jeringa se introduce la poliacrilamida. (Fig. 3)



MONTAJE DEL GEL

Fig N°3

La elaboración de los geles se hizo siguiendo también la técnica de Fehrström y Moberg (1977), constituidos de:

Solución amortiguadora Tris-Glicina pH 8.9	33.0 ml.
Solución de poliacrilamida	29.6 ml.
Se aplicó un vacío de 15 segundos.	
Presulfato de Amonio	3.2 ml.
TEMED	0.1 ml.
Nuevamente, se aplicó un vacío de 15 segundos.	

La solución de poliacrilamida, se preparó de la siguiente manera:

22.2 gr. de acrilamida, especialmente purificada para electroforesis.

0.6 gr. de bisacrilamida.

Se llevó a 100 ml. de agua destilada. La solución se filtró con Whatman del No. 1, y se guardó en un frasco obscuro a 4°C.

Esta solución debe manejarse con mucho cuidado, debido a que es altamente tóxica.

c) Soluciones amortiguadoras.

Se utilizarán para los electrodos dos diferentes tipos de soluciones amortiguadoras, sugeridas por Sullivan y Uribe (1981). En el cátodo, un amortiguador de Tris-Glicina con un pH de 8.9, que consta de 6.32 gr. de Tris y 3.94 de Glicina para 1000 ml. de agua destilada y desionizada. Para el ánodo, la so-

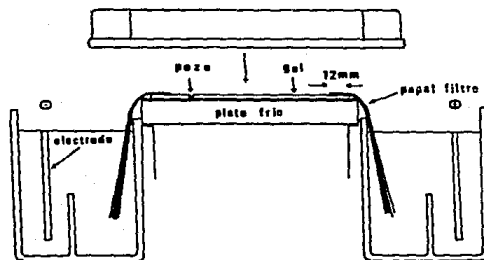
lución amortiguadora fue de Tris-HCL, el cual se obtuvo de mezclar 12.1 gr. de Tris y 50 ml. de HCL 1N para 1000 ml. de agua destilada y desionizada, para un pH de 8.1.

d) Técnica electroforética.

El tipo de electroforesis que se aplicó en este estudio fue, la electroforesis convencional en geles de poliacrilamida, según la técnica de Fehrström y Moberg (1977).

Para la realización de este trabajo, se emplearon los siguientes aparatos: Una cuba modelo Multipor horizontal 2117 LKB Broma, conectada a una fuente de poder 2103 y a un Multitemperatura también LKB.

Se coloca sobre el plato frío de la cuba electroforética el gel, y a sus lados se pone papel filtro, el cual debe estar en contacto con las soluciones amortiguadoras y bien adherido al gel, para obtener un voltaje uniforme. (Fig.4)



CUBA ELECTROFORETICA

FIG. N° 4

Se corrió un total de 8 geles, en las siguientes condiciones: La temperatura que se empleó para el corrimiento fue de 9°C. Primeramente se hizo una preelectroforesis con una duración de 30 min. a 22 V, 400 mA y 280 W, con el fin de que el gel se impregne de las soluciones amortiguadoras y se limpie de impurezas. Después de este tiempo se aplicaron con una micropipeta 10 μ l. de las muestras, 8 por cada gel. Cada una de éstas tuvo su respectiva repetición. Se colocó en uno de los pozos azul de bromofenol como indicador frontal de la electroforesis y una proteína patrón, que en este caso fue albúmina a una concentración de 10,000 μ g/ml. y se llevó a cabo una preelectroforesis con la muestra de 10 min. con el objeto de que estas se compacten en una zona, corriéndose a 222 V, 280 W y 450 mA, durante 1 hr.

Una vez terminada la electroforesis, se midió el tamaño del gel, así como la distancia de migración del colorante. El gel fue introducido durante 1 hr. a una solución fijadora formada de ácido tricloroacético, ácido sulfosalicílico, metanol y agua destilada y desionizada. Posteriormente se sumergió por una hora, en una solución de Coomassie Blue, con el fin de teñir el gel. Se retiró el exceso de colorante con una solución desfijadora (etanol, ácido acético y agua destilada y desionizada) aproximadamente 12 hrs. y se dejó 1 hr. en una solución preservadora de etanol, ácido acético, glicerol y agua destilada y des-

ionizada. Pasado este tiempo se colocó una mica sobre la placa del gel para la conservación de la misma. Se midió nuevamente el tamaño del gel y la distancia de migración de cada una de las bandas, incluyendo la migración de la proteína patrón, para cálculos posteriores.

Todos los geles fueron fotografiados con una cámara Reflex y un rollo Kodak Technical Pan Film.

Algunos geles fueron leídos en un aparato densitométrico LKB 2202 Ultro Scan con rayo laser, con el fin de obtener una apreciación más exacta de los resultados.

RESULTADOS

De los 8 geles que se corrieron, 4 correspondieron a muestras colectadas durante la temporada de verano de 1984, con un total de 32 muestras; mientras que los otros 4 geles correspondieron al invierno de 1986, también con un total de 32 muestras.

Se calculó la movilidad relativa de cada una de las bandas, dividiendo la distancia de migración de cada banda, entre el tamaño del gel después del secado. Este resultado, se multiplicó por el cociente del tamaño del gel antes de fijarlo entre la distancia de migración del colorante.

$$M.R. = \frac{\text{dist. migración prot.}}{\text{tamaño gel desp. sec.}} \times \frac{\text{tamaño gel antes fij.}}{\text{dist. migración col.}}$$

Las Tablas 1 y 2, muestran un predominio de 12 bandas en los patrones electroforéticos del suero total de músculo.

MOVILIDAD RELATIVA

Nº DE BANDAS ORGANIS BAN-PTS DA N°	12	12	12	12	11	12	11	11	10	MOVILIDAD RELATIVA PROMEDIO
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	
1	0.744	0.758	0.741	0.721	0.753	0.758	0.746	0.750		0.746
2	0.524	0.526	0.542	0.540	0.523	0.563	0.533	0.547	0.523	0.536
3	0.461	0.468	0.457	0.484	0.464	0.463	0.462	0.439	0.466	0.463
4	0.364	0.376	0.374	0.381	0.361	0.377	0.390	0.373	0.393	0.377
5	9.298	0.309	0.312	0.316	0.304	0.295	0.290	0.289	0.293	0.301
6	0.238	0.240	0.248	0.250	0.243	0.246	0.245	0.239	0.247	0.244
7	0.194	0.202	0.213	0.215	0.190	0.203			0.209	0.204
8	0.162	0.163	0.153	0.156	0.163	0.150	0.164	0.155	0.163	0.159
9	0.125	0.127	0.118	0.126	0.132	0.113	0.128	0.118	0.110	0.122
10	0.091	0.087	0.084	0.085	0.088	0.090	0.088	0.093	0.084	0.088
11	0.063	0.056	0.059	0.045		0.068	0.063	0.066		0.060
12	0.036	0.036	0.036	0.028	0.039	0.038	0.035	0.023	0.038	0.035

MOVILIDAD RELATIVA

N° DE BANDAS ORGANIS BANDA	12	10	12	10	11	12	12	11	12	MOVILIDAD RELATIVA PROMEDIO.
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	
1	0.758		0.751	0.744		0.754	0.744	0.758	0.749	0.751
2	0.542	0.535	0.533	0.530	0.528	0.523	0.525	0.535	0.538	0.532
3	0.468	0.468	0.456	0.456	0.462	0.459	0.452	0.461	0.460	0.460
4	0.379	0.386	0.383	0.375	0.379	0.379	0.364	0.386	0.384	0.379
5	0.295	0.305	0.302	0.301	0.307	0.304	0.298	0.305	0.306	0.303
6	0.240	0.253	0.250	0.249	0.254	0.245	0.249	0.253	0.251	0.249
7	0.211	0.215	0.213	0.213	0.204	0.197	0.198	0.215	0.213	0.209
8	0.161	0.163	0.162		0.160	0.157	0.160	0.163	0.164	0.161
9	0.122	0.126	0.125	0.118	0.124	0.125	0.126	0.120	0.118	0.123
10	0.087		0.093	0.090	0.093	0.095	0.092	0.089	0.088	0.091
11	0.059	0.067	0.066	0.066	0.053	0.066	0.066	0.067	0.048	0.062
12	0.020	0.037	0.034		0.036	0.028	0.036		0.037	0.033

La Tabla 3, muestra la frecuencia total de cada banda, en las muestras obtenidas para la temporada de 1984, partiendo de la zona más rápida a la más lenta.

Banda	Frecuencia
No.	Total
1	88.8%
2	100.0%
3	100.0%
4	100.0%
5	100.0%
6	100.0%
7	77.7%
8	100.0%
9	100.0%
10	100.0%
11	77.7%
12	100.0%

Tabla 3

La Tabla 4, muestra la frecuencia total de cada banda, en las muestras colectadas para la temporada de 1986, partiendo de la zona más rápida a la más lenta.

Banda	Frecuencia
No.	Total
1	77.7%
2	100.0%
3	100.0%
4	100.0%
5	100.0%
6	100.0%
7	100.0%
8	88.8%
9	100.0%
10	88.8%
11	100.0%
12	77.7%

Tabla 4

La Tabla 3, nos muestra que las bandas de la 2 a la 6; de la banda 8 a la 10; y la banda 12, aparecen con una frecuencia del 100 %.

En donde:

La banda 12 es muy delgada y muy tenue.

Las bandas 9 y 10 son delgadas e intensas.

Las bandas 2 y 5 son anchas y muy tenues.

Las bandas 3 y 6 son anchas y tenues.

La banda 8 es ancha y muy intensa.

La banda 4 es muy ancha e intensa.

(Figura 5)

En la Tabla 4, se puede observar, que en la temporada de 1986 se encontró; de la banda 2 a la 7 se presentaron con una frecuencia del 100 %, al igual que las bandas 9 y 11.

En donde:

La banda 7 es delgada y tenue.

Las bandas 9 y 11 son delgadas e intensas.

La banda 5 es ancha y muy tenue.

La banda 2 es ancha y tenue.

La banda 3 es ancha e intensa.

La banda 6 es ancha y muy intensa.

La banda 4 es muy ancha y muy intensa.

(Figura 7)

ELECTROFEROGRAMA
VERANO 1984

— 50mm



— 40



— 30



— 20



— 10



FIGURA N°5

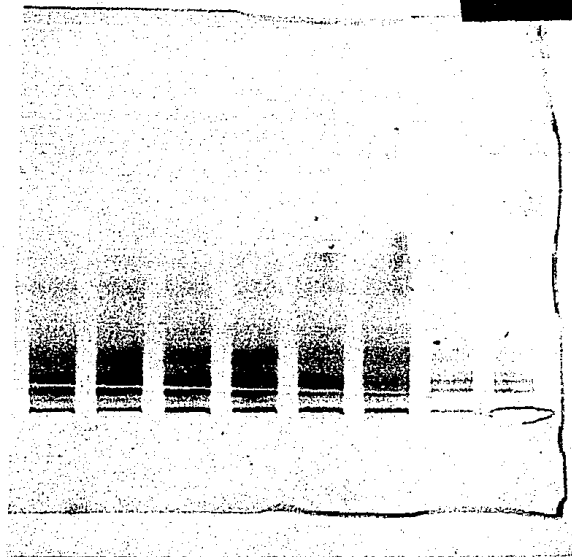


FIGURA N° 6

FOTOGRAFIA DE LAS MUESTRAS
CORRIDAS PARA EL VERANO 1984

ELECTROFEROGRAMA
INVIERNO 1986



— 50mm

— 40



— 30



— 20



— 10



← origen

FIGURA N°7

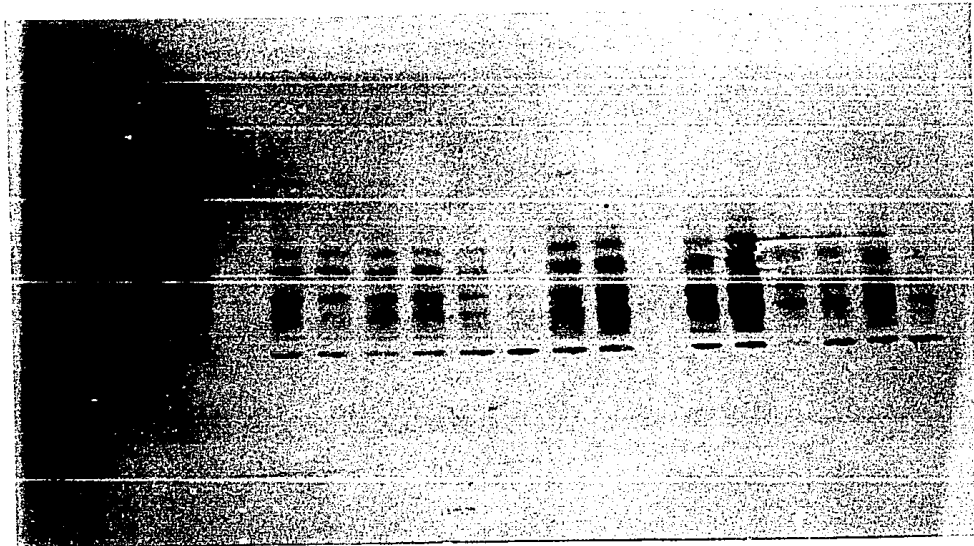


FIGURA N° 8

FOTOGRAFIA DE LAS MUESTRAS
CORRIDAS PARA EL INVIERNO 1986

Con respecto a la proteína patrón. Que fue, albúmina de bovino a una concentración de 10,000 μ /ml. encontramos que su movilidad relativa es de 0.511, siendo su peso molecular de dicha proteína de 69,000.

A fin de obtener el coeficiente de extinción, que es útil para conocer la concentración más adecuada de muestra que se debe colocar para cada corrimiento, se tomaron 10 mg., de una de las muestras, ya dializada y liofilizada, y se diluyeron en 10 ml. de agua destilada para hacer una solución stock a partir de la cual se hicieron diluciones. A cada una de ellas, que se muestran en la Tabla 5, se midió su absorvancia a 280, y se obtuvieron los resultados.

Tabla 5: Absorvancia y concentración para diferentes diluciones.

Volúmen muestra	Volúmen agua destilada	Volúmen total	Absorvancia 280	Concentración.
0.05 ml.	2.45 ml.	2.5 ml.	0.021	0.02 mg/ml.
0.10 ml.	2.40 ml.	2.5 ml.	0.080	0.04 mg/ml.
0.20 ml.	2.30 ml.	2.5 ml.	0.132	0.08 mg/ml.
0.30 ml.	2.20 ml.	2.5 ml.	0.206	0.12 mg/ml.
0.50 ml.	2.00 ml.	2.5 ml.	0.287	0.20 mg/ml.
0.70 ml.	1.80 ml.	2.5 ml.	0.442	0.28 mg/ml.
1.00 ml.	1.50 ml.	2.5 ml.	0.618	0.40 mg/ml.
2.5 ml.	0.00 ml.	2.5 ml.	1.480	1.00 mg/ml.

La ley de Beer y Lambert, establece que la extinción es proporcional a la concentración de la sustancia absorbente y al espesor de la capa.

$$A = e c d$$

donde:

A es la absorvancia.

e es el coeficiente de extinción.

c es la concentración de la sustancia absorbente.

d es el espesor de la celdilla, la cual es igual a 1.

Tabla 6: Relación entre absorvancia 280 y concentración para la obtención de los coeficientes de extinción.

Absorvancia	Concentración	Coefficiente extinción
0.021	0.02 mg/ml.	1.05
0.080	0.04 mg/ml.	2.00
0.132	0.08 mg/ml.	1.65
0.206	0.12 mg/ml.	1.71
0.287	0.20 mg/ml.	1.43
0.442	0.28 mg/ml.	1.57
0.618	0.40 mg/ml.	1.54
1.480	1.0 mg/ml.	1.48

De la tabla 6, obtenemos la sumatoria del coeficiente de extinción, el cual es 12.43. por lo tanto la media del coeficiente de extinción es:

$$\bar{x}_e = 1.55$$

En un sistema de coordenadas rectangulares, el conjunto resultante de puntos es algunas veces denominado diagrama de dispersión.

El problema general de hallar ecuaciones de curvas de aproximación que se ajusten a datos dados se llama, curva de ajuste.

Uno de los propósitos principales de la curva de ajuste es el de estimar una de las variables (la variable dependiente) de la otra (la variable independiente), el proceso de estimación se reconoce como regresión. Si "y" se va a estimar a partir de "x" por medio de alguna ecuación, la llamamos ecuación de regresión de y sobre x.

Partiendo de la ecuación de la recta:

$$Y = mX + b$$

Donde las constantes m y b se obtienen solucionando las ecuaciones.

$$m = \frac{N(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{(\sum y)(\sum x^2) - (\sum x)(\sum xy)}{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

X	Y	XY	X ²	
0.02	0.021	0.00042	0.0004	
0.04	0.080	0.03200	0.0016	
0.08	0.132	0.01056	0.0064	
0.12	0.206	0.02472	0.0144	
0.20	0.287	0.05740	0.0400	
0.28	0.442	0.12376	0.0784	
0.40	0.618	0.24720	0.1600	
1.00	1.48	1.4800	1.0000	
$\bar{X} = 2.14$	$\bar{Y} = 3.266$	$\bar{XY} = 1.94726$	$\bar{X}^2 = 1.3012$	$(\bar{X})^2 = 4.5796$

Tabla 7: datos para la obtención de la pendiente y ordenada al origen.

Sustituyendo los valores de la Tabla 7 en las ecuaciones anteriores, obtenemos:

$$m = \frac{(1.94726) 8 - (2.14) (3.266)}{8 (1.3012) - (4.5796)}$$

$$m = 1.4732075$$

$$b = \frac{(3.266) (1.3012) - (2.14) (1.94726)}{8 (1.3012) - (4.5796)}$$

$$b = 0.0141651$$

Sustituyendo, los valores de m y b en la ecuación de la recta, tenemos:

$$y = (1.4732075) x + 0.0141651$$

Si $x = 0.2$, entonces;

$$y = (1.4732075) (0.2) + 0.0141651$$

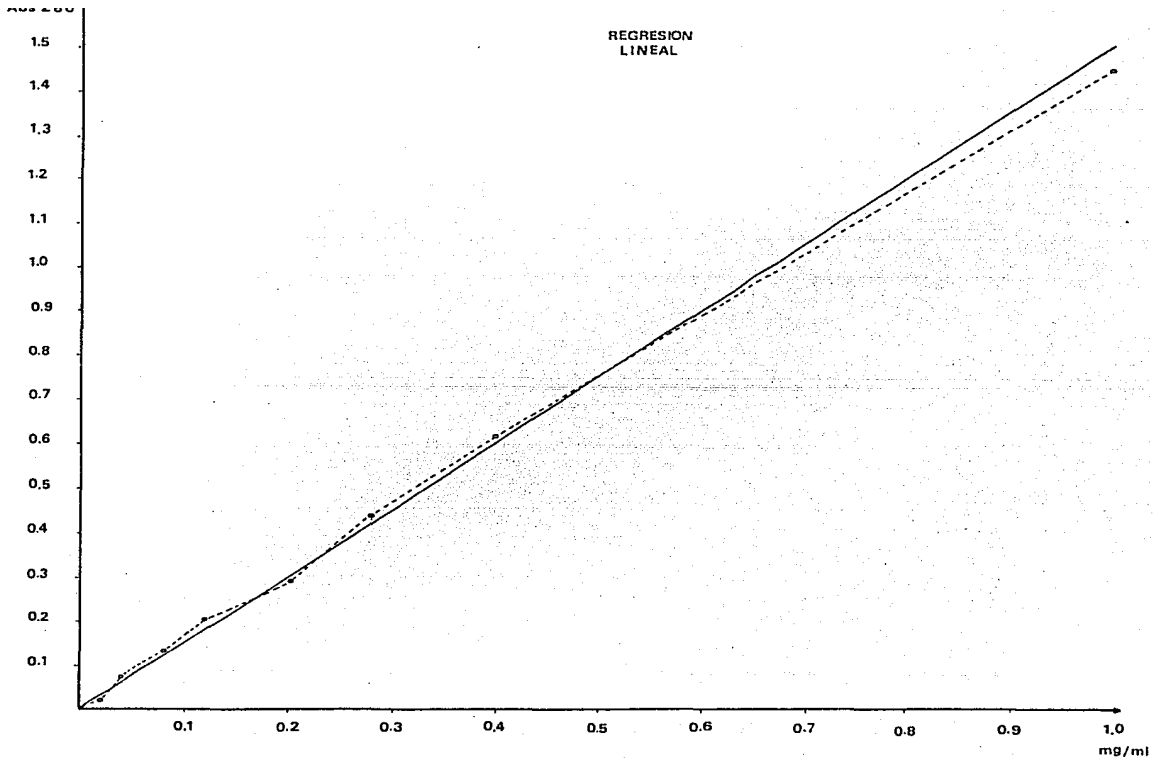
$$y = 0.3088066$$

Si $x = 0.5$, entonces;

$$y = (1.4732075) (0.5) + 0.0141651$$

$$y = 0.7507689$$

Datos que ajustan la curva, ver grafica 1.

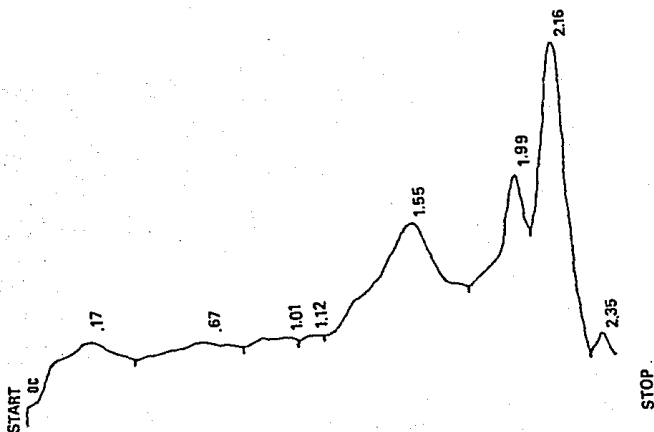


Con el fin de corroborar los resultados ya obtenidos, se hizo un breve estudio densitométrico.

Podemos mencionar que dentro de las ventajas que tiene este estudio se encuentran la agilización del trabajo y una mayor exactitud, ya que el aparato realiza en minutos la lectura de los electroferogramas dandonos la intensidad, posición, y área de cada una de las bandas.

A continuación anexamos las gráficas densitométricas de ambos muestreos.

GRAFICA DENSITOMETRICA
VERANO 1984



Pk Wd = 0.16

Abs. = 1.0

Noviembre 6, 1985

Area %

Rt	Area	Type	Ar/Ht	Area %
0.17	3622700	BV	0.268	5.560
0.67	4822500	VV	0.371	7.401
1.01	3099300	VV	0.219	4.756
1.12	1396600	VV	0.094	2.143
1.55	2.1432E+07	VV	0.405	32.891
1.99	1.2495E+07	VH	0.179	19.177
2.16	1.7628E+07	ISSHH	0.151	27.054
2.35	663060	ITBB	0.069	1.018

Total Area = 6.5160E+07

INTENSITY DATA of
 ANCHOVET02 ENSENADA GEL 17-G CARRIL 12 PAG.42

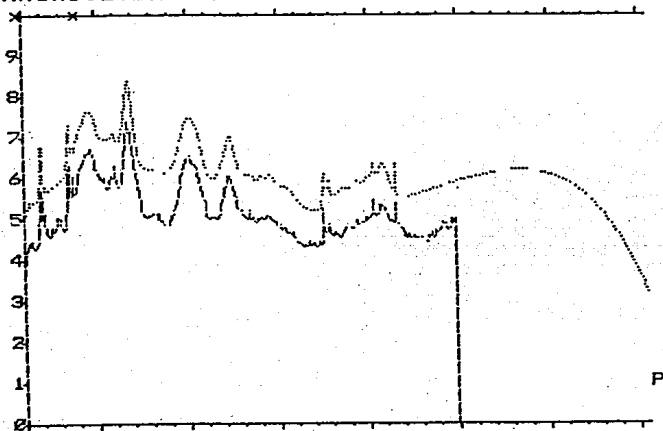
Date : 9-Jul-86
 (Scale = 5, AbsR. = 1.0)

Peak n	Pos- tion	Intensity * 1.000	Intensity %	Peak n	Pos- tion	Intensity * 1.000	Intensity %
1	22.6	6.1	0.5	14	47.1	21.5	1.8
2	23.9	28.1	2.3	15	48.0	27.1	2.2
3	26.9	24.7	2.0	16	49.0	33.4	2.8
4	28.2	64.9	5.4	17	50.7	68.0	5.6
5	29.5	106.9	8.8	18	55.1	20.9	1.7
6	31.0	21.5	1.8	19	55.7	13.4	1.1
7	31.9	30.6	2.5	20	57.3	70.7	5.8
8	33.6	146.0	12.1	21	59.1	35.7	3.0
9	40.1	159.9	13.2	22	60.0	17.3	1.4
10	41.3	33.6	2.8	23	60.6	16.5	1.4
11	43.8	43.1	3.6	24	61.7	86.9	7.2
12	44.7	103.0	8.5	25	63.2	7.0	0.6
13	46.3	23.3	1.9				

Total Intens. 1210.0 = 100.0 %

INTENSITY PROFILE of
 ANCHOVET02 ENSENADA GEL 17-G CARRIL 12 PAG.42
 ANCHOVET02

Date : 9-Jul-86
 (meas., Scale = 5, AbsR. = 1.0)
 (dotted, calc., Scale = 5, AbsR. = 1.0)



70 80 90 100 110
 INTENSITY DATA of
 ANCHOVET02 (Scale = 5, AbsRange = 1.0)

ANCHOVET02

INTENSITY DATA of
ANCHOVETØ3 ENSENADA GEL 17-G CARRIL 14 PAG.42

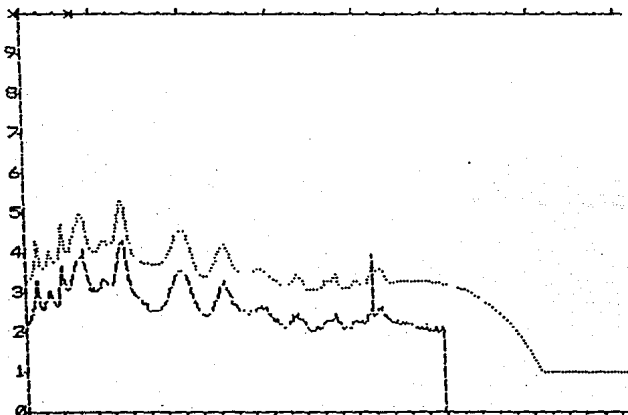
Date : 9-Jul-86
 (Scale = 10, AbsR. = 1.0)

Peak Rt	Pos- tion	Intensity * 1.000	Intensity %	Peak Rt	Pos- tion	Intensity * 1.000	Intensity %
1	23.3	46.9	3.3	12	48.6	126.9	9.0
2	24.7	19.6	1.4	13	48.6	0.4	0.0
3	26.1	48.5	3.4	14	50.2	100.8	7.1
4	27.5	43.2	3.1	15	52.8	36.2	2.6
5	28.5	128.5	9.1	16	53.7	8.9	0.6
6	31.0	37.8	2.7	17	56.4	16.5	1.2
7	33.1	202.7	14.3	18	57.4	28.3	2.0
8	39.2	154.8	11.0	19	59.8	12.9	0.9
9	40.5	106.0	7.5	20	61.8	40.3	2.8
10	44.5	202.0	14.3	21	62.8	32.3	2.3
11	46.3	19.9	1.4				

Total Intens. 1413.4 = 100.0 %

INTENSITY PROFILE of
ANCHOVETØ3 ENSENADA GEL 17-G CARRIL 14 PAG.42
ANCHOVETØ3

Date : 9-Jul-86
 (meas., Scale = 10, AbsR. = 1.0)
 (dotted, calc., Scale = 10, AbsR. = 1.0)



DISCUSION

El método de análisis utilizado fue seleccionado, ya que una vez que se ha preparado un gel, se le puede emplear para el análisis en paralelo de varias muestras. El análisis en sí, hasta la etapa en que el patrón de bandas separadas y luego teñidas se hace visible, se puede llevar a cabo en menos de cuatro horas. Los geles de acrilamida permiten separar y hacer claramente visibles cantidades de proteínas extremadamente pequeñas (10 a 50 μ g). Este método es razonablemente rápido y puede llevarse a cabo en cantidades de material del orden de 10^{-4} g. El aparato que se requiere es de mediana complejidad. Generalmente no es necesaria una especialización específica cuando se utilizó este método, aún cuando se pueden obtener resultados óptimos en menor tiempo si se cuenta con cierta experiencia. Afortunadamente, al menos cuando se trata de proteínas, las interacciones tales como la adsorción en el gel son raras, así que se pueden separar con éxito mezclas de toda clase de proteínas, incluyendo histonas y nucleoproteínas.

Los geles de poliacrilamida, fueron escogidos porque

se ha visto que mezclas complejas de proteínas generalmente se separan en un número de zonas o bandas bien definidas, lo cual nos permite obtener datos más exactos. También por el hecho de que se puede variar la concentración del gel, lo cual nos va a dar una gran gama de posibilidades, para conseguir mejores resultados.

El análisis de los electroferogramas se hizo de acuerdo a la presencia o ausencia de las bandas, a su movilidad relativa y a la distancia de migración de las mismas.

Las pequeñas diferencias que podemos encontrar en las movilidades relativas (Tabla 1 y 2), pueden ser debido a varios factores como fueron: que la población muestreada en verano de 1984, abarcaba organismos de talla pequeña (7 a 10 cm.), mientras que los organismos capturados en invierno de 1986, tenían tallas que iban de los 12 a los 15 cm. aproximadamente; esto nos hace suponer que se trataba de organismos juveniles en el verano del 84, y que los de 1986 eran ya adultos.

Se observó que los organismos del invierno de 1986 presentaban una gran cantidad de grasa a diferencia de los del verano de 1984 que casi no tenían grasa, lo cual se comprobó en el momento de centrifugar.

Sin embargo, para este análisis deben considerarse va

riaciones tales como la contaminación de los reactivos, variaciones en la corriente eléctrica, errores en el método, así como problemas en la concentración de la muestra debido tanto al tamaño de los organismos, como a la cantidad de muestra que se aplicó en los pozos que no puede ser mayor de 10^4 l, como también el considerar el gran contenido de sales que presentan estos organismos, lo que puede hacer que haya variaciones en nuestros resultados.

Los resultados obtenidos de la proteína patrón empleada nos da una idea general del peso molecular de las proteínas que se presentan en el suero de músculo de estos organismos, ya que salvo las bandas 1 y 2, consideramos que las demás bandas deben tener un peso molecular mayor de 69,000.

Los datos densitométricos nos dieron una gran cantidad de picos, que atribuimos a la falta de desteñimiento de los geles, debido a la alta sensibilidad del equipo empleado que detecta hasta el mínimo exceso de colorante.

Uno de los problemas, de no poder ampliar los resultados densitométricos, es que el densitómetro de rayo laser se adquirió a finales de 1985, por lo que las muestras colectadas en 1984 ya no se podían trabajar con la certeza de que estuvieran en perfecto estado, por el tiempo transcurrido a la fecha, los resultados que se obtuvieron podrían no corresponder.

Se ha visto, al comparar las proteínas del suero total de músculo de la anchoveta, con las proteínas totales de músculo de otras especies, el alto valor proteico de está; por ejemplo, observando el valor nutricional de la sardina crinuda, presenta 19.7 de proteínas en 100 gramos de peso neto; la Tilapia tiene 19.2; la carpa común, 16.0; mientras que la anchoveta presenta un valor de 20.6, (Anónimo, 1979).

También se hizo una comparación del número de bandas, en el suero total de músculo de Engraulis mordax es de 12, mientras que en la Tilapia es de 8; y en diferentes especies de Raja va de 7 a 11.

Debemos tomar en cuenta que ha disminuído la proporción de hembras y en algunos meses del año predominan los machos, la estructura de edad no se mantiene y las altas temperaturas disminuyen el por ciento de los reproductores, esto aunado a la inconsistencia en los incrementos en las tasas de captura y a los cambios ambientales nos dan expectativas de recuperación no inmediatas.

La diferenciación genética global entre poblaciones puede estimarse razonablemente mediante el exámen de varias proteínas. Sin embargo, las fuentes potenciales de error deben re

conocerse. Una de las posibles fuentes de error es que los métodos electroforéticos toman como muestra solamente los genes estructurales que codifican enzimas y proteínas solubles. Otras clases de genes estructurales, así como los genes reguladores cuyos productos no son traducidos en proteínas, no pueden ser muestreados mediante electroforesis. Otra dificultad es que no todos los cambios en el ADN se registrarán en una movilidad proteínica alterada, debido a 1) la degeneración del código genético, 2) la sustitución de aminoácidos con carga eléctrica neta idéntica y 3) el número finito de movilidades de bandas distinguibles en un gel. Aunque no conocemos cuánta variación genética permanece sin detectar por las técnicas electroforéticas, los resultados obtenidos aportan solamente estimaciones mínimas de la diferenciación genética.

CONCLUSIONES

Podemos concluir que la importancia de la anchoveta ha ido incrementandose ya que en un futuro no muy lejano será uno de los productos alimenticios más importantes en el país, debido a que gradualmente ha ido sustituyendo a la sardina, por lo que es importante definir la biología y la cuantificación de cada una de las poblaciones, así como también el tratar de establecer un ritmo de captura más estable para evitar la extinción de las poblaciones nacionales.

Debido a que se vende en lata, el precio de las proteínas de la anchoveta es tan alto como las de otras fuentes de proteína animal, sin embargo debe tenerse presente que las capturas actuales no representan ni un 10% de la cantidad que esta pesquería puede soportar. Cuando tenga una mejor explotación dicho recurso, podrá abaratare su costo y repercutir en el precio final al consumidor.

Otra gran posibilidad de difundir el uso del pescado por la población mayoritaria está en el procesamiento de solo la carne del pescado a nivel de pesquerías, usando sistemas de

envasado y presentación más baratos que la lata. Es posible envasar anchovetas y otras especies en plásticos, tanto para pescados enteros como para la carne unicamente, ya sea entera, en pedazos o molida, esta última en embutidos, por ejemplo en productos del tipo chorizo. Todo ésto fabricado directamente en los puertos.

También concluimos que las muestras colectadas no presentarán variación estacional. Teniendo la completa seguridad, por su composición proteica, que ambas muestras pertenecen a la población central.

En todos los organismos encontramos que el suero total de músculo esta constituido de 12 bandas, teniendo las bandas 1 y 2 un peso molecular menor que el de la albúmina de bovino. El patrón electroforético encontrado nos da una base para poder establecer en otros trabajos una comparación con la población sureña.

Se encontró que el coeficiente de extinción para el suero total de músculo de Engraulis mordax es de 1.5, lo que permitirá conocer en estudios posteriores la concentración más adecuada a la que se debe trabajar para obtener resultados óptimos. O bien para conocer la concentración podemos apoyarnos en los datos que se obtuvieron a partir de la regresión lineal.

Sugerimos que se realicen trabajos de electroenfoque; o bien emplear en el sistema de electroforesis algún agente solubilizante, como el dodecilsulfato sódico (SDS), el cual permite que las proteínas se hagan más hidrofílicas, y ayude al afilamiento de la banda en la superficie del gel; el buscar la manera de secar o conservar los geles el mayor tiempo posible; el profundizar en los estudios densitométricos; así como el estudio de otros sistemas, como son, hemoglobinas, transferrinas, parvoalbuminas, entre otros; el manejo de otras proteínas patrón, con el fin de poder llegar a establecer el peso molecular de cada una de las bandas, y de esta manera ampliar un poco más el conocimiento de estos organismos de importancia nacional.

REFERENCIAS

- Abrams, R.: Verbeke, R.:
Hoof, J. 1983 Fish species identification
by isoelectric focusing.
The use of schematic pat-
terns. *Ficischwirtsch*, 63
(9): 1459-1462.
- Alvarez del Villar, J. 1980 Los cordados. Edit. C.E.C.
S.A. México, 85-127.
- Anónimo. 1976 Catálogo de peces marinos
mexicanos. Subsecretaría de
Pesca. Instituto Nacional
de pesca. México, 69-155.
- Anónimo. 1979 Secretaría de Programación
y Presupuesto. Manuales de
información básica de la na-
ción. México, 461 pp.
- Anónimo. 1984 Síntesis geográfica de Baja
California, 1984. Instituto
Nacional de Estadística, Ge-
ografía e Informática.
México, 113 pp.
- Ayala, F.J. 1980 Evolución Molecular. Edit.
Omega. Barcelona, 285 pp.

- Brewer, G. 1978 Reproduction and spawning of the northern anchovy, Engraulis mordax in San Pedro Bay California. Fish. Bull., USA, 64 (3): 175-184
- Bullini, L.: Sbordoni, V. 1980 Electrophoretic studies of gene-enzyme systems: micro-evolutionary processes and phylogenetic inference. Boll. Zool., 47: 95-112.
- Castellan, G. W. 1979 Fisicoquímica. Fondo Educativo Interamericano, S. A. México, 835 pp.
- Chávez, G. 1977 Elemento de oceanografía. Compañía Editorial Continental, S. A. México, 256 pp.
- Daly, J.C.: Richardson, B.J. 1980 Allozyme variation between populations of Baitfish species Stolephorus heterolobus and St. devisis (Pisces: Engraulidae) and Sprattelloides gracilis (Pisces: Cussumieriidae) from Papua New Guinea waters. Aust. J. Mar. Freshwater Res. 31:701-711.
- Djupsund, B.M. 1976 Proteintaxonomical studies of whitefish and tapeworms whit thin layer electrofocusing. Application Note 243. Finland, 7 pp.

- Escudero, M. 1984 Estudio de la pesquería de anchoveta (Engraulis mordax) en aguas mexicanas. Tesis Profesional. I.C.M. y L./ UNAM 93 pp.
- Fehrström, H.: Moberg, 1977 SDS and conventional polyacrilamide gel electrophoresis with LKB 2117 Multichor Application Note 306. Sweden, 15 pp.
- Ferguson, A. 1980 Biochemical systematics and evolution. Edit. Blackie & Son, LTD Glasgow and London 92-100.
- Gordon, H. 1975 Electroforesis de proteínas en geles de poliacrilamida y de almidón. Edit. Manual Moderno, S.A. México, 132pp
- Grant, W. S. 1984 Biochemical genetical stock structure of the Southern African anchovy, Engraulis capensis Gilchrist. Sea Fisheries Reserch Institute South Africa, 23-29.
- Hatfield, J.S.: Wissing, T.E.: Guttman, S.I.: Farrel, N.P. 1982 Electrophoretic analysis of Gizzard shad from the lower Mississippi River and Ohio. American Fisheries Society, USA, 742-748.

- Haugen, C.W.: Wickwire,
R.H.: Messersmith, J.D.
1969 Progres report on anchovy
tagging off California,
March 1966 through May 1966
Fish. Bull., USA (147): 75-
86.
- Hjalmarson, S. 1976 Use of LKB 2103 power sup-
ply in electrophoretic tech-
niques. Application Note
239 Sweden, 4 pp.
- Hunter, J. R. 1976 Culture and growth of nor-
thern anchovy, Engraulis
mordax, larvae. Fish. Bull.
USA Vol. 74 (2): 81-88
- Hunter, J. R.: Sánchez,
C. 1976 Diel changes in swim bladder
inflation of the larvae of
the northern anchovy, En-
graulis mordax. Fish. Bull.
USA Vol. 74 (4): 847-855.
- Hunter, J.R.: Macewicz,
B.J. 1985 Rates of atresia in the ova-
ry of captive and wild nor-
thern anchovy, Engraulis
mordax. Fish. Bull., USA
Vol. 83 (2) 119-136.
- Lagler, K.F.: Baradach,
J.E.: Miller, R.R.: May
Passino, D.R. 1984 Ictiología. AGT Editor,
S.A. México, 489 pp.
- Laguna, J. 1979 Bioquímica. Prensa Médica
Mexicana. México, 793-795

- Lehninger, A 1978 Biochemistry Worth Publishers, INC, USA, 1104 pp.
- Lo, N. C. 1985 Egg production of the central stock of northern anchovy, Engraulis mordax. 1951-82. Fish. Bull., USA, Vol. 83 (2): 137-150
- Lundstrom, R. C. 1979 Fish and other marine products. Fish species identification by thin layer isoelectric focusing. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Vol. 62 (3): 624-629.
- Lundstrom, R. C. 1981 Rapid fish species identification by agarose gel isoelectric focusing of sarcoplasmic proteins. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Vol. 64: 38-43
- Mac Gregor, J.S. 1968 Fecundity of the northern anchovy, Engraulis mordax Girard. Fish. Bull., USA. 54: 281-288
- Mais, K. F. 1974 Pelagic fish surveys in the California Current. Fish. Bull., USA, (162): 1-7
- Moreno, F.A. 1977 La densidad y distribución de los huevos y larvas de anchovetas y sardinas en la Ensenada de la Paz, B. C. Centro de investigaciones biológicas de B.C. La Paz, México, 70-90.

- Morgan II, R. P.: 1976 The frequency of muscle protein polymorphisms in Menidia menidia (Atherinidae) along the Atlantic Coast. COPEI. No. 2: 356-360.
- Ulanowicz, N. I.
- Munilla, T.: Matallanas, J. 1979 Electroferosis de proteínas musculares de Raja. Cahiers du Biologie Marine. España, Tomo XX: 165-170.
- Nuño, M. 1978 Electro e inmuno-electroferosis. Edit. Internacional Científica, S.A. México, 1-95.
- Ramírez, J.: Huerta, M.S. 1978 Posibilidades de utilizar el pescado para mejorar la dieta mexicana. División de nutrición. INN-Conacyt-Pronal, México. 1-38
- Chávez, A.
- Ritschard, W. J. 1976 Electrophoretic Techniques. Thin layer electrophoresis. London, 66-89
- Ruíz, M. F. 1978 Recursos pesqueros de las costas de México. Edit. Limusa. México, 27-31.
- Shattlee, J.R.: Tamarn, C.S.: Walper, R.S. 1982 Speciation and evolution of marine fishes studied by the electrophoretic analysis of proteins. PAC. SCI. Vol. 36 (2): 141-158.

- Smith, I. 1976 Chromatographic and electrophoretic technique. William Heinemann Medical Books Ltd. London, Vol. II; 485 pp.
- Spiegel, R. M. 1977 Probabilidad y estadística. McGraw-Hill Book, Co. México, 258-306.
- Stock, R. 1974 Chromatographic Methods. Edit. Chapman and Mall. New York, 170-175.
- Tzuyuki, H.; Roberts, E. Comparative zone electropherograms of muscle myogens and blood hemoglobins of marine and freshwater vertebrates and their applications to biochemical systematic. J. Fish. Res. Bd. Canada 22 (1): 203-213.
- Utter, F.M.; Hodgins, H. O.; Allendorf, F.W. 1974 Biochemical and biophysical perspectives in marine biology. D.C. Malius and J.R. Sargent. editors. Academic Press. New York. Vol. 1: 213-238
- Vera, M.G. 1985 Caracterización electroforética de los peces Sarotherodon mossambicus y S. hornorum (Pisces Cichlidae). Tesis Maestría en Ciencias. I.C.M.y L./ UNAM 56 pp.

Villamar, A.: Olvera, R:
Escudero, M. 1976

Distribución y abundancia de larvas de Engraulis mordax en la costa occidental de Baja California, México, Mem. Prim. Simp. Nal. Rec. Pesq. Masivos de México. México, Vol. II: 295-313

Vrooman, A.M.: Paloma,
P.A.: Zweifel, J.R. 1981

Electrophoretic, morphometric and meristic studies of subpopulations of northern anchovy, Engraulis mordax, Calif. Fish. and Game 67 (1) 39-51.

Weiss, J. B. 1976

Electrophoretic Techniques. Preparative block electrophoresis. London, 367-377

White, A.: Wandler, P.:
Smith, E.L. 1979

Principios de bioquímica. McGraw-Hill Book, Co. México, 1185 pp.