

Variación alozimática en el crustáceo *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae) del Gran Lago Salado en varias condiciones experimentales

Diana Rodríguez¹, Francisco Correa^{1*}, Jorge de la Rosa-Vélez², Roberto Escobar¹, Beatriz Cordero³, Zoraya Alvarez⁴ y Roselena Sánchez⁴

- 1 Instituto de Investigaciones Oceanológicas. Universidad Autónoma de Baja California. Laboratorio de Genética y Biología Molecular. Carr. Tijuana-Ensenada Km.#107. A.P. 453. 22800 Ensenada, Baja California, México. Tel. +52 (61) 74-46-01 ext. 106; Fax. +52 (61) 74-53-03; correa@faro.ens.uabc.mx; diana@faro.ens.uabc.mx
 - 2 Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. Laboratorio de Genética y Biología Molecular. Carr. Tijuana-Ensenada Km.#107. A.P. 453. 22800 Ensenada, Baja California, México; jdrosa@faro.ens.uabc.mx
 - 3 Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Departamento de Acuicultura. Carr. Tijuana-Ensenada Km.#107. 22800 Ensenada, Baja California, México; bcordero@cicese.mx
 - 4 Centro de Investigaciones Marinas-Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. Complejo Docente El Hatillo. La Vela Estado Falcón, Venezuela; rsanche@funflc.org.ve; zalvarez@funflc.org.ve
- * Enviar correspondencia.

Recibido 18-X-2000. Corregido 31-V-2001. Aceptado 30-VII-2001.

Abstract: Starch gel electrophoresis was used to analyze the allelic variability of four polymorphic loci (Lap-2, Lap-3, Pgm and Gpi) from a single population of *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) from the Great Salt Lake (Utah, USA), cultured under eight different experimental conditions. The organisms were cultured to the adult stage under a 2x2x2 experimental design (22 and 30°C; 30 and 60 ppt salinity; and *Dunaliella* sp. and *Spirulina* sp. as food). There were significant differences in allele frequencies at each locus and the mean expected heterozygosity (He) varied from 0.236 to 0.447. Therefore, the hypothesis of no allelic differences among treatments is rejected. With relation to a possible correlation between genetic variability and the phenotypic characteristics, the results show that there is probably a synergic effect between the different salinities and temperatures on the survival of heterozygous organisms in the different loci.

Key words: *Artemia*, allozymes, temperature, salinity, growth, microalgae.

El género *Artemia* (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca) comprende seis especies, definidas por el criterio del aislamiento reproductivo, y una de ellas es *A. franciscana* (Kellogg 1906), que vive en América (Browne y Bowen 1991). *Artemia* spp. vive en medios de salinidad inferior al agua de mar y en salmueras (Sorgeloos *et al.* 1986). Los cuerpos de agua donde vive pueden ser de muy diversas dimensiones desde enormes lagos y lagunas hasta pequeñas pozas. En consecuencia, las temperaturas a que están expuestas varían considerablemente. Tales condiciones ambientales

definen al género y a sus especies como altamente adaptables, a lo que contribuye la capacidad de estos organismos de producir formas de resistencia denominadas quistes.

Tal capacidad para sobrevivir debe apoyarse en bases genéticas y fisiológicas. Los niveles de heterocigosidad registradas en las diferentes poblaciones de una sola especie como *A. franciscana* para 20 loci varían entre 2.9 y 12.5% (Abreu-Grobois y Beardmore 1982, Beardmore *et al.* 1986, Correa y de la Rosa-Vélez 1996). Posteriormente, Pedrosa (1995) averiguó que bastan seis sistemas enzimáticos

(Est-D, Gpi, Mpi, Idh, Me y Pgd) para diferenciar especies de *Artemia* spp.

En el presente estudio se analiza la variabilidad genética de cuatro loci polimórficos en una población de *A. franciscana* del Gran Lago Salado (Utah, EE.UU.). Los objetivos son: 1) determinar la variación alélica en cuatro loci polimórficos en una población de *A. franciscana* cultivada en diferentes condiciones experimentales; 2) determinar como se distribuye la variabilidad genética en función de la combinación de temperaturas, salinidades y dietas; 3) analizar la posible correlación entre la variabilidad genética hallada y la longitud total de los organismos y su tasa de crecimiento en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

La población empleada en este estudio proviene de nauplios obtenidos a partir de la eclosión de quistes originales del Gran Lago Salado (Utah, EE.UU.; Sanders Brine Shrimp Company Inc. lot.#SP 1352). Los quistes fueron descapsulados usando el método del hipoclorito de sodio (Correa y Bückle 1993). Los nauplios eclosionados se distribuyeron en ocho acuarios de 10 l, a una densidad de 0.5 organismos ml⁻¹ y sometidos a dos diferentes temperaturas, dos salinidades y dos dietas.

Las temperaturas mínimas y máximas seleccionadas fueron 22 ± 0.5°C y 30 ± 0.5°C, mientras que las salinidades fueron 30 ppm y 60 ppm (Sorgeloos *et al.* 1986). Las dietas usadas fueron las microalgas *Dunaliella* sp. (fresca) y *Spirulina* sp. (seca). En el caso de *Dunaliella* sp. las raciones diarias fueron las indicadas por Vanhecke *et al.* (1984), mientras que las raciones diarias de *Spirulina* sp. fueron las siguientes: en los dos primeros días, se suministraron 0.02 mg org⁻¹; días 3 y 4 = 0.025 mg org⁻¹; días 5 y 6 = 0.03 mg org⁻¹; días 7 y 8 = 0.05 mg org⁻¹; día 9 = 0.06 mg org⁻¹; y días subsecuentes, 0.1 mg org⁻¹. El experimento finalizó una vez que los organismos alcanzaron el estado adulto y manifestaron los caracteres morfológicos propios del aparato reproductivo.

Los organismos se recolectaron y lavaron con agua destilada en forma individual para ser almacenados posteriormente a -70°C hasta los análisis electroforéticos.

Los análisis se realizaron con el sistema de gel de almidón al 13.5% (Sigma St. Louis Mo.; lot.#32H0255), preparado de acuerdo al método de Hedgecock (Maqueda 1990). Los procedimientos técnicos son similares a los descritos por Abreu-Grobois y Beardmore (1980), Abreu-Grobois (1983), y Correa y de la Rosa-Vélez (1996). Los sistemas enzimáticos estudiados fueron leucin-aminopeptidasa (Lap, E.C. 3.4.1.1), fosfoglucomutasa (Pgm, E.C. 2.7.5.1) y glucosa-fosfato-isomerasa (Gpi, E.C. 5.3.1.9). Los sistemas amortiguadores fueron tris-EDTA-borato pH 8.6 (Abreu-Grobois 1983, Correa y de la Rosa-Vélez 1996) para Lap y Pgm; y tris-citrato/borato-hidróxido (gel pH 8.7/electrodo pH 8.2) (Poulik 1957, Abreu-Grobois 1983) para Gpi. Se empleó la designación alélica A y B, para referirse a la secuencia de alelos que alcanzan la mayor distancia al ánodo desde el origen.

Se usaron los programas para computadora Biosys-1 (Swofford y Selander 1989) y Genepop (Raymond y Rousset 1994) para analizar los datos. Ambos programas aportan los principales estimadores genéticos, tales como la heterocigosis esperada (He) y el estimador de deficiencia o exceso de heterocigosis (D). Con el programa Genepop se realizó la prueba exacta de Fisher empleando el método en cadena de Markov para elaborar las tablas de contingencia RxC. Estas pruebas se usan para comparar estadísticamente las frecuencias alélicas entre las subpoblaciones. La prueba de Tukey de no aditividad e interactivo del análisis multifactorial se usó para probar la existencia de un efecto sinérgico entre los factores y la composición alélica por locus, empleando el paquete estadístico informático Statgraphics 4.0.

Con un microscopio estereoscópico dotado de reglilla ocular micrométrica con precisión de 0.01 mm, se midió la longitud total y la tasa de crecimiento de 30 organismos de cada subpoblación para determinar la existencia

de una posible correlación con la variabilidad genética. Estos organismos habían sido preservados previamente en una solución que evita la deformación de los organismos (Correa y Bückle 1993). Los datos fueron analizados usando la prueba múltiple de rangos del análisis de varianza mutifactorial al 95%.

RESULTADOS

En casi todas las subpoblaciones de *A. franciscana* estudiadas en este trabajo, las frecuencias genotípicas halladas no están en equilibrio Hardy-Weinberg. Se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) en los loci Lap-2 y Lap-3, y Pgm ($p < 0.01$), y en Gpi en las subpoblaciones 3 y 5 ($p < 0.05$) y 7 ($p < 0.001$) (Cuadro 1). Las subpoblaciones 1 y 4 para Lap-2; 1, 3, 4 para Lap-3; y 2, 7 para Pgm mostraron valores de deficiencia de heterocigotos (D) de -1.000 (Cuadro 1), lo que equivale a una ausencia total de heterocigotos. Es interesante resaltar que para Pgm los valores de D varían entre las subpoblaciones, desde un exceso significativo de heterocigotos de 0.541 ($p < 0.01$) para la subpoblación 3, a una deficiencia de heterocigotos en el caso de las subpoblaciones 2 y 7 ($p < 0.05$). Un patrón similar se observa en Gpi, pero sin alcanzar una deficiencia total de heterocigotos (Cuadro 1). Los valores de D en este locus varían desde un exceso significativo ($p < 0.001$) de 0.741 para la subpoblación 7, a una deficiencia de heterocigotos no significativa ($p < 0.05$) de -0.088 para la subpoblación 4.

Cuando se emplea la prueba exacta de Fisher, se observa que para Lap-2 (Cuadro 2) y los pares de subpoblaciones 1-7, 1-8, 2-7, 2-8, 5-7, 5-8, la hipótesis nula de la variación alozímica entre las subpoblaciones es rechazada. Para el resto de las comparaciones, la hipótesis nula es aceptada. Para el locus Lap-3 (Cuadro 2) la hipótesis nula se rechazó ($p < 0.05$) solamente para las subpoblaciones 3-4, 3-8, 4-5, y 5-8. La hipótesis nula es rechazada en el 50% de las comparaciones para Pgm (Cuadro 2). Para Gpi (Cuadro 2) la hipótesis nula se recha-

zó para las subpoblaciones 1-3 y 1-5. Sin embargo, el análisis de varianza multifactorial no aditivo e interactivo de Tukey mostró que no existen diferencias significativas ($F_{0.05,1,1}$) entre la variación alozímica de cada loci y las subpoblaciones.

Los organismos alimentados con *Dunaliella* sp. a 30°C y 30 ppm alcanzaron la máxima longitud, y manifestaron una tasa de crecimiento mayor en relación al resto de las subpoblaciones (Cuadro 3). Aquellos alimentados con *Spirulina* sp. a 30°C y 30 ppm registraron los valores más bajos de crecimiento, de longitud total y en porcentajes de sobrevivencia. El mayor porcentaje de sobrevivencia se registró con *Dunaliella* sp. a 22°C y 60 ppm. Al considerar la longitud total alcanzada, la comparación múltiple de rangos registró cuatro grupos homogéneos, $A > B > C > D$, de mayor a menor longitud, respectivamente. El análisis de varianza multifactorial de no aditividad e interactivo mostró la ausencia de factores únicos o combinados que influyan en el registro de diferencias significativas ($F_{0.05,1,1}$) entre las subpoblaciones y las longitudes totales alcanzadas.

DISCUSIÓN

Las deficiencias significativas de heterocigotos observadas en este estudio pueden ser debidas a diversos fenómenos tales como la presencia de alelos nulos, apareamiento no al azar, problemas de registro de genotipos y al efecto Wahlund. No existe evidencia de alelos nulos en el presente estudio o en otros estudios genéticos de poblaciones de *Artemia* spp. La dinámica hidrológica y eólica en las lagunas hipersalinas facilita que los organismos se desplacen distancias considerables durante su ciclo de vida (Montaño y Bückle 1996) y, por lo tanto, el apareamiento al azar es muy probable. Problemas técnicos tampoco pueden explicar la deficiencia de heterocigotos hallada dado que todos los genotipos esperados fueron observados en el presente estudio.

Una posible explicación para la deficiencia de heterocigotos es el efecto Wahlund. Es

CUADRO 1

Variación alélica y variabilidad genética de *Artemia franciscana* del Gran Lago Salado (Utah, EE.UU.)
cultivado en diferentes temperaturas, salinidades y alimentado con dietas diferentes

TABLE 1
Allelic variation and genetic variability of *Artemia franciscana* from Great Salt Lake (Utah, USA)
cultured under different temperatures, salinities and food regimes

Locus	Alelo	1	2	3	4	5	6	7	8
Lap-2	n	26	29	13	11	32	39	35	35
	A	0.923	0.948	0.808	0.909	0.906	0.885	0.757	0.757
	B	0.077	0.052	0.192	0.091	0.094	0.115	0.243	0.243
	He(ss)	0.145	0.100	0.323	0.173	0.173	0.207	0.373	0.373
	Ho	0.000	0.034	0.077	0.000	0.125	0.026	0.029	0.086
	D	-1.000	-0.655	-0.762	-1.000	-0.276	-0.876	-0.923	-0.770
	(X ²)	(34.043)	(18.327)	(9.143)	(21.053)	(2.881)	(33.288)	(31.396)	(21.845)
		***	***	**	***		***	***	***
Lap-3	n	34	32	29	34	39	40	39	35
	A	0.735	0.781	0.862	0.706	0.859	0.788	0.756	0.686
	B	0.265	0.219	0.138	0.294	0.141	0.213	0.244	0.314
	He(ss)	0.395	0.347	0.242	0.421	0.245	0.339	0.373	0.437
	Ho	0.000	0.063	0.000	0.000	0.026	0.125	0.026	0.057
	D	-1.000	-0.820	-1.000	-1.000	-0.896	-0.631	-0.931	-0.869
	(X ²)	(35.654)	(22.906)	(32.653)	(35.476)	(34.030)	(16.775)	(35.390)	(27.491)
		***	***	***	***	***	***	***	***
Pgm	n	14	8	29	23	21	16	7	12
	A	1.000	0.750	0.638	0.391	0.857	0.406	0.714	0.458
	B	0.000	0.250	0.362	0.609	0.143	0.594	0.286	0.542
	He(ss)	0.000	0.400	0.470	0.487	0.251	0.498	0.440	0.518
	Ho	0.000	0.000	0.724	0.174	0.190	0.188	0.000	0.083
	D	—	-1.000	0.541	-0.643	-0.241	-0.623	-1.000	-0.839
	(X ²)	—	(10.182)	(8.829)	(9.983)	(1.431)	(6.668)	(8.889)	(9.231)
			**	**	**	**	**	**	
Gpi	n	24	24	24	24	24	24	24	22
	A	0.729	0.625	0.500	0.563	0.500	0.563	0.563	0.659
	B	0.271	0.375	0.500	0.438	0.500	0.438	0.438	0.341
	He(ss)	0.403	0.479	0.511	0.503	0.511	0.503	0.503	0.460
	Ho	0.542	0.500	0.750	0.458	0.750	0.625	0.875	0.591
	D	0.343	0.044	0.469	-0.088	0.469	0.243	0.741	0.285
	(X ²)	(3.015)	(0.050)	(5.503)	(0.195)	(5.503)	(1.486)	(13.761)	(1.894)
			*		*		***		
Número de individuos analizados (d.e.)	24.5 (4.1)	23.3 (5.3)	23.8 (3.8)	23.0 (4.7)	29.0 (4.1)	29.8 (5.9)	26.3 (7.2)	26.0 (5.6)	
Valor promedio de alelos por locus (e.e.)	1.8 (0.3)	2.0 (0.0)							
Ho (e.e.)	0.135 (0.135)	0.149 (0.118)	0.388 (0.202)	0.158 (0.108)	0.273 (0.163)	0.241 (0.132)	0.232 (0.214)	0.204 (0.129)	
He (e.e.)	0.236 (0.099)	0.331 (0.082)	0.386 (0.063)	0.396 (0.076)	0.295 (0.074)	0.387 (0.071)	0.422 (0.031)	0.447 (0.030)	

1 = 22°C-30 ppm-*Dunaliella* sp.; 2 = 22°C-60 ppm-*Dunaliella* sp., 3 = 30°C-30 ppm-*Dunaliella* sp., 4 = 30°C-60 ppm-*Dunaliella* sp., 5 = 22°C-30 ppm-*Spirulina* sp., 6 = 22°C-60 ppm-*Spirulina* sp., 7 = 30°C-30 ppm-*Spirulina* sp., 8 = 30°C-60 ppm-*Spirulina* sp. A y B = alelos; He(ss) = heterocigosis sin sesgo; Ho = heterocigosis observada; D = deficiencia de heterocigosis; e.e. = error estándar; d.e. = desviación estándar; * p = 0.95, ** p = 0.99, *** p = 0.999. Todos los valores de X² tienen 1 grado de libertad.

CUADRO 2

Matriz de probabilidades de la hipótesis nula del Lap-2, Lap-3, Pgm y Gpi-1 y las subpoblaciones. (H_0 = no existen diferencias entre la variación del locus y las subpoblaciones ($\alpha > 0.05$ H_0 es aceptada; $\alpha < 0.05$ H_0 es rechazada) mediante la prueba exacta de Fisher en tablas de contingencia usando el método concatenado de Markov

TABLE 2

Probability matrix of null hypothesis of Lap-2, Lap-3, Pgm, and Gpi-1, and the subpopulations. (H_0 = no differences between the locus variation and the subpopulations ($\alpha > 0.05$ H_0 is accepted; $\alpha < 0.05$ H_0 is rejected) by mean Fisher test on contingency tables using Markov chain method

Lap-2	2	3	4	5	6	7	8
1	0.7040	0.15404	1.0000	1.0000	0.56112	0.02746	0.02554
2		0.10202	0.61088	0.49718	0.23918	0.00368	0.00280
3			0.43328	0.28016	0.32592	0.78672	0.79218
4				1.0000	1.0000	0.23324	0.22038
5					0.78768	0.03624	0.03300
6						0.05474	0.05560
7							1.0000
Lap-3	2	3	4	5	6	7	8
1	0.55222	0.12462	0.84760	0.09632	0.57104	0.84878	0.58136
2		0.34700	0.41858	0.27484	1.0000	0.84326	0.24890
3			0.04776	1.0000	0.37616	0.13440	0.02060
4				0.02326	0.25976	0.57886	0.85138
5					0.30612	0.14800	0.01574
6						0.70498	0.19756
7							0.36336
Pgm	2	3	4	5	6	7	8
1	0.01278	0.00000	0.00000	0.07746	0.00000	0.00882	0.00000
2		0.55230	0.01960	0.43902	0.03422	1.0000	0.10294
3			0.01852	0.02582	0.04868	0.75928	0.14192
4				0.00002	1.0000	0.0646	0.61730
5					0.00008	0.24902	0.00184
6						0.09838	0.78992
7							0.17906
Gpi-1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.37978	0.03876	0.12700	0.03610	0.13782	0.13666	0.50368
2		0.31170	0.67290	0.30712	0.68494	0.67576	0.82444
3			0.68016	1.0000	0.68538	0.68474	0.13642
4				0.68496	1.0000	1.0000	0.39892
5					0.67902	0.67884	0.13970
6						1.0000	0.40170
7							0.39672

El principio de la prueba es examinar la independencia entre las subpoblaciones y la composición alélica. 1 = 22°C-30 ppm-*Dunaliella* sp., 2 = 22°C-60 ppm-*Dunaliella* sp., 3 = 30°C-30 ppm-*Dunaliella* sp., 4 = 30°C-60 ppm-*Dunaliella* sp., 5 = 22°C-30 ppm-*Spirulina* sp., 6 = 22°C-60 ppm-*Spirulina* sp., 7 = 30°C-30 ppm-*Spirulina* sp., 8 = 30°C-60 ppm-*Spirulina* sp.

muy probable que los quistes comerciales empleados en el presente estudio provengan de diferentes subpoblaciones, los cuales han sido producidos por distintas generaciones y se han acumulado a través del tiempo en el Gran La-

go Salado. Esta acumulación de quistes en los márgenes de las salinas se ha observado en otros cuerpos de agua donde ocurre *A. franciscana* (Montaño y Bückle 1996); sin embargo, su análisis desde el punto de vista genético, no

CUADRO 3

Porcentaje de sobrevivencia, longitud total promedio (L.t.), tasa de crecimiento promedio (T.c.) y heterocigosis observada (Ho) de *Artemia franciscana* del Gran Lago Salado (Utah, EE.UU.) cultivado en diferentes temperaturas, salinidades y alimentado con distintas dietas

TABLE 3

Survival percentages, total mean lengths (L.t.), growth mean rate (T.c.), and observed heterozygosis (Ho) of *Artemia franciscana* from Great Salt Lake (Utah, USA) cultured under different temperatures, salinities and food regimes

	1	2	3	4	5	6	7	8
% Sobrevivencia	28.8	44.1	28.3	38.6	14.3	28.2	9.7	19.6
L.t. (mm)	5.70 (C)	6.49 (B)	7.08 (A)	6.44 (B)	7.05 (A)	6.73 (A,B)	4.78 (D)	4.98 (D)
T.c. (mm d ⁻¹)	0.19	0.23	0.68	0.60	0.27	0.25	0.18	0.23
Ho (e.e.)	0.135 (0.135)	0.149 (0.118)	0.388 (0.202)	0.158 (0.108)	0.273 (0.163)	0.241 (0.132)	0.232 (0.214)	0.204 (0.129)

1 = 22°C-30 ppm-*Dunaliella* sp., 2 = 22°C-60 ppm-*Dunaliella* sp., 3 = 30°C-30 ppm-*Dunaliella* sp., 4 = 30°C-60 ppm-*Dunaliella* sp., 5 = 22°C-30 ppm-*Spirulina* sp., 6 = 22°C-60 ppm-*Spirulina* sp., 7 = 30°C-30 ppm-*Spirulina* sp., 8 = 30°C-60 ppm-*Spirulina* sp. A, B, C, y D = grupos homogéneos a p = 0.95; e.e. = error estándar.

se ha abordado. En este aspecto, el efecto Wahlund no se ha mencionado ni discutido en otros estudios como los de Abreu-Grobois y Beardmore (1980, 1982), Beardmore y Abreu-Grobois (1983), Abreu-Grobois (1983, 1987), Pedrosa (1995), Correa y de la Rosa-Vélez (1996) quienes han trabajado tanto con quistes comerciales como silvestres. Inclusive los quistes silvestres, los cuales se acumulan en los márgenes del lago a través del tiempo, son producto de varias generaciones.

Hasta aquí se ha tratado de explicar la deficiencia de heterocigotos, pero aún falta aclarar las diferencias en las frecuencias alélicas observadas en las diferentes subpoblaciones. A continuación se expone una explicación donde se pretende entender estos resultados.

Los individuos heterocigotos tienen gran capacidad de resistir perturbaciones debidas a cambios ambientales (Hawkins *et al.* 1988, Correa *et al.* 1998). Sin embargo, de acuerdo con Hilbish y Kohen (1985), las diferencias encontradas en las frecuencias alélicas en al-

gunos loci y en los grados de heterocigosis observada, pueden deberse al desempeño metabólico del organismo dentro de cada condición experimental. En el presente estudio, para las diferentes frecuencias alélicas y los distintos grados de deficiencia de heterocigotos registrados en Gpi, Pgm y Lap-3, existen dos posibles explicaciones. En primer lugar, es posible que estos organismos sean el producto de la sobrevivencia selectiva en las distintas condiciones ambientales de cultivo. Para los organismos alimentados con *Dunaliella* sp. y *Spirulina* sp., la sobrevivencia media fue aproximadamente de 35% y 18%, respectivamente. En segundo lugar, puede darse un simple efecto debido al azar, sin embargo, ésta probabilidad disminuye debido al número de organismos analizados para cada loci.

Al considerar una posible correlación entre la variabilidad genética y las características fenotípicas, hay que hacer la observación de que los individuos de la subpoblación con un mayor grado de heterocigosis observada a

30°C y 30 ppm de salinidad y alimentados con *Dunaliella* sp., mostraron la longitud total más grande y la tasa de crecimiento mayor. La sobrevivencia más alta fue a 22°C y 60 ppm, alimentadas con *Dunaliella* sp. Cuando se analizan los cuatro loci por separado (Cuadro 1), se observan variaciones importantes. Para Lap-2, no se detecta ningún factor que produzca las diferencias halladas entre los niveles de heterocigotos más altos, o su ausencia. En Lap-3, una combinación de baja temperatura y alta salinidad (22°C y 60 ppm) permitió la sobrevivencia de organismos con alta heterocigosis observada y tamaños intermedios. En Pgm, la heterocigosis observada no muestra una asociación con ningún factor. Sin embargo, es importante mencionar que los grados altos de heterocigosis observada se registran en organismos de tallas más grandes, así, en Pgm es posible que sea más eficiente en la forma heterocigota. Para Gpi se observan mayores grados de heterocigosis asociados a altas temperaturas y bajas salinidades. Estos resultados pueden señalar un probable efecto sinérgico entre las diferentes salinidades y temperaturas en la sobrevivencia de organismos heterocigotos en los diferentes loci.

Moon y Hochachka (1971), Graves y Somero (1982), Hochachka y Somero (1984), y Busack (1988) demostraron que existe una correlación entre la temperatura y salinidad ambientales y las frecuencias alélicas y genotipos de diferentes poblaciones y subpoblaciones en un pez de la misma especie. Se ha observado que productos alélicos específicos tienen diferentes actividades catalíticas en función de la temperatura y salinidad. En el presente estudio se deduce que, al mantener una misma población bajo ocho condiciones experimentales diferentes, se registran distintos grados de heterocigosis que probablemente posibilitan a esta población desarrollar una flexibilidad fisiológica propia para adaptarse y sobrevivir.

Kohen (1985) demostró que diferentes alelos de Lap en *Mytilus* tienen diferentes cinéticas enzimáticas que inciden directamente en la producción de aminoácidos libres y, por lo tanto, en la regulación de la presión osmóti-

ca. Por ejemplo, se encontró que existe una sobrevivencia selectiva para aquellos organismos de vida oceánica que tienen determinado alelo, como es el caso de Lap⁹⁴. Este alelo específico tiene una eficiencia catalítica relativamente alta en ambientes hiperosmóticos (Kohen 1985). Además, Hoffman (1985) demuestra que en la anémona *Metridium senile*, los productos enzimáticos producidos por los diferentes genotipos de Gpi tienen diferencias en las actividades catalíticas.

A pesar de todo, Middleton y Kacser (1983) y Mitton (1997) mencionan que es difícil conocer con exactitud el efecto de un sólo locus sobre el control de las complejas vías metabólicas.

En el caso de que en trabajos futuros se encontraran diferencias cinéticas entre las enzimas de los distintos loci en *A. franciscana*, estas propiedades deben traducirse en diferencias en el metabolismo y pueden ser evidencias de que éstas contribuyen verdaderamente a una adaptación provocada selectivamente por el ambiente.

Se postula como una hipótesis, para futuros trabajos, que las alozimas que presentan polimorfismo influyen en la fisiología de *A. franciscana* del Gran Lago Salado con estas condiciones experimentales.

Este estudio demuestra que a diferentes condiciones de salinidad, temperatura y alimento se presentan distintos niveles de heterocigosis observada en los loci, en algunos casos significativamente diferentes, debidos probablemente a la selección producida en cada uno de los ambientes experimentales.

Queda por entender la vinculación de las diferencias genéticamente determinadas en el mantenimiento o conservación del metabolismo como una respuesta a distintos ambientes, aunque también está por resolverse la caracterización bioquímica de estas alozimas y la proporción en que son transmitidas a las siguientes generaciones las frecuencias genotípicas y fenotípicas. De acuerdo con lo anterior, se podrá demostrar que tales productos alozímicos tienen diferentes velocidades catalíticas, que afectan directamente las

tasas de flujo metabólico y que, por lo tanto, confieren una mejor adaptación y sobrevivencia en *A. franciscana*.

AGRADECIMIENTOS

A Thalia Castro Barrera, del Laboratorio de *Artemia* de la Universidad Autónoma Metropolitana, por la revisión crítica del manuscrito original. Nuestro agradecimiento a Petra Lenz, Wayne A. Wurtsbaugh, Francisco Amat y Ron Burton, por sus comentarios, críticas y opiniones que mejoraron sustancialmente el presente manuscrito. Este estudio fue financiado por el CONACYT (Proyecto 1942P-N9507) y la UABC (Programa 4054).

RESUMEN

Se analizó la variabilidad alozimática de cuatro loci polimórficos (Lap-2, Lap-3, Pgm y Gpi) de *Artemia franciscana* (Kellogg 1906) del Gran Lago Salado (Utah, EE.UU.), cultivada en ocho diferentes condiciones experimentales por medio de la técnica de electroforesis en gel de almidón. Los organismos fueron cultivados a partir de nauplios obtenidos de quistes hasta su estado adulto bajo un diseño experimental en el que se combinaron dos temperaturas (22 y 30°C), dos salinidades (30 y 60 ppm) y dos dietas (*Dunaliella* sp. y *Spirulina* sp.). La hipótesis nula consistió en no suponer la existencia de diferencias no genéticas entre los grupos, procedentes de una misma población aunque cultivada bajo diferentes condiciones ambientales. Los resultados muestran que existen diferencias significativas en las frecuencias de los alelos en cada locus analizado, y que el promedio de la heterocigosis esperada (He) varió de 0.236 a 0.447. Por lo tanto, la hipótesis nula es rechazada. La posible correlación entre la variabilidad genética y las características fenotípicas se deduce de un probable efecto sinérgico entre las salinidades y temperaturas sobre la sobrevivencia de los organismos heterocigotos en los diferentes loci.

REFERENCIAS

- Abreu-Grobois, F.A. 1983. Population genetics of *Artemia*. Ph.D. Thesis, University of Wales, Swansea, Gales. 438 p.
- Abreu-Grobois, F. 1987. A review of the genetics of *Artemia*. In P. Sorgeloos, D.A. Bengston, W. Declair & E. Jaspers (eds.). *Artemia* research and its applications. Vol. 1. Morphology, genetics, strain characterization, toxicology. Universa, Wetteren, Bélgica.
- Abreu-Grobois, F.A. & J.A. Beardmore. 1980. International study on *Artemia*. II. Genetic characterization of *Artemia* populations -an electrophoretic approach, p. 133-146. In G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels, & E. Jaspers (eds.). *The brine shrimp Artemia*, Vol. 1. Morphology, genetics, radiobiology, toxicology. Universa, Wetteren, Bélgica.
- Abreu-Grobois, F. & J.A. Beardmore. 1982. Genetic differentiation and speciation in the brine shrimp *Artemia*, p. 345-376. In C. Barigozzi. (ed.). *Mechanisms of speciation*. Alan R. Liss, Nueva York.
- Beardmore, J.A. & F. Abreu-Grobois. 1983. Taxonomy and evolution in the brine shrimp *Artemia*, p.153-164. In Protein polymorphism: Adaptive and taxonomic significance. Systematics Association/Academic, Londres.
- Beardmore, J.A., E.J. Pilla & K.M. Thomas. 1986. Genetic variation in *Artemia*: Speciation reproductive mode and potential for exploitation, p.157-163. In G. Gajardo & P. Coutteau (eds.). *Improvement of the commercial production of marine aquaculture species*. Proceedings of a Workshop on Fish and Mollusc Larviculture, Santiago, Chile.
- Browne, R.A. & S.T. Bowen. 1991. Taxonomy and population genetics of *Artemia*, p.221-235. In R.A. Browne, P. Sorgeloos & C.N. Trotman (eds.). *Artemia* biology. CRC, Boca Raton, Florida.
- Busack, C.A. 1988. Electrophoretic variation in the red swamp (*Procambarus clarkii*) and white river crayfish (*P. acutus*) (Decapoda: Cambaridae). *Aquaculture* 69: 211-226.
- Correa, F. & L.F. Bückle. 1993. Morfología y biometría de cinco poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae). *Rev. Biol. Trop.* 41: 103-110.
- Correa, F. & J. de la Rosa-Vélez. 1996. Allozymatic variation in three populations of *Artemia franciscana* from Mexico, p. 165-171. In G. Gajardo & P. Coutteau (eds.). *Improvement of the commercial production of marine aquaculture species*. Proceedings of a Workshop on Fish and Mollusc Larviculture, Santiago, Chile.
- Correa, F., F. Díaz, E. Sierra, L.F. Bückle, B. Barón & D. Rodríguez. 1998. Allelic and genotypic variation of leucine-aminopeptidase (Lap) and phosphoglucosmutase (Pgm) in *Procambarus clarkii* acclimated to

- different temperatures and exposed to the thermal hardening. *Cien. Mar.* 24: 283-294.
- Graves, J.E. & G.N. Somero. 1982. Electrophoretic and functional enzymic evolution in four species of eastern Pacific barracudas from different thermal environments. *Evolution* 36: 97-106.
- Hawkins, J.S., B. Bayne, A. Day, J. Rusin & C. Worrall. 1988. Genotype-dependent interrelations between energy metabolism, protein metabolism and fitness, p. 283-292. *In* J.S. Ryland & P.A. Tyler (eds.). *Reproduction, genetics and distributions of marine organisms*. Proceedings of 23rd European Marine Biology Symposium. Swansea, Gales.
- Hilbush, T.J. & R.K. Koehn. 1985. Genetic variation in nitrogen metabolism in *Mytilus edulis*: Contribution of the Lap locus, p. 497-504. *In* P.E. Gibbs (ed.). *Proceedings of the Nineteenth European Marine Biology Symposium*. Plymouth, Devon, Gales. 16-21 September, 1984, Cambridge.
- Hochachka P.W. & G.N. Somero. 1984. *Biochemical adaptation*. Princeton University, Princeton, Nueva Jersey. 537 p.
- Hoffmann, R.J. 1985. Thermal adaptation and the properties of phosphoglucose isomerase allozymes from a sea anemone, p. 505-514. *In* P.E. Gibbs (ed.). *Proceedings of the Nineteenth European Marine Biology Symposium*. Plymouth, Devon, Gales. 16-21 September, 1984, Cambridge.
- Kohen, R.K. 1985. Adaptive aspects of biochemical and physiological variability, p. 425-441. *In* P.E. Gibbs (ed.). *Proceedings of the Nineteenth European Marine Biology Symposium*. Plymouth, Devon, Gales. 16-21 September, 1984, Cambridge.
- Maqueda, M. 1990. Variación genética intrapoblacional y grado de diferenciación interpoblacional del camarón azul *Penaeus stylirostris* del Golfo de California. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B. C., México. 71 p.
- Middleton, R.J. & H. Kacser. 1983. Enzyme variation, metabolic flux and fitness: Alcohol dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 105: 633-650.
- Mitton, J.B. 1997. *Selection in natural populations*. Oxford University.
- Montaño, G. & F. Bückle. 1996. Variations in some physico-chemical parameters in a hypersaline coastal lagoon of Baja California, Mexico. *Int. J. Salt Lake Res.* 4: 265-280.
- Moon, T.W. & P.W. Hochachka. 1971. Temperature and enzyme activity in poikilotherms: Isocitrate dehydrogenase in rainbow trout liver. *Biochem. J.* 123: 695-705.
- Pedrosa, R.L.M. 1995. Caracterización genética de duas populações de *Artemia* (Lagoa de La Mata e Salinas de Aveiro). Dissertação de Mestrado em Ecologia Aplicada, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Portugal. 65 p.
- Poulik, M.D. 1957. Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature* 180: 1477-1479.
- Raymond, M. & F. Rousset. 1994. Genepop (versión 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* 83: 239.
- Sorgeloos, P., P. Léger, P. Lavens, W. Tackaert & D. Versichele. 1986. *Manual for the culture and use of the brine shrimp Artemia in aquaculture*. *Artemia Reference Center*, State University of Ghent, Bélgica. 319 p.
- Swofford, D. & R. Selander. 1989. Biosys-1: A fortran program for the comprehensive analysis for electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Heredity* 72: 281-283.
- Vanhaecke, P., S. Siddall & P. Sorgeloos. 1984. International study on *Artemia*. XXXII. Combined effects of temperature and salinity on the survival of *Artemia* of various geographical origin. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 80: 259-275.