

**VARIACIÓN ELECTROFORÉTICA ENTRE LAS POBLACIONES  
CENTRAL Y SUREÑA DE LA ANCHOVETA *Engraulis mordax* GIRARD 1854  
(ENGRAULIDAE, PISCES) DE BAJA CALIFORNIA, MÉXICO**

**ELECTROPHORETIC VARIATION BETWEEN THE CENTRAL AND  
SOUTHERN POPULATIONS OF THE NORTHERN ANCHOVY  
*Engraulis mordax* GIRARD 1854 (ENGRAULIDAE, PISCES)  
FROM BAJA CALIFORNIA, MEXICO**

Píndaro Díaz-Jaimes

Manuel Uribe-Alcocer\*

Enrique Ayala-Duval<sup>†</sup>

Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos  
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Apartado postal 70-305  
04510 México, DF

\* E-mail: muribe@mar.icmyl.unam.mx

*Recibido en julio de 1998; aceptado en junio de 1999*

**RESUMEN**

Se identificaron marcadores genéticos distintivos de las poblaciones central y sureña de la anchoveta *Engraulis mordax* por medio de técnicas electroforéticas. Se realizaron tres recolecciones en Ensenada, Baja California, como muestras de la población central, y una en Puerto San Carlos, Baja California Sur, de la población del sur. Aunque las separaciones electroforéticas en geles de poliacrilamida de las hemoglobinas no mostraron diferencias poblacionales, se encontró que los sistemas de proteínas totales de músculo y las parvalbúminas muestran algunas bandas exclusivas de una u otra población y que el estadístico  $F_{ST}$  de los loci polimórficos de las estereras estudiados muestran diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias encontradas pueden ser útiles como marcadores genéticos y marcan la pauta para profundizar en los estudios de dinámica de poblaciones, sobre los que se pueden sustentar el manejo de este valioso recurso pesquero.

*Palabras clave:* anchoveta, *Engraulis mordax*, marcadores genéticos, poblaciones, pesquerías.

**ABSTRACT**

Distinctive genetic markers of the central and southern populations of the northern anchovy *Engraulis mordax* were sought by electrophoretic techniques. Three samples of the central population

---

<sup>†</sup> Adscripción actual: Departamento de Hidrobiología, DCBS, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Apartado postal 55-532, 09340 México, DF.

were collected in Ensenada, Baja California, and one of the southern population in Puerto San Carlos, Baja California Sur. Although the electrophoretic separation of the hemoglobins in polyacrilamide gels were identical in both populations, the  $F_{ST}$  of the esterases loci showed significant differences between them, and the proteins of the muscle extract as well as the parvalbumins yielded some bands that were exclusive to one population or the other. These bands might prove useful as genetic markers in studies of population dynamics on which the management of this valuable fishery resource can be based.

*Key words:* anchovy, *Engraulis mordax*, genetic markers, populations, fisheries.

## INTRODUCCIÓN

La anchoveta *Engraulis mordax* es un pez pelágico con amplia distribución en el Pacífico nororiental, que va desde la costa occidental de Baja California en México, a través de Estados Unidos, hasta Colombia Británica en Canadá. Su pesquería logró incrementos anuales constantes hasta lograr cuotas de captura importantes, que en México alcanzaron hasta un 20% de las capturas totales de peces en 1980 y en 1981, año en que se pescaron 367,000 t, para disminuir notoriamente en los años siguientes hasta llegar a menos de 1000 t en 1990, 1991, 1993 y 1994, y mostrar cierta recuperación para llegar a casi 10,000 t en 1996 y a 16,774 t en 1995 (Fiedler *et al.*, 1986; Secretaría de Pesca, 1987a, b; García-Franco *et al.*, 1995; Vidal-Talamantes, 1995).

Existen diferentes hipótesis sobre la variación de la abundancia de la especie. Fiedler *et al.* (1986), mediante el análisis de parámetros poblacionales de la anchoveta, consideran relevante la influencia de la modificación de la temperatura y la dinámica de las masas de agua de la región causadas por El Niño. Se ha señalado también que por efecto de la sobrexplotación, se ha dado una reducción en las tallas de captura y la desestabilización de la estructura de edades dada la dependencia que tiene la proporción de sexos respecto a la edad (Escudero, 1984; Parrish *et al.*, 1986). Recientemente, estudios de sedimentos fósiles marinos han mostrado evidencia de que la alternancia de la abundancia entre la anchoveta y la sardina *Sardinops sagax* tiene historia milenaria (Baumgartner *et al.*, 1992).

El desconocimiento de la estructura poblacional puede jugar un importante papel en el

## INTRODUCTION

The northern anchovy *Engraulis mordax* is a pelagic fish of the northeastern Pacific. Its distribution extends from the west coast of Baja California, Mexico, along the United States, to British Columbia, Canada. Constant annual increases in its fishery in Mexico represented 20% of the total fish catches in 1980 and in 1981, when 367,000 t were caught. There was a notable decrease during the following years, with catches of less than 1000 t in 1990, 1991, 1993 and 1994, that later increased to almost 10,000 t in 1996 and 16,774 t in 1995 (Fiedler *et al.*, 1986; Secretaría de Pesca, 1987a, b; García-Franco *et al.*, 1995; Vidal-Talamantes, 1995).

There are different hypotheses on the variation of the abundance of this species. Fiedler *et al.* (1986) analyzed the population parameters of the anchovy, and found that changes in temperature and the dynamics of the water masses of the region caused by El Niño have relevant influence. The effects of overfishing have also been shown to reduce catch sizes and destabilize the age structure, due to the dependence between the sex ratio and age (Escudero, 1984; Parrish *et al.*, 1986). Recent studies of marine fossil sediments provide evidence of alternative abundance between the anchovy and the sardine *Sardinops sagax* over thousands of years (Baumgartner *et al.*, 1992).

If the population structure of a resource is not known, its fishery may collapse, since the differences in the life histories of the subpopulations frequently lead to overestimates of stock size and the consequent overfishing. The understanding of the contribution of genetic factors to stock

colapso de las pesquerías, pues las diferencias en las historias de la vida de las subpoblaciones frecuentemente propician la sobrestimación del tamaño de las unidades pesqueras o *stocks* y la consecuente sobrepesca. El conocimiento de la medida en que los factores genéticos contribuyen a la formación de *stocks* es relevante para la planificación de la explotación del recurso, ya que su reconocimiento como unidades de pesca independientes puede lograr evitar la pérdida de características poblacionales importantes y la conservación de su patrimonio genético.

Las diferencias genéticas presentes en las poblaciones pueden proporcionar un marco de referencia útil para la ratificación o rectificación, en su caso, de los resultados de los estudios morfométricos y merísticos frecuentemente utilizados para el conocimiento de la estructura de las poblaciones de peces, ya que se ha detectado variabilidad de origen ambiental en las características estimadas mediante estos estudios (Mayr, 1969, citado por Allendorf *et al.*, 1987; Ihssen *et al.*, 1981). Por ello, la utilización de estudios electroforéticos para la identificación de la estructura poblacional de varias especies de peces de diferentes géneros (Sodsuk *et al.*, 1995; Macaranas *et al.*, 1996; Engelbrecht y van der Bank, 1997) y del género *Engraulis* en particular (Altukov *et al.*, 1969; Fujio y Kato, 1979; Grant, 1985; Spanakis *et al.*, 1989; Oezdamar *et al.*, 1994; Bembo *et al.*, 1996), ha sido abundante, debido a la relevancia de los datos que generan y a la relativa facilidad de su obtención.

McHugh (1951), basado en estudios morfométricos y merísticos, determinó la existencia de tres poblaciones de la anchoveta *E. mordax*, correspondientes a áreas específicas de su distribución en la región del Pacífico nororiental: la población del norte, la central y la del sur. Spratt (1972), por medio del estudio de las relaciones entre el peso de los otolitos y la longitud estándar, y Vrooman *et al.* (1981), mediante estudios electroforéticos de las transferrinas, confirmaron esta subdivisión (fig. 1).

Estudios de la dinámica poblacional (Gallardo-Cabello, 1985; Parrish *et al.*, 1986;

formation is imperative for planning the fishery of the resource. If they are treated as independent stocks, relevant population characters and their genetic pool may be conserved.

The genetic differences present in populations can provide a useful frame of reference to ratify or rectify the results of morphometric and meristic studies frequently used to determine the structure of the fish populations, since variability due to environmental factors has been detected in the characters evaluated with these studies (Mayr, 1969, in Allendorf *et al.*, 1987; Ihssen *et al.*, 1981). Due to the relevant data obtained with electrophoretic studies and the relative ease with which they are obtained, these surveys have been widely used to identify the population structure of various fish species of different genera (Sodsuk *et al.*, 1995; Macaranas *et al.*, 1996; Engelbrecht and van der Bank, 1997) and, in particular, of the genus *Engraulis* (Altukov *et al.*, 1969; Fujio and Kato, 1979; Grant, 1985; Spanakis *et al.*, 1989; Oezdamar *et al.*, 1994; Bembo *et al.*, 1996).

McHugh (1951), based on morphometric and meristic studies, established three populations of the northern anchovy *E. mordax*, corresponding to specific areas of its distribution in the northeastern Pacific: the northern, central and southern populations. This subdivision (fig. 1) was confirmed by Spratt (1972), who studied the relationship between otolith weight and standard length, and Vrooman *et al.* (1981), who conducted electrophoretic studies on transferrins.

Heterogeneity in the central population has been established through studies on population dynamics (Gallardo-Cabello, 1985; Parrish *et al.*, 1986; Gallardo-Cabello and Chiappa-Carrara, 1990), on the relationship between fish size and otolith size (Chiappa-Carrara and Gallardo-Cabello, 1992) and on genetic characteristics (Hedgecock *et al.*, 1989, 1994). Parrish *et al.* (1985) detected entities with a certain degree of differentiation within this population. The southern population has been the least studied of the three, particularly from a genetic standpoint. The

Gallardo-Cabello y Chiappa-Carrara, 1990), de la relación entre el tamaño del pez y de los otolitos (Chiappa-Carrara y Gallardo-Cabello, 1992), así como de características genéticas de la población central (Hedgecock *et al.*, 1989, 1994), han puesto en evidencia cierta heterogeneidad dentro de ésta y Parrish *et al.* (1985) han detectado la existencia de entidades con cierto grado de diferenciación en su interior. La población sureña ha sido la menos estudiada de las tres, particularmente desde el punto de vista genético. La comparación de los cariotipos de las poblaciones central y sureña de la anchoveta *E. mordax* ha mostrado, por otra parte, que la diversificación genética encontrada en otros estudios no se ha manifestado en la modificación en el número y en la estructura de los cromosomas (Uribe-Alcocer *et al.*, 1996).

Resulta necesario, por tanto, profundizar en la estructura de las poblaciones de la anchoveta *E. mordax* presentes en México, la sureña y la central, mediante el conocimiento de sus elementos genéticos, para aportar conocimientos que sustenten una administración adecuada del recurso. Por esta razón, el presente estudio pretende iniciar la comparación entre estas poblaciones presentes en las costas de la península de Baja California, mediante la búsqueda de variaciones electroforéticas de algunas proteínas, que sirvan como base para distinguirlas con mayor precisión y para profundizar en la situación de las unidades pesqueras o *stocks* de las costas mexicanas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La recolección de organismos de las muestras correspondientes a la población central se realizó en Ensenada, Baja California, y la de la población del sur, en Puerto San Carlos, Baja California Sur (fig. 1). Se recolectaron 251 organismos, de los cuales 151 correspondieron a tres recolecciones hechas en Ensenada en mayo (E1), octubre (E2) y noviembre (E3) de 1989, de las embarcaciones de pesca deportiva que los utilizan como carnada. En Puerto San Carlos, en noviembre de 1989, las muestras se obtuvieron de embarcaciones atuneras vareras. El número de individuos estudiados

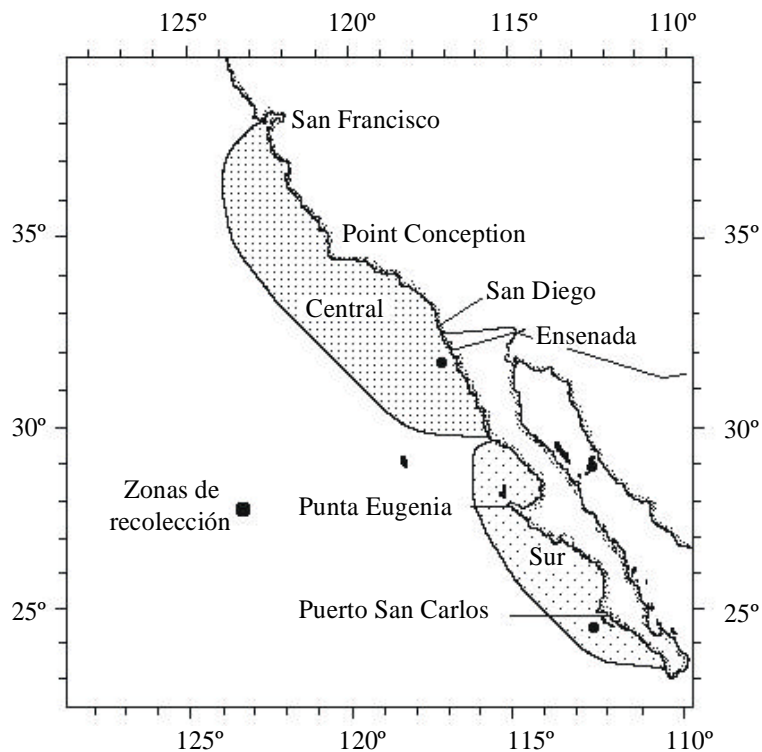
karyotypic comparison of the central and southern populations of the northern anchovy *E. mordax* has shown that the genetic diversification found in other studies is not reflected in a modification of the number nor the structure of chromosomes (Uribe-Alcocer *et al.*, 1996).

A detailed description of the structure of the populations of the northern anchovy, *E. mordax*, in Mexico, the southern and central populations, based on their genetic elements, is needed so that this information can be used to properly manage the resource. This study compares the populations present on the coast of the peninsula of Baja California, using electrophoretic variations of some proteins that might provide a database for a more precise distinction and a better understanding of the stock situation on the coasts of Mexico.

## MATERIALS AND METHODS

The organisms collected from Ensenada, Baja California, correspond to the central population and those from Puerto San Carlos, Baja California Sur, to the southern population (fig. 1). A total of 251 organisms were collected. Of these, 151 correspond to three samplings made in Ensenada in May (E1), October (E2) and November (E3) of 1989, of sport fishing boats that use them for bait. The samples from Puerto San Carlos were obtained in November 1989, from tuna baitboats. The number of specimens studied from each sample appears in table 1. The justification of the collection sites for the samples of the central and southern populations is presented by Uribe-Alcocer *et al.* (1996). Hemoglobin analysis required organisms to be collected live so that fresh blood can be extracted. It was not always possible to record the standard length of each organism collected.

The organisms collected were kept on ice until freezing at  $-20^{\circ}\text{C}$ . They were transported in an ice-chest to the Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos of the Instituto de Ciencias del Mar y Limnología of the UNAM, where the muscle tissue was dissected and immediately



**Figura 1.** Áreas de distribución de las poblaciones de la anchoveta del norte *Engraulis mordax* propuestas por Vrooman *et al.* (1981) en la región del Pacífico nororiental. Se señalan las zonas donde fueron realizadas las recolecciones de las poblaciones central y sureña.

**Figure 1.** Distribution areas of the populations of the northern anchovy *Engraulis mordax* proposed by Vrooman *et al.* (1981) for the region of the northeastern Pacific. The sampling areas of the central and southern populations are indicated.

de cada una de las muestras aparece en la tabla 1. La justificación de los sitios de recolección para las muestras de las poblaciones central y sureña ha sido presentada por Uribe-Alcocer *et al.* (1996). Con el propósito de estudiar las hemoglobinas, los organismos debieron ser recolectados vivos a fin de poder extraer sangre fresca. No en todos los casos fue posible el registro de la longitud estándar de cada organismo recolectado.

Los organismos recolectados fueron mantenidos en hielo, antes de ser congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$ , y transportados en una hielera hasta el Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos

processed. Studies were conducted on the esterases of the skeletal muscle, eyes, heart and blood serum, extracted with Tris-glycine buffer, pH 8.9, and identified with  $\alpha$ - and  $\beta$ -naphthyl acetate as enzymatic substrate by incubating the polyacrylamide gels in the dark at room temperature (Díaz-Jaimes and Uribe-Alcocer, 1992).

The parvalbumins and hemoglobins were processed according to the techniques described by Uribe-Alcocer *et al.* (1989). Satisfactory results were obtained by placing the tissue samples in Tris-glycine buffer solution, pH 8.9, for 48 hours at  $4^{\circ}\text{C}$  in order to achieve diffusion of the proteins in the solution, which were then submitted

del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, donde el tejido muscular fue extraído y procesado inmediatamente. Se estudiaron las esterasas de músculo esquelético, ojos, corazón y suero sanguíneo, extraídos con amortiguador Tris-glicina, pH 8.9, e identificadas con  $\alpha$  y  $\beta$ -naftil acetato como sustrato enzimático mediante la incubación de los geles de poliacrilamida en oscuridad y a temperatura ambiente (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 1992).

La obtención de parvalbúminas y hemoglobinas se hizo de acuerdo con las técnicas descritas por Uribe-Alcocer *et al.* (1989). Se obtuvieron resultados satisfactorios al introducir las muestras de los tejidos a analizar en solución amortiguadora de Tris-glicina, pH 8.9, durante 48 horas a 4°C para lograr la difusión de las proteínas en la solución y ser sometidas a electroforesis inmediatamente. La técnica electroforética utilizada fue la reportada por Fehrström y Moberg (1977) en geles de poliacrilamida al 10% con un sistema de amortiguadores constituido de Tris-glicina, pH 8.9, para el ánodo y Tris-HCl, pH 8.1, para el cátodo. Los corrimientos se realizaron en un equipo LKB Multiphor 2117 durante una hora y media a 4°C y a 45 mA y 280 V.

Los patrones electroforéticos del extracto de músculo y parvalbúminas se analizaron en un primer acercamiento mediante la evaluación de la presencia/ausencia de las bandas presentes en las poblaciones estudiadas y, posteriormente, mediante la estimación del número, la frecuencia de aparición de dichas bandas y la obtención de sus índices de similitud. La semejanza entre los patrones de proteínas individuales fue establecida por medio de un análisis de agrupamiento utilizando el índice de similitud de Jaccard (Crisci y López-Armengol, 1983) mediante el programa NTSYS-pc (Rohlf, 1989). Posteriormente, se elaboraron matrices de datos basadas en las bandas detectadas que fueron operativamente consideradas como unidades taxonómicas operativas (OTUs) independientes, y en su frecuencia en cada fenotipo. Utilizando el programa SYSTAT 3.0 (1986), se calcularon los coeficientes de asociación de Sneath y Sokal (1973) para cada

inmediatamente a electroforesis. The electrophoretic technique used was that reported by Fehrström and Moberg (1977) in 10% polyacrylamide gels, with a buffer system made up of Tris-glycine, pH 8.9, for the anode and Tris-HCl, pH 8.1, for the cathode. The runs were made with a LKB Multiphor 2117 for an hour and a half at 4°C at 45 mA and 280 V.

The electrophoretic patterns of the muscle extract and parvalbumins were analyzed in a first approximation by evaluating the presence/absence of bands in the populations studied and later by estimating the number and frequency of occurrence of the bands and by obtaining their similarity indices. The similarity between the individual protein patterns was established with a cluster analysis, using the Jaccard index of similarity (Crisci and López-Armengol, 1983), with the NTSYS-pc program (Rohlf, 1989). Data matrices were made based on the bands detected, which were considered independent operative taxonomic units (OTUs), and on their frequency in each phenotype. Using the SYSTAT 3.0 (1986) program, the association coefficients of Sneath and Sokal (1973) were calculated for each pair of phenotypes, and the corresponding phenograms were obtained with a cluster analysis, using the simple linkage method (Crisci and López-Armengol, 1983).

The esterases and hemoglobins of the different tissues were analyzed by evaluating their genotypic and allelic frequencies; the genotypic frequencies were obtained in accordance with the Hardy-Weinberg model (Smith, 1970) and the differences between the expected and observed values were estimated with the  $\chi^2$  test (Cannings and Edwards, 1969), with an adjustment of the significance levels by means of the Bonferroni procedure (Ward *et al.*, 1997). A locus was considered polymorphic when the frequency of the most common allele was less than 0.95.

The observed and expected heterozygosity proportions were obtained according to Nei (1978) and the heterogeneity of the allelic frequencies between populations was estimated with Wright's (1978) fixation index  $F_{ST}$ . Nei's

par de fenotipos y, a través de un análisis de agrupamiento, se obtuvieron los fenogramas correspondientes, utilizando el método de ligamiento simple (Crisci y López-Armengol, 1983).

Las esterazas y las hemoglobinas de los diferentes tejidos se analizaron evaluando sus frecuencias genotípicas y alélicas; se obtuvieron las frecuencias genotípicas esperadas en concordancia con el modelo de Hardy-Weinberg (Smith, 1970) y las diferencias entre los valores esperados y observados fueron estimadas mediante la prueba de  $\chi^2$  (Cannings y Edwards, 1969), con un ajuste de los niveles de significancia mediante el procedimiento de Bonferroni (Ward *et al.*, 1997). Un locus se consideró polimórfico cuando la frecuencia del alelo más común fue menor que 0.95.

Se obtuvieron las proporciones de heterocigosis observadas y esperadas de acuerdo con Nei (1978) y la heterogeneidad de frecuencias alélicas entre las poblaciones se estimó mediante la obtención del índice de fijación de Wright (1978),  $F_{ST}$ . La distancia genética de Nei (1978) fue utilizada para la elaboración de agrupamientos. La heterogeneidad de frecuencias alélicas entre las poblaciones fueron evaluadas a través del estadístico  $\chi^2$ . De igual forma, la significancia de la diferencia del estadístico  $F_{ST}$  de cada población respecto de cero se probó mediante una distribución de  $\chi^2$  mediante la expresión  $\chi^2 = 2N (F_{ST}) (k-1)$ . El número de grados de libertad fue estimado mediante la expresión g.l. =  $(k-1) (l-1)$ , donde  $k$  es el número de poblaciones y  $l$  el número de alelos.

Con el propósito de verificar si las muestras eran homogéneas respecto a las clases de edad, ante la imposibilidad de examinar los otolitos o de utilizar alguna otra metodología directa para su estimación, se determinó su estructura de edad mediante la comparación de la longitud promedio de las diferentes muestras con las reportadas por Parrish *et al.* (1985) y Gallardo-Cabello y Chiappa-Carrara (1990), en las áreas de referencia.

(1978) genetic distance was used to elaborate the clusters. The heterogeneity of the allelic frequencies between the populations was evaluated with the  $\chi^2$  statistic. Likewise, the significance of the difference of the  $F_{ST}$  statistic of each population with respect to zero was proved with the  $\chi^2$  distribution using the expression  $\chi^2 = 2N (F_{ST}) (k-1)$ . The number of degrees of freedom was estimated using the expression d.f. =  $(k-1) (l-1)$ , where  $k$  is the number of populations and  $l$  is the number of alleles.

In order to verify if the samples were homogeneous with respect to age classes, the age structure was determined by comparing the average length of the different samples with those reported by Parrish *et al.* (1985) and Gallardo-Cabello and Chiappa-Carrara (1990) from the same areas, as it was not possible to examine the otoliths or use another direct procedure to estimate them.

## RESULTS

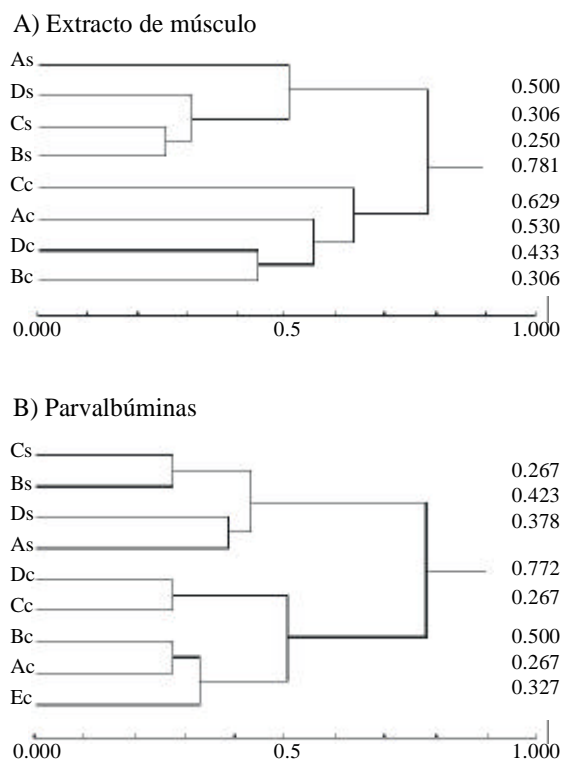
### Muscle serum and parvalbumins

Figure 2 shows the phenotypes detected, the proportions in which they occurred in the populations studied and the representative patterns of each. Eight phenotypes were determined in the total protein runs of the muscle extract: four from the central population and four from the southern population (fig. 2a). For the parvalbumins, five phenotypes were detected for the central population and four for the southern population (fig. 2b). The frequency with which each band detected in the different phenotypes appeared is shown to the right of figure 2(a, b). A total of 16 levels or protein bands were detected in the electrophoretograms from the muscle runs and 14 in the parvalbumin runs.

The cluster analysis of both systems shows a clear separation between the phenotypes found in each population (fig. 3a, b), which are divided into two groups with an association coefficient of 0.781 for the muscle extract data and 0.772 for the







**Figura 3.** Dendrogramas establecidos mediante el procedimiento de ligamiento simple con valores de distancia taxonómica, que muestran la separación entre los fenotipos de músculo (a) y parvalbúminas (b) de las poblaciones central (Ac, Bc, Cc, Dc y Ec) y sureña (As, Bs, Cs y Ds) de la anchoveta *Engraulis mordax*.

**Figure 3.** Dendrograms made with the simple linkage method using values of taxonomic distance that show the separation between the phenotypes of muscle (a) and parvalbumins (b) of the central populations (Ac, Bc, Cc, Dc and Ec) and southern populations (As, Bs, Cs and Ds) of the northern anchovy *Engraulis mordax*.

## RESULTADOS

### Suero de músculo y parvalbúminas

Los fenotipos detectados y las proporciones en que se encontraron en las poblaciones estudiadas, así como los patrones representativos de cada uno de ellos, se muestran en la figura 2. Se determinaron ocho fenotipos en los corrimientos de proteínas totales del extracto de músculo: cuatro provenientes de la muestra de la población central

parvalbumins. There is a clear correspondence between the phenotypes and the origin of the organisms analyzed.

### Esterases

The results of the esterase runs are shown in table 1. The electrophoretic patterns of this isoenzyme in the muscle tissue and eyes appear to be due to the expression of two loci, one monomorphic, *EST-2(100)*, and another polymorphic,

y cuatro de la del sur (fig. 2a). En el caso de las parvalbúminas, se detectaron cinco fenotipos en la población central y cuatro en la población sureña (fig. 2b). A la derecha de la figura 2(a, b), se presenta la frecuencia con que apareció cada banda detectada en los diferentes fenotipos. Se detectaron 16 niveles o bandas de proteínas en los electroforegramas provenientes de corrimientos de músculo y 14 en los de las parvalbúminas.

El análisis de agrupamiento de ambos sistemas muestra una clara separación entre los fenotipos encontrados en cada población (fig. 3a, b), los cuales se segregan en dos grupos con un coeficiente de asociación de 0.781 a partir de los datos del extracto de músculo y un valor de 0.772 en las parvalbúminas, que muestran una clara correspondencia entre los fenotipos y la procedencia de los organismos analizados.

#### Esterasas

Los resultados de los corrimientos de las esterazas se muestran en la tabla 1. Los patrones electroforéticos de esta isoenzima en los tejidos de músculo y ojo al parecer resultan de la expresión de dos loci, uno monomórfico, *EST-2*(100), y otro polimórfico, *EST-1*(98/100/102/103). La prueba del ajuste de las frecuencias respecto a las proporciones genotípicas esperadas bajo el modelo de Hardy-Weinberg utilizando  $\chi^2$  mostró desviación significativa aun después de haber adicionado los alelos raros al más común. La prueba de heterogeneidad de frecuencias del locus *EST-1* mostró que la distribución de las frecuencias alélicas del locus polimórfico son homogéneas ( $P < 0.05$ ).

En las muestras de tejido cardíaco se observó la presencia de un tercer locus, *EST-3*(100/102/105), con estructura monomérica, cuyas frecuencias no mostraron diferencias significativas entre ambas poblaciones. En las muestras de Ensenada se detectaron desviaciones con respecto a la distribución de Hardy-Weinberg, con deficiencia de heterocigotos ( $F = 0.4165$ ), de acuerdo con la prueba estadística de  $\chi^2$  ( $P = 0.001$ ), mientras que

*EST-1*(98/100/102/103). The goodness-of-fit test of the frequencies with respect to the expected genotypic proportions with the Hardy-Weinberg model using  $\chi^2$  showed significant deviation even after the rare alleles were added to the most common one. The test of heterogeneity of frequencies of locus *EST-1* showed that the distribution of the allelic frequencies of the polymorphic locus is homogeneous ( $P < 0.05$ ).

The heart tissue samples show the presence of a third locus, *EST-3*(100/102/105), with a monomeric structure and frequencies that do not differ significantly between both populations. Deviations were observed in the Ensenada samples with respect to the Hardy-Weinberg distribution, showing heterozygote deficiency ( $F = 0.4165$ ) according to the  $\chi^2$  test ( $P = 0.001$ ). Deviations were not detected in Puerto San Carlos.

The comparison of Wright's fixation index of the polymorphic loci *EST-1* and *EST-3* obtained from the different samples did not show significant differences at level  $\alpha = 0.05$ . However, when the  $F_{ST}$  of the sum of samples E1, E2 and E3 was compared with that of the sample from Puerto San Carlos, a significant difference was observed. Likewise, comparing the  $F_{ST}$  between pairs of populations, site E1 showed greater divergence from the others, especially from that of Puerto San Carlos.

#### Hemoglobins

The hemoglobins did not present polymorphism. Electrophoretic patterns were detected, made up of three monomorphic bands and, at times, some thin and tenuous bands considered to have resulted from degradation of the samples during processing. In studies on the hemoglobins of fish, bands accompanied by this type of "minor components" occur frequently (Chandrasekhar, 1959; Sick, 1961), due to the difficulty in preserving the proteins in good condition without affecting their mobility during handling or storage (Tsuyuki *et al.*, 1969; Sharp, 1973).

**Tabla 1.** Frecuencias alélicas de los loci de las esterases detectados en cada recolección (Ensenada [E] 1, 2 y 3, y Puerto San Carlos [PSC]) y la longitud estándar promedio de cada muestra.

**Table 1.** Allelic frequencies of the esterases loci detected in each sampling (Ensenada [E] 1, 2 and 3, and Puerto San Carlos [PSC]) and average standard length of each sample.

Locus	Alelo	Tejido		E1	E2	E3	PSC
<i>EST-1</i>		Músculo	( <i>n</i> )	69	32	37	98
	98			0.188	0.172	0.203	0.184
	100			0.717	0.547	0.662	0.617
	102			0.094	0.281	0.135	0.168
	103			---	---	---	0.031
	Ho			0.130	0.563	0.108	0.112
	He			0.441	0.592	0.502	0.556
<i>EST-2</i>		Músculo	( <i>n</i> )	66	33	37	95
	100			1.000	1.000	1.000	1.000
<i>EST-3</i>		Corazón	( <i>n</i> )	39	30	52	95
	100			0.628	0.5	0.490	0.416
	102			0.295	0.467	0.462	0.474
	105			0.077	0.033	0.048	0.111
	Ho			0.256	0.200	0.327	0.505
	He			0.512	0.531	0.544	0.591
Longitud estándar promedio							
			( <i>n</i> )	69	39	---	98
				89.42 ± 8.34 mm	105.53 ± 6.36 mm	---	97.6 ± 5.9 mm

en la de Puerto San Carlos no se detectó esta desviación.

La comparación del índice de fijación de Wright de los loci polimórficos *EST-1* y *EST-3* obtenidos de las diferentes muestras, no mostró diferencias significativas al nivel de  $\alpha = 0.05$ . No obstante, cuando se comparó el  $F_{ST}$  de las muestras E1, E2 y E3 sumadas, con el de la muestra de Puerto San Carlos, se obtuvo una diferencia significativa. De igual manera, al comparar la  $F_{ST}$  entre pares de poblaciones, la localidad E1 fue la que mostró mayor divergencia con las demás y, en especial, con la de Puerto San Carlos.

### Hemoglobinas

Las hemoglobinas no presentaron polimorfismo. Se detectaron patrones electroforéticos constituidos por tres bandas monomórficas y, en ocasiones, algunas bandas delgadas y tenues consideradas como artificios resultantes de la degradación de las muestras durante su procesamiento. En los estudios de las hemoglobinas de peces es frecuente la obtención de bandas acompañadas de este tipo de "componentes menores" (Chandrasekhar, 1959; Sick, 1961), debido a la dificultad para conservar estas proteínas en buen estado sin afectar su movilidad durante su manejo o almacenamiento (Tsuyuki *et al.*, 1969; Sharp, 1973.)

### Análisis de edad

Se detectaron diferencias significativas en las tallas promedio entre las muestras de E1 y E2 (tabla 1), lo que se consideró que podría ser causado por la existencia de distintos grupos o clases de edad (Hedgecock *et al.*, 1989) y que explicara las diferencias entre las frecuencias de las esterases; sin embargo, la estimación de la edad en cada muestra, a partir de la longitud estándar (M. Gallardo-Cabello, comunicación personal), no mostró la existencia de diferentes cohortes en las muestras estudiadas (E1, E2 y Puerto San Carlos).

### Age analysis

Significant differences were observed for the mean sizes between the E1 and E2 samples (table 1), which seemed to have been caused by the existence of different groups or age classes (Hedgecock *et al.*, 1989), and might explain the differences among the esterases frequencies in each sample; however, the age estimate of each sample based on the standard length (M. Gallardo-Cabello, personal communication) did not show the existence of different cohorts in the samples studied (E1, E2 and Puerto San Carlos).

### DISCUSSION

Some of the bands found in the runs of the muscle serum and of the parvalbumins indicate important differences between the central and southern populations, showing that there are proteins that have diverged and fixed in one of them. Due to the nature of these systems, divergence cannot be quantified in terms of the allelic or genotypic frequencies.

The esterases from the muscle extracts do not provide data that can be used as differential markers of the populations studied. The locus *EST-3*(100/102/105), detected in the heart tissue, is probably the result of gene duplication in these organisms, due to their polyploid evolution (Ohno *et al.*, 1968), manifested by distinct genetic loci in different tissues (Avice, 1975). Deviations were observed for the locus *EST-1* of the Ensenada samples with respect to the Hardy-Weinberg distribution, showing a heterozygote deficiency ( $F = 0.4165$ ) based on the  $\chi^2$  test ( $P = 0.001$ ). No deviations were observed for the Puerto San Carlos sample. The cause of the heterozygote deficiency may be found in the heterogeneity of the genetic frequencies among the different samples, which could be interpreted as a population subdivision. However, heterogeneity among the allelic frequencies of both populations was not observed in this study. There may, however, be specific adaptations to diverse microhabitats,

## DISCUSIÓN

Algunas bandas encontradas en los corrimientos del suero de músculo y de las parvalbúminas marcan diferencias importantes entre las poblaciones central y sureña por mostrar que existen proteínas que han divergido y se han fijado en una de ellas. La naturaleza de estos sistemas no permite cuantificar la divergencia a través de la determinación de las frecuencias alélicas o genotípicas.

Las estereras provenientes de los extractos de músculo no aportaron datos que puedan ser utilizados como marcadores diferenciales de las poblaciones estudiadas. El locus *EST-3*(100/102/105), detectado en tejido cardíaco, probablemente sea resultado de la duplicación de genes encontrada en estos organismos debido a su evolución por poliploidía (Ohno *et al.*, 1968) que se puede manifestar en la expresión de loci génicos distintos en diferentes tejidos (Avisé, 1975). Como en el locus *EST-1* de las muestras de Ensenada, se detectaron desviaciones con respecto a la distribución de Hardy-Weinberg, con deficiencia de heterocigotos ( $F = 0.4165$ ), de acuerdo con la prueba estadística de  $\chi^2$  ( $P = 0.001$ ), mientras que en la muestra de Puerto San Carlos no se detectó esta desviación. La causa de la deficiencia de heterocigotos pudiera encontrarse en la heterogeneidad de las frecuencias génicas entre las distintas muestras, lo que podría ser interpretado como evidencia de subdivisión poblacional. No obstante, no se detectó heterogeneidad entre las frecuencias alélicas entre las poblaciones. Sin embargo, pudieran existir adaptaciones específicas a diversos microhábitats, tales como las encontradas en *Fundulus heteroclitus* (Powers *et al.*, 1991), que hayan sido mantenidas por selección natural e incluso es probable que existan diferencias genéticas entre cardúmenes (Hedgecock *et al.*, 1994; Pitcher, 1993).

El locus *EST-1* de nuestro estudio pudiera ser equivalente al locus *EST-5* registrado por Hedgecock *et al.* (1989) en su estudio de la

such as those reported for *Fundulus heteroclitus* (Powers *et al.*, 1991), that have maintained through natural selection. There may also be genetic differences between schools (Hedgecock *et al.*, 1994; Pitcher, 1993).

Locus *EST-1* of this study could be equivalent to locus *EST-5* reported by Hedgecock *et al.* (1980) in their study of the central population. If this were the case, in this study allele *EST-1*(101) was not detected in any sample, while the authors mentioned found it only in some of their samples and with frequencies of 0.025 or lower. Both studies concur in the presence, even if eventual, of the other alleles, in the higher frequency for locus *EST-1*(100) and in the lowest for allele *EST-1*(103) in the Puerto San Carlos sample. Furthermore, there are differences in the allelic frequencies of genes *EST-1*(98), *EST-1*(100) and *EST-1*(102) that may be due to intrinsic sample characteristics, to different extraction or sample run procedures, to the fact that they were derived from different tissues or that different loci are involved.

The population differences detected in the comparison of the central and southern populations through Wright's (1978) fixation index would be difficult to use as population genetic markers. However, they can be considered as indicators of the heterogeneity present in the central stock, as well as between both populations. This should be covered in future studies that ought to include more loci and samples to better understand the nature and extent of the population diversification.

The frequency oscillations in different samples from one site and the heterozygote deficiency detected in three of the four samples (E1, E3 and Puerto San Carlos) may be due to sampling errors, to an intense selective effort, or to some intrinsic factor of the populations. Hedgecock *et al.* (1989) have reported important deviations in the frequencies of loci *LGG* and *HBDH-2* of the central population of *E. mordax*, due to an excess of heterozygotes associated with the site, sex and age. Shalkee *et al.* (1983) also detected an association between certain allelic frequencies and

población central. Si esto fuera el caso, en el presente trabajo no se detectó en ninguna muestra la presencia del alelo *EST-1(101)*, que los autores mencionados detectaron sólo en algunas de sus muestras y con frecuencias de 0.025 o inferiores. Ambos estudios concuerdan en la presencia, así sea eventual, de los demás alelos, en la mayor frecuencia del locus *EST-1(100)* y en la menor frecuencia del alelo *EST-1(103)* en la muestra de Puerto San Carlos. Por lo demás, existen diferencias en las frecuencias alélicas de los genes *EST-1(98)*, *EST-1(100)* y *EST-1(102)* que pudieran explicarse por ser características inherentes a las muestras, a la utilización de un procedimiento distinto de extracción o de corrimiento de las muestras, a que provinieran de un tejido distinto, así como de que se trate de loci distintos.

Las diferencias poblacionales detectadas a través de la comparación del índice de fijación de Wright (1978) entre las muestras de la población central y la sureña difícilmente pueden ser utilizadas como marcadores genéticos poblacionales, objeto de esta investigación. Sin embargo, pueden considerarse como indicios de la heterogeneidad presente tanto en el *stock* central, como entre ambas poblaciones, que deben ser abordados en investigaciones futuras que incluyan un mayor número de loci y de muestras, para profundizar en la naturaleza y alcance de esta diversificación poblacional.

Las oscilaciones de las frecuencias en las diferentes muestras del mismo sitio y la deficiencia de heterocigotos detectada en tres de las cuatro recolecciones (E1, E3 y Puerto San Carlos) pueden ser generadas por error de muestreo, por la acción de una intensa fuerza selectiva o por algún factor de tipo intrínseco de las poblaciones. Hedgecock *et al.* (1989) han reportado una tendencia hacia desviaciones importantes en las frecuencias de los loci *LGG* y *HBDH-2* de la población central de *E. mordax*, debidas a un exceso de heterocigotos asociado con la localidad, el sexo y la edad. Shaklee *et al.* (1983) detectaron igualmente en el marlin azul una asociación entre ciertas frecuencias alélicas y algunas

some age classes for the blue marlin. In this study, the average length of samples E1 and E2 showed significant differences ( $P < 0.05$ ). Nevertheless, the age analysis results indicate that the difference in length is due to the growth that occurred between both samplings (from May to November), rather than to the presence of different cohorts. The heterozygote deficiency detected could then be attributed to other factors; e.g., each sample may have included individuals from only some population segments that were favored in the first stages of life by environmental factors that allowed them greater survival, as has been proposed by Hedgecock *et al.* (1994). The sequential study of these populations could define a complex structure such as the one found for the central population of the northern anchovy by Hedgecock *et al.* (1989, 1994) and Nelson *et al.* (1994).

In accordance with the objective of this study, the total proteins of muscle and the parvalbumins represent a useful tool to discriminate the northern anchovy populations analyzed. The differences in the presence and/or absence, in addition to the frequency and number of bands in the different levels show genetic divergence between the central and southern populations. Even though a small number of loci was studied in this work, which do not provide information on whether the differences reflect the influence of natural selection or another evolutionary factor, population divergence was detected in the proteins fixed exclusively in one population. These bands can be used as genetic markers to refine studies on the dynamics of these populations, particularly when they involve areas that are synchronically or sequentially shared by both populations (Parrish *et al.*, 1985; Arenas, 1992) and strengthen the management of this important fishery resource.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financed by the Universidad Nacional Autónoma de México, by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (PCCNCNA

clases de edad. En este estudio, la longitud promedio de las muestras de E1 y E2 presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). A pesar de ello, el análisis de edad sugiere que la diferencia de longitud encontrada se debe al crecimiento ocurrido en el lapso entre ambas recolecciones (de mayo a noviembre) más que a pertenecer a diferentes clases de edad, puesto que las muestras no mostraron indicios de la presencia de cohortes distintas. La deficiencia de heterocigotos detectada en el estudio podría ser entonces atribuida a otros factores, tales como que cada muestra haya incluido individuos provenientes de sólo algunas fracciones de la población, favorecidas en las primeras etapas de vida por ventanas de oportunidad de factores ambientales que les hayan permitido mayor supervivencia, como lo han propuesto Hedgecock *et al.* (1994). El estudio secuencial de estas poblaciones podría resultar en la estructura compleja encontrada en la población central de la anchoveta por Hedgecock *et al.* (1989, 1994) y Nelson *et al.* (1994).

De acuerdo con el objetivo planteado en este estudio, los sistemas de proteínas totales de músculo y las parvalbúminas representan una herramienta útil para diferenciar las poblaciones de anchoveta analizadas. Las diferencias en la presencia y/o ausencia, aunadas a la frecuencia y número de bandas en los distintos niveles, muestran divergencia genética entre las poblaciones central y sureña. Aunque el número de loci estudiados en este trabajo es limitado y no proporciona información acerca de si las diferencias encontradas reflejan la influencia de selección natural o algún otro factor evolutivo, se han logrado detectar diferencias poblacionales en las proteínas fijadas en una población exclusivamente. Estas bandas pueden servir como marcadores genéticos que permitan afinar los estudios de la dinámica de estas poblaciones, particularmente cuando se realizan en zonas que son compartidas sincrónica o secuencialmente por ambas poblaciones (Parrish *et al.*, 1985; Arenas, 1992) y fortalecer las bases sobre las que se puede sustentar el manejo de este importante recurso pesquero.

050810) and by the Organization of American States, through the Regional Program of Scientific and Technological Development. We thank Néstor Valdés-Morales for his help with some of the samplings, and Francisco Ley-Lou and Carlos Márquez-Becerra for their help and work space provided at the Facultad de Ciencias of the Universidad Autónoma de Baja California.

English translation by Jennifer Davis.

---

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio se realizó gracias a los fondos proporcionados por la Universidad Nacional Autónoma de México, por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto PCCNCNA 050810) y por la Organización de Estados Americanos, mediante el Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Los autores agradecen a Néstor Valdés-Morales su colaboración en la recolección de algunas muestras, y a Francisco Ley-Lou y Carlos Márquez-Becerra su ayuda y el espacio de trabajo proporcionado en las instalaciones de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Baja California.

## REFERENCIAS

- Allendorf, F.W., Ryman, N. and Utter, F.M. (1987). Genetics and fishery management. In: N. Ryman and F. Utter (eds.), Population Genetics and Fishery Management. Wash. Sea Grant Program. Univ. of Washington Press, Seattle, pp. 1–19.
- Altukov, Yu. P., Limanski, V.V., Payusova, A.N. and Truveller, K.A. (1969). Immunogenetic analysis of intraspecific differentiation of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) inhabiting the Black Sea and the Sea of Azov. II. Elementary anchovy populations and their place in the population-genetic structure of the species. *Genetika*, 5(5): 81–94.
- Arenas, P. (1992). Spatial behavior of fish and fishermen; the use of habitat selection and optimal foraging theory in fishes. NMFS, SWFC. Adm. Rep. L.J. 92–09.

- Avise, J.C. (1975). Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.*, 23: 465–481.
- Baumgartner, T.R., Soutar, A. and Ferreira-Bartrina, V. (1992). Reconstruction of the history of Pacific sardine and northern anchovy populations over the past two millennia from sediments of the Santa Barbara Basin, California. *CalCOFI Rep.*, 33: 24–40.
- Bembo, D.G., Carvalho, G.R., Snow, M., Cingolani, N. and Pitcher, T.J. (1996). Stock discrimination among European anchovies, *Engraulis encrasicolus*, by means of PCR-amplified mitochondrial DNA analysis. *Fish. Bull.*, 94(1): 31–40.
- Cannings, C. and Edwards, A.W.F. (1969). Expected genotypic frequencies in a small sample: Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium. *Am. J. Hum. Genet.*, 21(3): 245–247.
- Chandrasekhar, N. (1959). Multiple haemoglobins in fish. *Nature*, 84(4699): 1652–1653.
- Chiappa-Carrara, X. and Gallardo-Cabello, M. (1992). Use of size and otoliths for age determination in *Engraulis mordax* (Pisces: Engraulidae). *Rev. Biol. Trop.*, 40(1): 1–5.
- Crisci, J.V. y López-Armengol, M.F. (1983). Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Washington, DC, 132 pp.
- Díaz-Jaimes, P. y Uribe-Alcocer, M. (1992). Utilización de las esterasas como marcadores genéticos en las poblaciones de *Tilapia Oreochromis mossambicus* y *O. Urolepis hornorum* cultivadas en el estado de Morelos, México. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM*, 19(2): 195–200.
- Engelbrecht, G.D. and van der Bank, F.H. (1997). Allozyme differences between populations of chubbyhead barb (*Barbus anoplus* Weber, 1897) and Marico barb (*B. motebensis* Steindacher, 1894). *Water S.A.*, 23(2): 175–180.
- Escudero, M. (1984). Estudio de la pesquería de la anchoveta (*Engraulis mordax*) en aguas mexicanas. Tesis de maestría en ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 92 pp.
- Fehrström, H. and Moberg, U. (1977). SDS and conventional polyacrilamide gel electrophoresis with LKB 2117 Multiphor. Application note 306. LKB produktter, Bromma, Sweden.
- Fiedler, P.C., Methot, R.D. and Hewit, P.R. (1986). Effects of California "El Niño" 1982–1984 on the northern anchovy. *J. Mar. Res.*, 44: 317–338.
- Fujio, Y. and Kato, Y. (1979). Genetic variation in fish populations. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 45: 1169–1178.
- Gallardo-Cabello, M. (1985). Análisis del crecimiento de la anchoveta *Engraulis mordax* Girard en aguas de Baja California Norte (Pisces: Engraulidae). *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM*, 12(1): 235–252.
- Gallardo-Cabello, M. y Chiappa-Carrara, X. (1990). Estudio de las variaciones regionales en el crecimiento, la longevidad y la mortalidad natural de la anchoveta *Engraulis mordax* Girard (Pisces: Engraulidae) en el norte de Baja California durante los años de 1986–1987. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM*, 17(1): 131–146.
- García-Franco, W., Cota-Villavicencio, A. y Sánchez-Ruiz, F.J. (1995). Análisis de la pesquería de pelágicos menores en la costa occidental de Baja California, México, en 1994. *Cien. Pesq.*, 11: 15–20.
- Grant, W.S. (1985). Biochemical genetic stock structure of the southern African anchovy *Engraulis capensis* Gilchrist. *Fish. Biol.*, 27: 33–29.
- Hedgecock, D., Hutchinson, E.S., Li, G., Sly, F.L. and Nelson, K. (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*. *Fish. Bull.*, 87: 653–671.
- Hedgecock, D., Hutchinson, E.S., Li, G., Sly, F.L. and Nelson, K. (1994). The central stock of northern anchovy (*Engraulis mordax*) is not a randomly mating population. *CalCOFI Rep.*, 35: 121–136.
- Ihssen, P.E., Book, H.E., Casselman, J.M., McGlade, J.M., Payne, N.R. and Utter, F.M. (1981). Stock identification: Materials and methods. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38: 1838–1855.
- Macaranas, J.M., Agustin, L.Q. and Eknath, A.E. (1996). Multiple haemoglobins in three tilapiine species of the genus *Oreochromis* and in eight strains of *O. niloticus* (L.). *Aquacult. Res.*, 27(8): 597–601.
- McHugh, J.L. (1951). Meristic variations and populations of the northern anchovy (*Engraulis mordax*). *Bull. Scripps Inst. Oceanogr.*, 6: 123–160.
- Nei, M. (1978). The theory of genetic distance and evolution of human races. *Jap. J. Hum. Genet.*, 41: 225–233.
- Nelson, K., Hutchinson, E.S., Li, G., Sly, F.L. and Hedgecock, D. (1994). Variation in life history and



- morphology in northern anchovies (*Engraulis mordax*). CalCOFI Rep., 35: 108–120.
- Oezdamar, E., Kihara, K., Sakuramoto, K. and Erkoyuncu, I. (1994). Variation in the population structure of European anchovy, *Engraulis encrasicolus* L. in the Black Sea. J. Tokyo Univ. Fish., 81(2): 123–134.
- Ohno, S., Wolf, U. and Atkin, N.B. (1968). Evolution from fish to mammals by gene duplication. Hereditas, 59(6): 169–187.
- Parrish, R.H., Mallicolate, D.L. and Mais, F.K. (1985). Regional variations in the growth and age composition of northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fish. Bull., 83(4): 483–496.
- Parrish, R.H., Mallicolate, D.L. and Klingbeil, R.A. (1986). Age dependent fecundity, number of spawnings per year, sex ratio and maturation stages in northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fish. Bull., 84(3): 503–517.
- Pitcher, T.J. (1993) Behaviour of Teleost Fishes. 2nd ed. Chapman and Hall, 715 pp.
- Powers, D.A., Lauermant, T., Crawford, D., Smith, M., González-Villaseñor, I. and Michele, L.D. (1991). The evolutionary significance of genetic variation at enzyme synthesizing loci in the teleost *Fundulus heteroclitus*. J. Fish Biol., 39 (Suppl. A): 169–184.
- Rohlf, F.J. (1989). NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Ver. 1.50. Exeter Publishing, New York.
- Secretaría de Pesca (1987a). Análisis de la actividad pesquera. Dirección General de Información, Estadística y Documentación, 12: 28.
- Secretaría de Pesca (1987b). Esquema de regulación propuesto para la administración de la pesquería de la anchoveta del noroeste. En: Pesquerías Mexicanas: Estrategias para su Administración. Secretaría de Pesca, México, pp. 309–375.
- Shaklee, J.B., Allendorf, F.W., Morizot, D.C. and Whitt, G.S. (1983). Genetic nomenclature for protein-coding loci in fish: Proposed guidelines. Trans. Am. Fish. Soc., 118: 218–227.
- Sharp, D.G. (1973). An electrophoretic study of haemoglobins of some scombroid fishes and related forms. Comp. Biochem. Physiol., 44b: 381–388.
- Sick, K. (1961). Haemoglobin polymorphism in fishes. Nature, 192: 894–896.
- Smith, C.A.B. (1970). A note testing the Hardy-Weinberg law. Ann. Hum. Genet., 33: 377–383.
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. (1973). Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification. Freeman, San Francisco, 573 pp.
- Spanakis, E., Tsimenides, N. and Zouros, E. (1989). Genetic differences between populations of sardine, *Sardina pilchardus*, and anchovy, *Engraulis encrasicolus*, in the Aegean and Ionian seas. J. Fish. Biol., 35: 417–437.
- Spratt, J. (1972). The use of otoliths to separate groups of northern anchovies. Calif. Fish Game, Mar. Resourc. Tech. Rep., 1: 1–25.
- Sodsuk, P.K., McAndrew, B.J. and Turner, G.F. (1995). Evolutionary relationships of the Lake Malawi *Oreochromis* species: Evidence from allozymes. J. Fish. Biol., 47(2): 321–333.
- SYSTAT 3.0. (1986). Systat, Inc. Evanston, IL, USA.
- Tsuyuki, H., Roberts, E. and Best., E.A. (1969). Serum transferrin systems and the hemoglobins of the Pacific halibut (*Hippoglossus stenolepis*). J. Fish. Res. Board Canada, 26: 2351–2362.
- Uribe-Alcocer, M., Vera-Muñoz, G. y Arreguín-Espinosa, J. (1989). Marcadores electroforéticos específicos de *Oreochromis mossambicus* y *Oreochromis urolepis hornorum* (Pisces: Cichlidae). An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM, 16(2): 199–206.
- Uribe-Alcocer, M., Valdés-Morales, N., Díaz-Jaimes, P., Hornelas-Orozco, Y. and Arenas, V. (1996). Comparison of the karyotypes of the central and southern populations of the northern anchovy *Engraulis mordax*, Girard 1854 (Engraulidae, Pisces). Ciencias Marinas, 22(3): 361–376.
- Vidal-Talamantes, R. (1995). Development of the fishery of northern anchovy (*Engraulis mordax*) in Baja California from 1972 to 1992. Ciencias Marinas, 21(3): 243–263.
- Vrooman, A.M., Paloma A.P. and Zweifel, R.J. (1981). Electrophoretic, morphometric and meristic studies of subpopulations of northern anchovy, *Engraulis mordax*. Calif. Fish Game, 67(1): 39–51.
- Ward, R.D., Elliot, N.G., Innes, B.H., Smolenski, A.J. and Grewe, P.M. (1997). Global population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, inferred from allozyme and mitochondrial DNA variation. Fish. Bull., 95: 566–575.
- Wright, S. (1978). Variability within and among Natural Populations. Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 4. Univ. Chicago Press, Chicago.