

Diferenciación poblacional en la sardina chilena *Strangomera bentincki* (Pisces: Clupeidae) análisis genético de variabilidad proteínica

Population differentiation in the Chilean herring, *Strangomera bentincki* (Pisces: Clupeidae) I: Genetic analysis of protein variability

RICARDO GALLEGUILLOS^{1,4}, LILIAN TRONCOSO^{2,5},
JAVIER MONSALVES³ y CIRO OYARZUN^{1,6}

¹Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción, Casilla 2407, Concepción, Chile

²Laboratorio de Bioensayos, Universidad de Concepción, Casilla 2407, Concepción, Chile

³Universidad de Concepción, Centro EULA., Casilla 2407, Concepción, Chile

⁴E-mail: rgalleg@halcon.dpi.udec.cl

⁵E-mail: ltroncos@halcon.dpi.udec.cl

⁶E-mail: coyartzun@buho.dpi.udec.cl

RESUMEN

Se usó la variación alozímica en 16 enzimas para investigar la estructura genética de *Strangomera bentincki*, para muestras provenientes de la zona pesquera de San Antonio, Talcahuano y Puerto Montt. La heterocigosidad promedio por locus y por individuo fue de 0,062. El índice de Fijación de Wright para medir la cantidad de diferenciación genética entre las localidades entregó un valor máximo de 0,029 y un valor mínimo de 0,006, indicando una alta homogeneidad genética. El índice de variación estandarizada también indica una alta homogeneidad entre las muestras de diferentes localidades. Un dendrograma que representa la distancia genética entre las diferentes localidades mostró una tendencia a separar las muestras provenientes de Puerto Montt de las de Talcahuano y San Antonio.

Palabras clave: *Strangomera*, aloenzimas, stocks, variación genética, Chile.

ABSTRACT

Allozyme variation was used to investigate the genetic structure of *Strangomera bentincki*, from samples coming from the fishery zone of San Antonio, Talcahuano and Puerto Montt. The average heterocigosity per locus and per individual was 0,062. The Wright' fixative index for measurement the amount of genetic differentiation between localities, showed a maximum value of 0,029 and a minimum of 0,006, indicating high homogeneity between the samples. A dendrogram that represents the genetic distance, shows a tendency to separate samples coming from Puerto Montt to those of Talcahuano and San Antonio.

Key words: *Strangomera*, allozymes, stocks, genetic variation, Chile

INTRODUCCION

Las grandes distribuciones geográficas y la presencia de barreras que restringen el libre movimiento de los individuos sugiere que no hay una panmixia total entre los individuos de una misma especie. Esto da como resultado que una especie esté formada por numerosas poblaciones panmíticas o demos. Spanakis et al. (1989) plantean que los peces, como la mayoría de los organismos, no existen como

una población continua. Dichos autores postulan el concepto de stock biológico para referirse a que las poblaciones conespecíficas pueden evolucionar en forma independiente, de tal manera que dos o más poblaciones pueden llegar a presentar ciertos niveles de diferenciación y mantenerlos en el tiempo bajo ciertas condiciones, especialmente cuando el flujo génico es prácticamente cero.

Por otra parte, el concepto de stock ecológico establece básicamente que dos po-

blaciones pueden presentar niveles significativos de diferencias en ciertos caracteres, especialmente en aquellos que se relacionan con la historia de vida, habilidad de dispersión, etc. No obstante, dichas poblaciones pueden presentar el suficiente flujo génico como para mantener homogeneidad genética entre ellas.

La diferenciación poblacional en especies marinas se ha investigado ampliamente mediante diferentes técnicas. Una de estas herramientas es la electroforesis de aloenzimas. Esta técnica ha permitido determinar la diferenciación genética entre poblaciones, realizar estudios sistemáticos y describir los procesos microevolutivos de una gran variedad de organismos (Carvalho 1993). El uso de aloenzimas ha permitido identificar unidades poblacionales discretas, en poblaciones de peces que previamente se consideraban homogéneas; en otros casos, ha revelado homogeneidad genética entre stocks reconocidos históricamente (Smith & Jamieson 1986). Debe agregarse que la identificación de los loci es fácilmente reconocible, y los resultados pueden traducirse a genotipos sin mucha dificultad (Ward & Grewe 1994).

Estudios desarrollados en peces pelágicos y demersales, sugieren que, en general, las especies demersales están subdivididas genéticamente en distintos stocks, al contrario de las pelágicas, que muestran poca diferenciación genética sobre amplias zonas de distribución (Smith et al. 1989, Hedgcock et al. 1989, Grant & Utter 1984). En una revisión llevada a cabo por Ward et al. (1994) se analizan 49 especies de peces de agua dulce, 57 especies de peces marinos y siete especies anadrómicas; dentro de los parámetros genéticos analizados, la heterocigosidad promedio en las especies de agua dulce y marinas son aproximadamente iguales, con valores de 0,062-0,064.

La sardina común, *Strangomera bentincki* es una especie pelágica que se distribuye exclusivamente en el Pacífico sur-oriental (Whitehead 1985), entre Coquimbo (29° 31' S) por el norte y Chiloé por el sur (Pequeño & Moreno 1979), formando cardúmenes mixtos con otras especies de Clupeiformes. Se caracteriza por ser una especie netamente

costera, cuya distribución longitudinal normalmente no supera las 30 millas náuticas de la costa. Presenta un ciclo de vida corto, con tres a cuatro años de longevidad, rápido crecimiento y elevada mortalidad natural (Cubillos & Arancibia 1993a, 1993b). El período de desove ocurre en pleno invierno, con un máximo en agosto, siendo la talla de primera madurez 11 cm de longitud total (Cubillos & Arancibia 1993a). De acuerdo con las estadísticas, la captura anual de la sardina común para el año 1995 correspondió a 126.715 toneladas; de ellas, aproximadamente el 96% se capturó en la zona de Talcahuano (SERNAP 1996).

Respecto a su estructura poblacional, Aguayo & Soto (1978) señalan diferencias en las tasas de crecimiento entre sardinas de Coquimbo y Talcahuano, lo cual podría indicar la presencia de dos unidades pesqueras con distintas historias de vida. Desde el punto de vista del análisis morfométrico, Cortés et al. (1996), al comparar muestras provenientes de la pesquería centro-sur, establecen que las sardinas de la Zona de Puerto Montt se diferencian de aquellas que habitan más al norte.

En esta investigación, mediante análisis aloenzimático, se somete a prueba la hipótesis de la existencia de una sola población panmictica de *S. bentincki* a lo largo de su distribución.

MATERIALES Y METODOS

Muestras

Para analizar la estructura genética poblacional de *Strangomera bentincki* a través de una gradiente latitudinal, se recolectaron, durante diciembre de 1993 y diciembre de 1994, ejemplares de sardina común provenientes de los desembarques de pesquerías industriales de las localidades de San Antonio (33° 34' S; 71° 36' W) (3 muestreos), Talcahuano (36° 41' S; 73° 06' W) (7 muestreos), y Puerto Montt (41° 30' S; 72° 50' W) (4 muestreos). Se trasladaron al Laboratorio de Genética de la Universidad Católica de la Santísima Concepción, donde cada ejemplar fue individualizado y congelado a -20°C, hasta el momento del análisis electroforéti-

co. Las fechas de muestreo y el número de individuos analizados se señalan separados por localidad en las tablas 2a, b y c.

Electroforesis

De cada individuo se obtuvo una muestra de tejido muscular, la cual se maceró y centrifugó a 3.000 rpm por 5 minutos. El sobrenadante se absorbió con trozos de papel filtro (0,5x0,3cm), que se montaron en una matriz horizontal de almidón Connaught (12%). Esta última se sometió a una diferencia de potencial de aproximadamente 300 volts con 50 mA, por 4 a 5 horas, para la separación de las proteínas. Las tinciones específicas se realizaron según Richardson et al. (1986) y Shaklee & Keenan (1986). Los tampones de electroforesis utilizados fueron 1: Tris Cítrico discontinuo pH 5,1-6,0; 2: Litio pH 8,0; 3: Poulík pH 8,2 y 4: Borato pH 8,0.

Para las enzimas con más de un locus, los loci se denominaron numéricamente, en orden decreciente según su movilidad. De igual modo, los alelos de cada locus fueron designados alfabéticamente. La nomenclatura de las enzimas y loci siguieron a Shaklee et al. (1990).

Análisis

El número de individuos de los distintos genotipos obtenidos en las muestras de cada localidad se ingresaron y analizaron usando el programa computacional BIOSYS versión 1.7 (Swofford & Selander 1989). Dicho programa permitió calcular las frecuencias de cada alelo en cada población, evaluar el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg de cada muestreo y obtener el índice de desviación del equilibrio (D), el cual señala mediante un valor negativo un déficit de heterocigotos, respecto de lo esperado por Hardy-Weinberg. Además entregó la comparación de las frecuencias alélicas para cada locus polimórfico, entre los distintos muestreos y localidades.

La homogeneidad genética de las muestras fue analizada mediante el índice F_{st} Wright (Hartl 1980), prueba que permite cuantificar la variación de las frecuencias alélicas entre muestras, entre localidades y

además entrega la proporción de la variación genética que es producto de diferencias entre poblaciones. Complementario a esto, se realizó un análisis de la varianza estandarizada (Christiansen et al. 1976). En él se asume que todas las muestras se obtienen de una población única. La frecuencia génica estandarizada está dada por $d_i = (p_i - p_o) * \sqrt{2X_{(i)} / (p_o q_o)}$, la que se encuentra distribuida en forma normal y donde: p_i : frecuencia génica del alelo i para cada muestra, p_o : frecuencia alélica promedio, X : número de individuos muestreados.

Los valores límites varían en un rango de ± 2 desviaciones; esto significa que si el análisis de cada locus para las distintas muestras entrega valores más altos o más bajos de la desviación, se trataría de una muestra con características diferentes al grupo analizado.

Las frecuencias génicas de cada uno de los loci polimórficos fueron comparados en un análisis de similitud genética por muestreo y por localidad. El análisis de cluster se realizó utilizando los algoritmos de la Distancia genética insesgada (Nei, 1978), y UPGMA como estrategia aglomerativa.

RESULTADOS

El análisis electroforético permitió resolver un total de 16 enzimas que dieron cuenta de 22 loci que presentaron suficiente actividad y definición en el tejido muscular (Tabla 1). Se identificaron 5 loci polimórficos que corresponden a: *GPI*, *PGM*, *AAT*, *IDH-1* y *PGD*. Los rangos de variabilidad, medidos a través de la heterocigosidad observada, van desde 0,061 hasta 0,444. El valor de heterocigosidad media por locus y por individuo, considerados todos los loci, fue de 0,062.

Las frecuencias alélicas para los cinco loci que resultaron polimórficos se resumen separados por localidad en las Tablas 2a, 2b y 2c (para San Antonio, Talcahuano y Puerto Montt, respectivamente); se entrega la heterocigosidad observada en cada caso y el índice de desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg.

En general, las muestras presentaron gran variabilidad genética, dado que 4 de 5 loci polimórficos analizados presentaron 3

TABLA 1

Sistemas enzimáticos detectados, tejidos y tampones usados en el análisis electroforético de *S. bentincki*. (* = Polimórfico)

Enzymatic systems detected, tissues and buffers used in electrophoretic analysis for *S. bentincki*. (*=Polymorphic)

| E.C. N° | Enzima | Abrev. | N° Loci | Tampón |
|-----------|----------------------------------|------------|---------|--------|
| 1.1.1.1 | Alcohol Deshidrogenasa | ADH | 1 | 1 |
| 1.1.1.8 | Glicerol 3-P Deshidrogenasa | G3PDH | 2 | 1 |
| 1.1.1.14 | L-Iditol Deshidrogenasa | IDDH(SORD) | 1 | 2 |
| 1.1.1.27 | L-Lactato Deshidrogenasa | LDH | 2 | 1 |
| 1.1.1.37 | Malato Deshidrogenasa | MDH | 2 | 1 |
| 1.1.1.40 | Enzima Málica (NADP) | ME1 | 1 | 3 |
| 1.1.1.42 | Isocitrato Deshidrogenasa (NADP) | IDH* | 2 | 1 |
| 1.1.1.49 | Glucosa 6-P Deshidrogenasa | G6PDH | 1 | 1 |
| 1.1.1.204 | Xantina Deshidrogenasa | XDH | 1 | 1 |
| 2.6.1.1 | Aspartato Aminotransferasa | AAT* | 1 | 1 |
| 3.1.1.1 | Esterasa | EST | 3 | 4 |
| 3.4.11.1 | Leucil Aminopeptidasa | LAP | 1 | 2 |
| 3.4.11 | Amino Peptidasa | AP | 1 | 2 |
| 4.4.1.5 | Glioxalasa I | GLO1 | 1 | 3 |
| 5.3.1.9 | Glucosa 6-Fosfatoisomerasa | GPI* | 1 | 3 |
| 5.4.2.2 | Fosfoglucomutasa | PGM* | 1 | 3 |
| - | Proteínas Musculares | P.T. | 2 | 3 |

1) Tris Cítrico pH 5,1-6,0

2) Litio pH 8,0

3) Poulik 8,2

4) Borato pH 8,0

alelos. Se consideró a los loci *GPI* y *G6PDH* como los más variables, ya que la frecuencia del alelo más común alcanzó valores máximos de 0,820. En Talcahuano, San Antonio y Puerto Montt, para algunos meses de muestreo, estos loci no se ajustaron a lo esperado por Hardy-Weinberg. Para la localidad de San Antonio, el locus *AAT* se desvió significativamente del equilibrio para la muestra de diciembre 1993. De la misma forma se comportaron los loci *PGM*, *G6PDH* e *IDH-1* para la localidad de Puerto Montt durante este mismo mes de muestreo (Tabla 2c).

La Tabla 3 resume los valores del estadístico G obtenidos al comparar las frecuencias alélicas por muestreo y por localidad. Se observa que la localidad de San Antonio mantuvo una homogeneidad genética (valores no significativos) para todos

sus loci y en todos los muestreos. Sin embargo, Talcahuano y Puerto Montt mostraron heterogeneidad (valores altamente significativos) para los loci más variables: *GPI* y *G6PDH*.

Los valores del estadístico F_{st} fluctuaron entre 0,006 y 0,029 con un promedio de 0,019. El valor máximo fue obtenido en el locus *GPI* ($F_{(st)} = 0,029$). Esta alta conexión genética sugerida por los valores de F_{st} es confirmada por los bajos valores de Distancia genética obtenidos entre localidades, cuyo valor máximo alcanzó a 0,017 entre el muestreo de Puerto Montt de diciembre 1993 y el de Talcahuano de julio 1994.

Se realizó el análisis de varianza estandarizada, con el fin de detectar desviaciones en las frecuencias de los alelos más comunes en aquellos loci más variables. Para el locus *GPI*, uno de los valores más altos de desvia-

TABLA 2a

Frecuencias alélicas, ajuste a Hardy-Weinberg (X^2H-W), para muestras de sardina de San Antonio. Se señalan los valores de heterocigosidad observada (H_o), desviación del equilibrio (D), entre paréntesis el número de individuos (n), y probabilidad (p), ** = $p < 0,01$. ns= no significativo.

Allelic frequencies, goodness of fit to Hardy-Weinberg equilibrium (X^2H-W), for sardine samples from San Antonio. Expected Heterozygosity (H_o), equilibrium deviation (D), in brackets the numbers of individuals (n), and probability values (p), ** = $p < 0,01$. ns= non significant.

| Locus | Alelos | Frecuencias alélicas mensuales | | |
|--------------|-----------|--------------------------------|-----------|-----------|
| | | Dic. 93 | Oct. 94 | Dic. 94 |
| <i>GPI</i> | | (97) | (32) | (80) |
| | 1 | 0,015 | 0,063 | 0,019 |
| | 2 | 0,814 | 0,766 | 0,800 |
| | 3 | 0,170 | 0,172 | 0,181 |
| | $X^2 H-W$ | 4,57 (ns) | 1,37(ns) | 55,06(**) |
| | H_o | 0,309 | 0,386 | 0,329 |
| D | 0,201 | 0,132 | 0,026 | |
| <i>PGM</i> | | (98) | (60) | (79) |
| | 1 | 0,000 | 0,000 | 0,013 |
| | 2 | 0,969 | 0,933 | 0,955 |
| | 3 | 0,031 | 0,067 | 0,032 |
| | $X^2 H-W$ | 0,081(ns) | 2,66(ns) | 0,145(ns) |
| | H_o | 0,060 | 0,125 | 0,086 |
| D | 0,026 | 0,062 | 0,030 | |
| <i>AAT</i> | | (99) | (60) | (81) |
| | 1 | 0,040 | 0,017 | 0,031 |
| | 2 | 0,955 | 0,975 | 0,963 |
| | 3 | 0,005 | 0,008 | 0,006 |
| | $X^2 H-W$ | 23,83(**) | 0,026(ns) | 0,099(ns) |
| | H_o | 0,088 | 0,049 | 0,072 |
| D | -0,078 | 0,011 | 0,027 | |
| <i>G6PDH</i> | | (99) | (43) | (76) |
| | 1 | 0,354 | 0,291 | 0,395 |
| | 2 | 0,626 | 0,709 | 0,605 |
| | 3 | 0,020 | 0,000 | 0,000 |
| | $X^2 H-W$ | 3,35(ns) | 3,374(ns) | 9,097(**) |
| | H_o | 0,485 | 0,417 | 0,481 |
| D | -0,083 | -0,275 | -0,343 | |
| <i>IDH-1</i> | | (94) | (32) | (54) |
| | 1 | 0,011 | 0,000 | 0,000 |
| | 2 | 0,936 | 0,953 | 0,935 |
| | 3 | 0,053 | 0,047 | 0,065 |
| | $X^2 H-W$ | 0,399(ns) | 0,051(ns) | 0,28(ns) |
| | H_o | 0,121 | 0,091 | 0,122 |
| D | 0,053 | 0,033 | 0,059 | |

TABLA 2b

Frecuencias alélicas, ajuste a Hardy-Weinberg (X^2 H-W), para muestras de sardina de Talcahuano. Se señalan los valores de heterocigosidad observada (Ho), desviación del equilibrio (D), entre paréntesis el número de individuos (n), y probabilidad (p), * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$. ns= no significativo.

Allelic frequencies, goodness of fit to Hardy-Weinberg equilibrium (X^2 H-W), for sardine samples from Talcahuano. Expected Heterozygosity (Ho), equilibrium deviation (D), probability values (p) and in brackets the numbers of individuals (n). * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$. ns= non significant.

| Locus | Alelos | Frecuencias alélicas mensuales | | | | | | |
|-------|-----------|--------------------------------|-----------|-----------|-------------|-----------|-----------|------------|
| | | Dic. '93 | Ene. 94 | Mar. 94 | Jul. 94 | Ago. 94 | Oct. 94 | Dic. 94 |
| GPI | | (96) | (89) | (44) | (39) | (37) | (82) | (93) |
| | 1 | 0,010 | 0,000 | 0,216 | 0,000 | 0,000 | 0,03 | 0,011 |
| | 2 | 0,875 | 0,820 | 0,670 | 0,833 | 0,878 | 0,799 | 0,817 |
| | 3 | 0,115 | 0,180 | 0,114 | 0,167 | 0,122 | 0,171 | 0,172 |
| | X^2 H-W | 4,26(ns) | 1,71(ns) | 10,20(**) | 0,01(ns) | 0,658(ns) | 14,64(**) | 0,730(ns) |
| | Ho | 0,222 | 0,297 | 0,497 | 0,281 | 0,217 | 0,334 | 0,304 |
| | D | 0,078 | 0,137 | 0,327 | 0,02 | -0,126 | -0,014 | 0,061 |
| PGM | | (98) | (99) | (73) | (39) | (39) | (83) | (92) |
| | 1 | 0,020 | 0,010 | 0,007 | 0,038 | 0,000 | 0,030 | 0,027 |
| | 2 | 0,939 | 0,965 | 0,959 | 0,962 | 0,962 | 0,946 | 0,957 |
| | 3 | 0,041 | 0,025 | 0,034 | 0,000 | 0,038 | 0,024 | 0,016 |
| | X^2 H-W | 0,38(ns) | 0,113(ns) | 0,11(ns) | 0,041(ns) | 0,041(ns) | 0,241(ns) | 0,165(ns) |
| | Ho | 0,117 | 0,069 | 0,080 | 0,075 | 0,075 | 0,105 | 0,085 |
| | D | 0,045 | 0,024 | 0,030 | 0,027 | 0,027 | 0,036 | 0,029 |
| AAT | | (99) | (98) | (75) | (39) | (38) | (84) | (91) |
| | 1 | 0,035 | 0,020 | 0,013 | 0,026 | 0,053 | 0,024 | 0,044 |
| | 2 | 0,960 | 0,980 | 0,987 | 0,974 | 0,934 | 0,970 | 0,951 |
| | 3 | 0,005 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,013 | 0,006 | 0,005 |
| | X^2 H-W | 0,153(ns) | 0,032(ns) | 0,007(ns) | 0,013(n.s.) | 0,149(ns) | 0,063(ns) | 0,218(ns) |
| | Ho | 0,078 | 0,040 | 0,026 | 0,051 | 0,126 | 0,058 | 0,095 |
| | D | 0,032 | 0,016 | 0,007 | 0,013 | 0,045 | 0,020 | 0,041 |
| G6PDH | | (91) | (96) | (58) | (43) | (40) | (102) | (94) |
| | 1 | 0,324 | 0,380 | 0,267 | 0,360 | 0,387 | 0,368 | 0,356 |
| | 2 | 0,571 | 0,615 | 0,621 | 0,640 | 0,613 | 0,623 | 0,612 |
| | 3 | 0,104 | 0,005 | 0,112 | 0,000 | 0,000 | 0,010 | 0,032 |
| | X^2 H-W | 35,19(***) | 0,78(ns) | 16,83(**) | 0,123(ns) | 0,552(ns) | 0,21(ns) | 51,72(***) |
| | Ho | 0,561 | 0,480 | 0,535 | 0,466 | 0,481 | 0,480 | 0,500 |
| | D | -0,137 | 0,041 | -0,292 | -0,053 | -0,116 | 0,022 | -0,213 |
| IDH-1 | | (94) | (99) | (43) | (30) | (37) | (82) | (91) |
| | 1 | 0,931 | 0,924 | 0,919 | 0,983 | 0,946 | 0,970 | 0,951 |
| | 2 | 0,069 | 0,076 | 0,081 | 0,017 | 0,054 | 0,030 | 0,049 |
| | X^2 H-W | 0,476(ns) | 0,62(ns) | 0,28(ns) | 0,000 | 0,089 | 0,064 | 0,218 |
| | Ho | 0,129 | 0,141 | 0,151 | 0,033 | 0,104 | 0,059 | 0,095 |
| | D | 0,069 | 0,077 | 0,076 | 0,000 | 0,043 | 0,025 | 0,046 |

TABLA 2c

Frecuencias alélicas, ajuste a Hardy-Weinberg (X^2H-W), para muestras de sardina de Puerto Montt. Se señalan los valores de heterocigosidad observada (H_o), desviación del equilibrio (D), entre paréntesis el número de individuos (n), y probabilidad (p), * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$. ns= no significativo.

Allelic frequencies, goodness of fit to Hardy-Weinberg equilibrium (X^2H-W), for sardine samples from Puerto Montt. Expected Heterozygosity (H_o), equilibrium deviation (D), probability values (p) and in brackets the numbers of individuals (n). * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$. ns= non significant.

| Locus | Alelos | Frecuencias alélicas mensuales | | | |
|--------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | | Dic. 93 | Mar. 94 | Sep. 94 | Nov. 94 |
| <i>GPI</i> | | (59) | (45) | (57) | (57) |
| | 1 | 0,042 | 0,200 | 0,000 | 0,026 |
| | 2 | 0,797 | 0,656 | 0,825 | 0,728 |
| | 3 | 0,161 | 0,144 | 0,175 | 0,246 |
| | X ² H-W | 1,34(ns) | 1,71(ns) | 0,40(ns) | 2,88(ns) |
| | H _o | 0,341 | 0,515 | 0,292 | 0,413 |
| | D | -0,005 | 0,208 | 0,082 | -0,022 |
| <i>PGM</i> | | (63) | (54) | (59) | (77) |
| | 1 | 0,016 | 0,000 | 0,008 | 0,019 |
| | 2 | 0,937 | 0,981 | 0,983 | 0,961 |
| | 3 | 0,048 | 0,019 | 0,008 | 0,019 |
| | X ² H-W | 7,06(*) | 0,171(ns) | 0,09(ns) | 0,105(ns) |
| | H _o | 0,121 | 0,037 | 0,034 | 0,076 |
| | D | -0,215 | 0,009 | 0,004 | 0,023 |
| <i>AAT</i> | | (99) | (60) | (81) | (56) |
| | 1 | 0,040 | 0,017 | 0,031 | 0,036 |
| | 2 | 0,955 | 0,975 | 0,963 | 0,955 |
| | 3 | 0,005 | 0,008 | 0,006 | 0,009 |
| | X ² H-W | 0,13(ns) | 0,032(ns) | 0,026(ns) | 0,097(ns) |
| | H _o | 0,094 | 0,084 | 0,042 | 0,087 |
| | D | 0,032 | 0,016 | 0,007 | 0,030 |
| <i>G6PDH</i> | | (99) | (43) | (76) | (55) |
| | 1 | 0,354 | 0,291 | 0,395 | 0,309 |
| | 2 | 0,626 | 0,709 | 0,605 | 0,664 |
| | 3 | 0,020 | 0,000 | 0,000 | 0,027 |
| | X ² H-W | 12,79(**) | 0,78(ns) | 0,055(ns) | 1,574(ns) |
| | H _o | 0,639 | 0,464 | 0,482 | 0,468 |
| | D | -0,069 | 0,012 | -0,029 | 0,050 |
| <i>IDH-1</i> | | (94) | (16) | (54) | (53) |
| | 1 | 0,011 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| | 2 | 0,936 | 1,000 | 0,935 | 0,943 |
| | 3 | 0,053 | 0,000 | 0,065 | 0,057 |
| | X ² H-W | 9,92(**) | 0,000 | 0,092(ns) | 0,158(ns) |
| | H _o | 0,201 | 0,000 | 0,082 | 0,108 |
| | D | -0,399 | 0,000 | 0,035 | 0,050 |

TABLA 3

Valores de la prueba de G, para la homogeneidad genética, por localidad y por locus. ns= no significativo. ***= $p < 0.001$.

G test values for genetic homogeneity, by locality and locus.
ns= non significant. ***= $p < 0.001$.

| | L o c a l i d a d | | |
|-------|-------------------|-------------|--------------|
| | S. Antonio | Talcahuano | Puerto Montt |
| GPI-1 | 3,813 n.s. | 77,211*** | 40,161*** |
| PGD-1 | 9,022 n.s. | 47,55 *** | 53,652*** |
| PGM-1 | 7,036 n.s. | 15,254 n.s. | 7,790 n.s. |
| AAT-1 | 3,251 n.s. | 5,850 n.s. | 4,757 n.s. |
| IDH-1 | 2,922 n.s. | 4,847 n.s. | 3,774 n.s. |

ción se obtuvo en la muestra de San Antonio de octubre 1994 (-1,1). En el locus *G6PDH* los valores obtenidos para Talcahuano en agosto 1993 y noviembre 1993 fueron 1,1 y 1,2 respectivamente. Estos valores se escapaban del promedio; no obstante, no sobrepasaron los valores límites para este análisis. Estos resultados revelaron que existe una alta homogeneidad en las frecuencias génicas para las tres localidades y para los diferentes muestreos (Figs. 1-2).

En el análisis de la variabilidad genética por locus, se advierte que éstos siguieron distintos patrones de diferenciación. El locus

Fosfogluconato deshidrogenasa (*G6PDH*) presentó los valores más altos de heterocigosidad observada (H_o), en las tres localidades durante todos los muestreos, alcanzando un valor promedio de 0,509 (D.E.=0,048). Por otra parte, una prueba de G para este locus mostró heterogeneidad genética dentro de los muestreos de las localidades de Talcahuano (47,55; $p < 0,001$) y Puerto Montt (53,65; $p < 0,001$), pero no en las muestras de San Antonio (Tabla 3).

El locus Fosfoglucoisomerasa (*GPI*) alcanzó altos valores promedio de heterocigosidad observada ($H_o = 0,337$; d.e.=0,09). De la

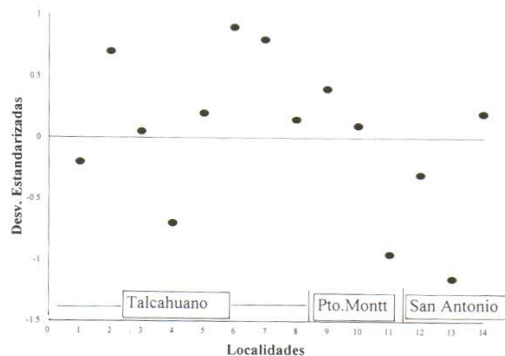


Fig. 1: Valores de desviación estandarizada de las frecuencias génicas del locus *GPI* en *S. bentincki*.

Values of gene frequencies standardized deviation at locus *GPI* in *S. bentincki*.

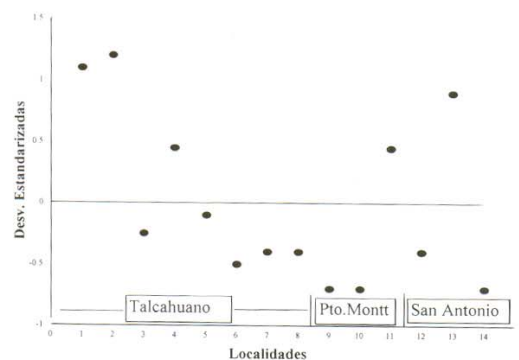


Fig. 2: Valores de desviación estandarizada de las frecuencias génicas del locus *G6PDH* en *S. bentincki*.

Values of gene frequencies standardized deviation at locus *G6PDH* in *S. bentincki*.

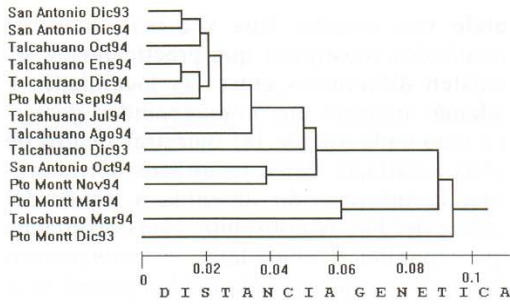


Fig. 3: Dendrograma de la distancia genética (Nei, 1978) para las muestras de *S. bentincki*.

Dendrogram of genetic distances (Nei, 1978) for samples of *S. bentincki*.

misma forma que *G6PDH*, el locus *GPI* mostró heterogeneidad entre muestreos en Talcahuano (77,21; $p < 0,001$) y dentro de los muestreos de Puerto Montt (40,16; $p < 0,001$). Sin embargo, San Antonio mantuvo su homogeneidad durante todos los muestreos.

Fosfoglucomutasa (*PGM*), Aspartato aminotransferasa (*AAT*) e Isocitrato deshidrogenasa (*IDH-1*) presentaron los niveles más bajos de variabilidad genética en las tres localidades, durante todos los muestreos ($H_o = 0,094$), y resultaron ser homogéneas dentro de los muestreos de cada localidad y entre localidades (Tabla 3). Presentan los valores más bajos de *Fst* (0,008; 0,006 y 0,014, respectivamente).

La Figura 3 muestra el dendrograma obtenido a partir del análisis de conglomerados, utilizando los valores de distancia genética para cada una de las muestras. En general, se puede observar que los valores de distancia genética son muy pequeños y que las muestras de las tres localidades se encuentran mezcladas en diferentes niveles de agrupación.

DISCUSION

La variación que se observa de la información aloenzimática es enteramente de naturaleza genética. Esa característica ha permitido su amplia utilización en estudios evolutivos y particularmente en los estudios de identificación de stock desde el punto de vista genético. Este término se define como una población panmítica de in-

dividuos emparentados que son genéticamente distintos de otras poblaciones de la misma especie (Shaklee et al. 1990).

Si dos poblaciones se encuentran completamente diferenciadas mediante caracteres electroforéticos, significa que el flujo genético entre ellas ha sido mínimo o nulo durante un largo intervalo de tiempo. Por otra parte, cuando dos poblaciones son muy similares en sus frecuencias alélicas, se interpreta como si ambas poblaciones son de una misma unidad reproductiva o que su separación es muy reciente; por lo tanto, no se han podido acumular diferencias que permitan identificarlas como dos poblaciones separadas (Spanakis et al. 1989).

Las especies *Sardina pilchardus* y la anchoveta *Engraulis encrasicolus* muestran diferencias genéticas en dos poblaciones de diferente origen geográfico, de acuerdo con Spanakis et al. (1989), al combinar la información electroforética aloenzimática y el análisis multivariado de caracteres morfológicos y merísticos. Ellos encontraron diferencias poblacionales, aunque éstas no son suficientes para considerar que estos peces constituyen stocks discretos. Ellos proponen que las posibles causas que han dado origen a las estructuras poblacionales de ambas especies se deben en parte a las condiciones hidrográficas y a las adaptaciones del comportamiento.

Datos de marcaje y recaptura sugieren que *Sardinops ocellata*, que se distribuye en Africa del Sur y Namibia, se subdivide en dos stocks. Grant (1985) pone a prueba la hipótesis analizando las frecuencias génicas obtenidas a partir de aloenzimas, concluyendo que no habrían diferencias genéticas significativas entre ambas muestras, a pesar que los peces están parcialmente aislados por el sistema de surgencias de la corriente fría de Benguela. Por lo tanto, el grado de aislamiento obtenido no parece ser suficiente para mostrar diferencias genéticas significativas.

En la sardina del Pacífico *Sardinops sagax caerulea* y en la anchoveta del norte *Engraulis mordax*, Hedgecock et al. (1989) contrastan los resultados obtenidos en ambas especies, destacando la baja variabilidad genética de *S. sagax*. Estos autores no encuentran diferencias genéticas significa-

tivas entre grupos geográficos que se habían diferenciado previamente por la tasa de crecimiento y por caracteres de su historia de vida.

Al comparar la diversidad genética en 113 especies de peces de distintos ambientes, Ward et al. (1994) observaron que, de aquellas marinas, un 60 % mostraron una escasa diferenciación poblacional, comparado con sólo un 20% de las especies de agua dulce, ocupando las especies anádromas un lugar intermedio. Estas diferencias se deben a que las especies marinas intercambian una mayor cantidad de migrantes entre sus poblaciones que las especies de agua dulce. También pueden deberse a que las barreras físicas para el movimiento de los peces son menos pronunciadas en el ambiente marino que en los hábitat de agua dulce.

En la sardina común *Strangomera bentincki*, el valor de heterocigosidad promedio aquí observado, considerando los 22 loci, es de 0,062, el que se encuentra en el rango de los valores encontrados en especies marinas 0,062-0,064 (Ward et al. 1994).

El análisis del índice de fijación F_{st} , que mide los niveles de diferenciación entre poblaciones, no entregó valores que puedan considerarse como indicadores de diferenciación para cada uno de los loci polimórficos analizados. Hartl (1980) entrega valores cualitativos de los valores de F_{st} ; el rango 0,05 a 0,15 indica diferenciación moderada, 0,15 a 0,25 indica una gran diferenciación. El valor promedio total obtenido fue de 0,019, y el máximo valor obtenido fue de 0,029 para la enzima *GPI*. Estos valores estarían indicando que la sardina común no escapa a las consideraciones establecidas para especies pelágicas en término que el intercambio genético por migraciones entre las poblaciones es alto. La historia de vida de esta especie y su amplia distribución geográfica podrían estar provocando variaciones genéticas que se deban a fenómenos de adaptación local, los que no son suficientes para acumular diferencias genéticas significativas.

El otro análisis considerado para establecer diferencias entre las muestras de diferentes localidades es el método de las desviaciones estandarizadas, donde se analiza el comportamiento de la frecuencia del

alelo más común. Una vez más, nuestros resultados mostraron que prácticamente no existen diferencias entre las localidades y además muestra una homogeneidad genética para cada una de las muestras dentro de cada localidad. Estos resultados corroborarían la información obtenida a través del índice del F_{st} . No obstante, estos resultados que apuntan a considerar a *Strangomera bentincki* como una sola unidad panmíctica, se deben considerar los valores entregados por la prueba de homogeneidad a través de la prueba de G, donde algunos marcadores genéticos como la *GPI* y la *G6PDH* muestran un grado significativo de heterogeneidad dentro de las localidades de Talcahuano y dentro de la muestras de Puerto Montt. Estas diferencias intrapoblacionales podrían deberse, tal como lo plantea Hedgecock et al. (1989) en *Engraulis mordax*, a la dependencia de ciertas frecuencias alélicas con el sexo y la edad.

Se propone que el alto grado de homogeneidad mostrada por esta especie se debe básicamente a que toda la especie desovaría dentro del mismo período de tiempo y que no hay barreras físicas importantes que eviten el flujo génico entre individuos de las poblaciones de San Antonio, Talcahuano y Puerto Montt. Otra posible explicación es lo restringido de su distribución geográfica y el efecto homogeneizador del sistema de corrientes dominante en la costa de Chile, que transportaría los huevos y larvas en sentido sur-norte.

En el trabajo llevado a cabo por Cortés et al. (1996), a través de un análisis multivariado de la morfología, se demuestra que los individuos provenientes de la zona de Puerto Montt se separan de aquéllos provenientes de San Antonio y en menor medida de Talcahuano. Para todo el período, las muestras de Talcahuano muestran un alto grado de sobreposición morfológica con San Antonio y en menor medida con Puerto Montt. Si a estos resultados agregamos los obtenidos en el dendrograma de distancia genética (Fig. 3), donde se insinúa una separación de las muestras de Puerto Montt, esta situación se podría transformar en una interesante investigación en términos de aplicar otras metodologías más sensibles del punto de vista genético, como es el análisis del ADN nuclear

o mitocondrial. También se podría realizar una comparación de los períodos de desove de las localidades de Puerto Montt, Talcahuano y San Antonio.

AGRADECIMIENTOS

Al señor Alberto Paredes y al señor Carlos Montenegro por su valiosa colaboración en la obtención de muestras de sardina común. Se reconocen las importantes sugerencias de dos revisores anónimos. Esta investigación fue financiada por el proyecto FONDECYT 193427.

LITERATURA CITADA

- AGUAYO M & S SOTO (1978) Edad y crecimiento de la sardina común (*Clupea (Strangomera) bentincki*) en Coquimbo y Talcahuano. Serie Investigación Pesquera IFOP-Chile. 28: 55 pp.
- CARVALHO GR (1993) Evolutionary aspects of fish distribution: genetic variability and adaptation. *Journal of Fish Biology* 43(A): 53-73.
- CORTES N, C OYARZUN & R GALLEGUILLOS (1996) Diferenciación poblacional en la sardina común *Strangomera bentincki* (Norman, 1936), II. Análisis multivariado de la morfología (Pisces: Clupeidae). *Revista de Biología Marina, Valparaíso (Chile)*, 31: 91-105.
- CUBILLOS L & H ARANCIBIA (1993a) Análisis de las pesquerías de sardina común (*Strangomera bentincki*) y anchoveta (*Engraulis ringens*) del área de Talcahuano, Chile. *Investigaciones Marinas, Valparaíso (Chile)* 21: 3-21.
- CUBILLOS L & H ARANCIBIA (1993b) Análisis de la pesquería de sardina común y anchoveta del área de Talcahuano, situación actual y perspectivas. Documento Técnico Instituto de Investigaciones Pesqueras (IIP). Talcahuano, 2 (2). 19 pp.
- CHRISTIANSEN FB, O FRYDENBERG & V SIMONSON (1973) Genetics of *Zoarces* populations. IV. Selection component analysis of an esterase polymorphism using population samples including mother-offspring combination. *Hereditas* 73: 291-304.
- GRANT WS & FM UTTER (1984) Biochemical population genetics of Pacific herring (*Clupea pallasi*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 41: 856-864.
- GRANT WS (1984) Biochemical population genetics of Atlantic herring *Clupea harengus*. *Copeia* 1984: 357-364.
- GRANT WS (1985) Population genetics of the Southern African pilchard, *Sardinops ocellata*, in the Benguela upwelling system. in: C Bas, R Margalef & P Rubies (eds.) Simposio Internacional de Afloresamientos del Oeste Africano, Instituto de Investigaciones Pesqueras, Barcelona. v. 1: 551-562.
- HARTL DL (1980) Principles of populations genetics. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. 488 pp.
- HEDGECOCK D, E HUTCHINSON, G LI, FL SLY & K NELSON (1989) Genetic and morphometric variation in the Pacific Sardine *Sardinops sagax caerulea*: Comparisons and contrasts with historical data and with variability in the Northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fishery Bulletin* 87: 653-671.
- IHSSEN PE, HE BOOKE, JM CASSELMAN, JM MGGLADE, NR PAYNE & FM UTTER (1981) Stock identification: materials and methods. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 38: 1838-1855.
- NEI M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- PEQUEÑO G & C MORENO (1979) Peces. En: Lorenzen S (ed) Mariscos y Peces de importancia comercial en el sur de Chile: 85-127 Universidad Austral de Chile.
- RICHARDSON BJ, PR BAVERSTOCK & M ADAMS (1986) Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematics and population studies. Academic Press, London. 410 pp.
- SERNAP 1996 Anuario Estadístico de Pesca 1995. República de Chile. Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción. Servicio Nacional de Pesca 239 pp.
- SHAKLEE JB & CP KEENAN (1986) A practical laboratory guide to the techniques and methodology of electrophoresis and its application to fish fillet identification. Report 177 CSIRO Marine Laboratories, Australia. 59 pp.
- SHAKLEE JB, FW ALLENDORF, DC MORIZOT & GS WHITT (1990) Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. *Transactions of the American Fisheries Society* 119: 2-15.
- SINCLAIR M & TD ILES (1989) Population regulation and speciation in the oceans. *Journal du Conseil international pour la Exploration de la Mer* 45: 165-175.
- SMITH PJ, AJ BIRLEY & A JAMIESON (1989) Electrophoretic studies and stock concept in marine fishes. *Journal of Fish Biology* 35: 345-346.
- SMITH PJ & A JAMIESON (1986) Stock discreteness in herrings: A conceptual revolution. *Fisheries Research* 4: 223-234.
- SPANAKIS E, N TSIMENIDES & E ZOUROS (1989) Genetic differences between populations of sardine, *Sardina pilchardus*, and anchovy, *Engraulis encrasicolus*, in the Aegean and Ionian seas. *Journal of Fish Biology* 35: 417-437.
- SWOFFORD DL & RB SELANDER (1989) BIOSYS-1. A computer Program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Swofford, Illinois Natural History Survey. 43 pp.
- WARD RD & PM GREWE (1994) Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 4: 300-325.
- WARD RD, M WOODWARK & DOF SKIBINSKI (1994) A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. *Journal of Fish Biology* 44: 213-232.
- WHITEHEAD PJP (1985) FAO species catalogue. Vol 7. Clupeoid fishes of the world. An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolf-herrings. Part 1- Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae. FAO Fisheries Synopsis (125) 7: 303 pp.
- ZAR JH (1984) Biostatistical analysis. Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J. 718 pp.