

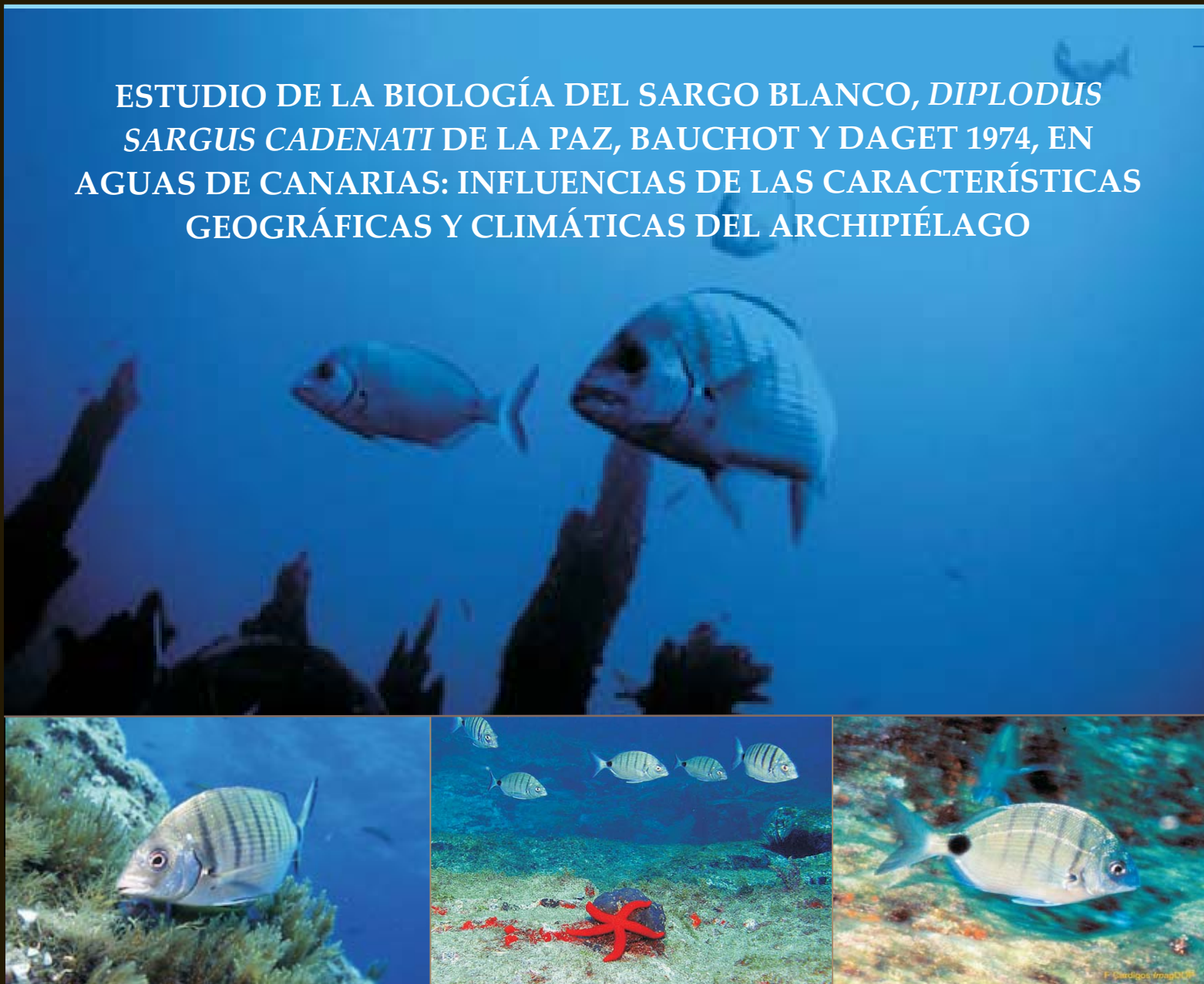
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA



Departamento de Biología

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DEL SARGO BLANCO, *DIPLODUS SARGUS CADENATI* DE LA PAZ, BAUCHOT Y DAGET 1974, EN AGUAS DE CANARIAS: INFLUENCIAS DE LAS CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS Y CLIMÁTICAS DEL ARCHIPIÉLAGO



ANA ISABEL FAZERES MALHEIRO

Las Palmas de Gran Canaria
2007



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

PROGRAMA DE DOCTORADO: MEDIO AMBIENTE Y GESTIÓN DE RECURSOS MARINOS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DEL SARGO BLANCO, *DIPLODUS SARGUS*
CADENATI DE LA PAZ, BAUCHOT Y DAGET 1974, EN AGUAS DE
CANARIAS: INFLUENCIAS DE LAS CARACTERÍSTICAS
GEOGRÁFICAS Y CLIMÁTICAS DEL ARCHIPIÉLAGO.

Tesis Doctoral presentada por Dña. Ana Isabel Fazeres Malheiro
Dirigida por el Dr. José Juan Castro Hernández

El Director,

El Doctorando,

Las Palmas de Gran Canaria, a 12 de abril de 2007

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DEL SARGO BLANCO, *DIPLODUS SARGUS*
CADENATI DE LA PAZ, BAUCHOT Y DAGET 1974, EN AGUAS DE
CANARIAS: INFLUENCIAS DE LAS CARACTERÍSTICAS
GEOGRÁFICAS Y CLIMÁTICAS DEL ARCHIPIÉLAGO.

ANA ISABEL FAZERES MALHEIRO

LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
2007

Fotografías de cubierta:

© F.Cárdigos
© F. Gosálvez Díaz
© J. García
© R. Patzner
© CibSub

Impreso en el Servicio de Reprografía de la U.L.P.G.C.
Edificio de Ingenierías, Campus Universitario de Tafira.
35017 Las Palmas de Gran Canaria

José Juan Castro Hernández, Doctor en Ciencias del Mar y profesor titular de Universidad del área de conocimiento de Zoología, adscrito al Departamento de Biología de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Hace constar:

Que el trabajo de investigación titulado “Estudio de la biología del sargo, *Diplodus sargus cadenati* de la Paz, Bauchot y Daget, 1974, en aguas de Canarias: influencias de las características geográficas y climáticas del Archipiélago”, realizado bajo mi dirección por la licenciada en Biología Dña. Ana Isabel Fazeres Malheiro, se considera finalizado y puede ser presentado para su exposición y defensa como Tesis Doctoral en la Facultad de Ciencias del Mar de Las Palmas de Gran Canaria.

Fdo.: José Juan Castro Hernández

Las Palmas de Gran Canaria, a 12 de abril de 2007.

À minha família e ao Vítor,
pelo carinho

Agradecimientos

- ☞ Al Dr. José Juan Castro, cuya dirección, apoyo y confianza han sido imprescindibles para la realización de esta Tesis. Gracias además por haberme brindado la oportunidad de poder conocer el mundo de la investigación y de crecer a nivel profesional.
 - ☞ A la Fundación Universitaria de La Palmas y la Consejería de Pesca por haberme concedido la Beca Innova Convocatoria XX, con la cual he logrado terminar el presente trabajo.
 - ☞ Al Dr. Pedro Sosa le agradezco sus enseñanzas y los medios que ha puesto a nuestra disposición para realizar el Capítulo de Genética de este trabajo.
 - ☞ Al Dr. Carles Pla por el apoyo prestado durante la realización del capítulo de Genética.
 - ☞ Al Dr. Martí Pujolar por ayudarme en el análisis e interpretación de los datos. También por la disponibilidad, paciencia pero sobre todo por su interés en enseñar. Gracias por ser tan buena persona y además, un buen investigador!
 - ☞ Al Dr. Angelo Santana por su invaluable ayuda en la resolución de las dudas estadísticas.
 - ☞ Ao Castro, um especial obrigado por ser mais que um director, um amigo. Desculpa todos os atrasos, as promessas não cumpridas... mas afinal consegui e aqui estou. Espero que estejas orgulhoso!
 - ☞ A la Dra. Pilar Jiménez por ayudarme con la histología. Pero sobre todo, por las largas conversaciones, acompañadas de risas, que teníamos en su despacho. Me llevo una amiga...gracias Pili!
-

-
- ☞ A Ana Teresa (“tormento”) y Conchi, mis queridas compañeras de risas y fatigas. Gracias por aguantarme y por haberme apoyado en los momentos difíciles. Echaré de menos las largas charlas de la hora del café... la fama la teníamos merecida!
 - ☞ Al Troglo, ese vasco liante... gracias por tu amistad y ya sabes que tienes donde quedarte. A Carlitos, el otro vasco, por las charlas y las risas.
 - ☞ A Yeray por ser tan buena persona y por salvarme de más de un apuro. A Eduardo, por su paciencia infinita y su compañerismo. A Ricardo por ser siempre tan optimista y un ejemplo de supervivencia. A Aldo y su novia, por el apoyo informático constante y las largas conversaciones al teléfono. A Gonzalito por ayudarme y aguantarme en la ardua tarea del muestreo. Sé lo que sufriste aquél verano...
 - ☞ A los recién incorporados: Aaron, Alberto y Vanesa por hacer el *despacho* más ameno en las épocas difíciles.
 - ☞ A la generación de Doctores: Vicente, Tere, Caty y José Luis. Gracias por hacer los embarques más llevaderos, por los consejos y por enseñarme a ver el futuro desde otra perspectiva.
 - ☞ A Francisco Batista y Miguel González por adentrarme en el mundo de la genética y enseñarme lo que sé. Sin olvidar, la paciencia y las horas que me habéis dedicado. Mil gracias.
 - ☞ A Avelina y a Paqui por el apoyo prestado en la biblioteca, sin el cual no habría logrado conseguir tanta información valiosa.
 - ☞ Al Servicio de Reprografía de la Universidad, en especial a Ignacio y a Samuel por todas las facilidades que me han brindado, y sobretodo por haberme ayudado en los retoques finales de la tesis.
-

-
- œ A todos los miembros del Departamento de Biología (Director, profesores, personal laboral y administración) por su colaboración.
 - œ A todo el grupo de CETESCA, pero en particular a Marina y a Desi por el apoyo recibido. A Don Antonio por haberme dado la oportunidad de trabajar en docencia y así justificar todos estos años de esfuerzo.
 - œ Às minhas amigas portuguesas Filipa y Joana pelo apoio via e-mail. Temos muita conversa pendente...
 - œ A mi eterno compañero de piso, Vitin, por compartir confidencias, por las risas que nos echamos, por sus ensaladas míticas y un sinfín de cosas más ...
 - œ A mi familia canaria por apoyarme siempre que lo he necesitado.
 - œ Á minha avó, porque uma boa parte do mérito de ter chegado até aqui foi dela...por me ter ensinado a ver que nos *livros* encontraria un futuro melhor. .
 - œ Á minha mãe por ter mudado a sua vida por nós... por ser um exemplo de coragem e amor. Obrigado pelo que tens feito, porque a ti devo tudo o que sou!
 - œ Á minha irmã pelo apoio incondicional e por sofrer de “saudades”. Ao meu cunhado pelas infinitas viagens ao aeroporto, sempre cheias de atribulações...
 - œ Ao Vítor por colorear a minha vida. Agradeço que sejas tão generoso, que me tenhas ensinado a ver “montanhas como grãos de areia”, e todos esses momentos de felicidade.
 - œ A todas aquellas personas que de una u otra manera me han ayudado y que yo por despistada me he olvidado. También va por vosotros, vale?
-

Indice

RESUMEN	I
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1. CONCEPTO DE STOCK	4
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
2. LA SUBSPECIE	9
2.1. DESCRIPCIÓN DE LA SUBSPECIE	9
2.1.1. Nombre Científico	9
2.1.2. Identidad Taxonómica	9
2.1.3. Sinónimos	9
2.1.4. Nombres Comunes oficiales	10
2.1.5. Nombres comunes en Canarias	10
2.2. CARACTERES DISTINTIVOS DE LA FAMILIA SPARIDAE	10
2.3. CARACTERES DISTINTIVOS DEL <i>DIPLODUS SARGUS CADENATI</i>	11
2.5. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT	12
2.5. COMPORTAMIENTO	13
2.6. INTERÉS PESQUERO	14
3. ÁREA DE ESTUDIO	17
3.1. LOCALIZACIÓN	17
3.2. CARACTERÍSTICAS OCEANOGRÁFICAS	18
4. MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES	23
4.1. PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS	23
4.2. ESTRATEGIA EN LA TOMA DE MUESTRAS	27
4.3. METODOLOGÍA DE LABORATORIO	28
4.4. ANÁLISIS DE LOS DATOS	29
5. MORFOMETRIA	31
5.1. INTRODUCCIÓN	31
5.2. MATERIAL Y MÉTODOS	33
5.2.1. Toma de Muestras	33
5.2.2. Tratamiento estadístico	37
5.3. RESULTADOS	37
5.3.1. Rangos de Tallas y Pesos	37
5.3.2. Relación longitud-peso	38
5.3.3. Análisis Morfométrico	43
5.3.4. Análisis Merístico	46
5.4. DISCUSIÓN	50
6. SEXUALIDAD Y REPRODUCCIÓN	55
6.1. INTRODUCCIÓN	55
6.2. MATERIAL Y MÉTODOS	57
6.2.1. Sexualidad	57
6.2.1.1. Proporción de sexos	57
6.2.2. Reproducción	58
6.2.2.1. Índice Gonadosomático (IGS)	58
6.2.2.2. Índice Hepatosomático (IHS)	58
6.2.2.3. Factor de Condición (Kn)	59
6.2.2.4. Estados de Madurez	59
6.2.2.5. Histología	60
6.2.2.6. Talla de Primera Madurez	62

6.2.2.7. Fecundidad.....	62
6.3.RESULTADOS	63
6.3.1. Sexualidad	63
6.3.1.1. Rangos de Tallas y Pesos	63
6.3.1.2. Proporción de Sexos	64
6.3.2. Reproducción	67
6.3.2.1. Índice Gonadosomático (IGS)	67
6.3.2.2. Índice Hepatosomático (IHS)	71
6.3.2.3. Factor de Condición (Kn)	74
6.3.2.4. Histología	78
6.3.2.5. Talla de Primera Madurez	81
6.3.2.6. Fecundidad.....	83
6.4. DISCUSIÓN	88
7. CRECIMIENTO.....	97
7.1. INTRODUCCIÓN	97
7.2. MATERIAL Y MÉTODOS	100
7.3. RESULTADOS.....	103
7.3.1. Descripción del otolito	103
7.3.2. Determinación de la edad y el crecimiento mediante lectura directa de otolitos.....	104
7.3.3. Análisis de las Frecuencias de Talla.....	109
7.4. DISCUSIÓN	115
8. GENÉTICA.....	123
8.1. INTRODUCCIÓN	123
8.2. MATERIAL Y MÉTODOS	127
8.2.1. Muestreo.....	127
8.2.2. Tatamiento de las muestras	129
8.2.1.1. Almacenamiento de las muestras.....	129
8.2.2.2. Extracción de proteínas.....	130
8.2.2.3. Tampones de extracción	130
8.2.2.4. Almacenamiento de los extractos	131
8.2.3. Sistemas de Tampones de Electroforesis	131
8.2.4. Sistemas enzimáticos ensayados	132
8.2.5. Electroforesis	134
8.2.5.1. Preparación de los geles y tampones.....	134
8.2.5.2. Carga de las muestras en el gel.....	134
8.2.5.3. Condiciones de la electroforesis	135
8.2.5.4. Preparación del gel para la tinción	136
8.2.6. Tinción Específica de Enzimas	136
8.2.6.1. Adenilato quinasa (AK E.C. 2.7.4.3.)	137
8.2.6.2. Aconitasa (AH E.C. 4.2.1.2.)	137
8.2.6.3. Alcohol deshidrogenasa (ADH E.C. 1.1.1.1.)	138
8.2.6.4. Aspartato aminotransferasa (AAT E.C. 2.6.1.1.).....	138
8.2.6.5. Catalasa (CAT E.C. 1.11.1.6)	139
8.2.6.6. Diaforasa (DIA E.C. 1.6.4.3.)	139
8.2.6.7. Enzima Málica (MEP E.C. 1.1.1.40).....	140
8.2.6.8. Esterasa (EST E.C. 3.1.1.1.)	140
8.2.6.9. Fosfatasa Ácida (ACP E.C. 3.1.3.2)	141
8.2.6.10. Fosfatasa Alcalina (ALP E.C. 3.1.3.1.).....	141
8.2.6.11. Fosfoglucomutasa (PGM E.C. 5.4.2.2)	142
8.2.6.12. Fosfogluconico deshidrogenasa (PGDH E.C. 1.1.1.44).....	142
8.2.6.13. Fumarato hidratasa (FH E.C. 4.2.1.2.)	143
8.2.6.14. Gliceraldeido-3-fosfato-deshidrogenasa (GAPDH E.C. 1.2.1.12)	143
8.2.6.15. Glucosa-6-fosfato isomerasa (GPI E.C. 5.3.1.9)	144
8.2.6.16. Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH E.C. 1.1.1.8)	144
8.2.6.17. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH E.C. 1.1.1.49).....	145
8.2.6.18. Glutamato deshidrogenasa (GDH E.C. 1.4.1.2).....	145
8.2.6.19. Sorbitol deshidrogenasa (IDDH E.C. 1.1.1.14).....	146
8.2.6.20. Hexoquinasa (HK E.C. 2.7.1.1.).....	146
8.2.6.24. Hexosa-6-fosfato deshidrogenasa (H6PDH E.C. 1.1.1.47).....	147
8.2.6.21. Isocitrico deshidrogenasa (IDHP E.C. 1.1.1.42).....	147
8.2.6.22. Lactato deshidrogenasa (LDH E.C. 1.1.1.27)	148

8.2.6.23. Málico deshidrogenasa (MDH E.C: 1.1.1.37)	148
8.2.6.25. Octanol deshidrogenasa (ODH E.C. 1.1.1.73).....	149
8.2.6.26. Peptidasas (PEP E.C. 3.4.-.-)	149
8.2.6.27. Peroxidasa (PRX E.C. 1.11.1.7).....	149
8.2.6.28. Piruvato quinasa (PK E.C. 2.7.1.40)	150
8.2.6.29. Superóxido dismutasa (SOD E.C. 1.15.1.1)	151
8.2.6.30. Xantina deshidrogenasa (XDH E.C. 1.2.1.37).....	151
8.2.7. Fotografiado de los geles	152
8.2.8. Interpretación genética de los zimogramas.....	152
8.2.9. Análisis de los Datos	154
8.2.9.1. Variación genética dentro de las muestras	154
8.2.9.2. Diferenciación genética entre las muestras	157
8.2.9.3. Programas Informáticos.....	161
8.3. RESULTADOS	163
8.3.1. Sistemas Enzimáticos	163
8.3.2. Descripción e Interpretación de los zimogramas.....	167
8.3.2.1. Esterasa (EST*).....	167
8.3.2.2. Fosfoglucomutasa (PGM*)	169
8.3.2.3. Fosfogluconato deshidrogenasa (PGDH*).....	170
8.3.2.4. Fumarato hidratasa (FH*)	171
8.3.2.5. Fosfoglucoisomerasa (GPI*)	172
8.3.2.6. L-íditol deshidrogenasa (IDDH*).....	173
8.3.2.7. Enzima málica (NADP+)	174
8.3.2.8. Isocitrato deshidrogenasa (IDHP*).....	175
8.3.2.9. L-lactato deshidrogenasa (LDH*)	176
8.3.2.10. Malato deshidrogenasa (MDH*)	178
8.3.2.11. Superóxido dismutasa (SOD*)	179
8.3.3. Variabilidad genética	181
8.3.4. Diferenciación genética entre las muestras.....	185
8.4. DISCUSIÓN	189
9. DISCUSIÓN GENERAL	197
CONCLUSIONES	209
BIBLIOGRAFÍA	213

Resumen

Se analiza la biología del sargo, *Diplodus sargus cadenati* de La Paz Bauchot y Daget, 1974 en las Islas Canarias durante el periodo comprendido entre enero de 2000 y marzo de 2001. El estudio contempla el análisis morfométrico y merístico, la reproducción, el crecimiento y la genética de la subespecie.

Los parámetros de la relación de longitud - peso eviscerado muestran una tendencia a la isometría entre los ejemplares de las islas de Gran Canaria y de La Palma. Sin embargo, se observan diferencias para los caracteres merísticos, en concreto para el número de branquiespinas que componen ambas ramas del primer arco branquial. El número de incisivos y molares en la mandíbula superior y el de radios blandos de la aleta anal son diferentes a los descritos para la misma especie en el catálogo de la FAO. Además, el análisis morfométrico revela diferencias para el tamaño de la mandíbula superior y la altura anal entre los ejemplares de ambas islas.

La proporción de sexos se encuentra desviada hacia las hembras. El periodo reproductivo se extiende entre enero y junio para Gran Canaria y entre febrero y mayo para La Palma. La talla de madurez masiva se alcanza a los 25.3 cm LS y a los 21.8 cm LS, respectivamente. La talla de primera madurez es idéntica entre las dos islas, la cual corresponde a 18.7 cm LS. El número medio de ovocitos es superior para las hembras de La Palma, al igual que los valores de la fecundidad relativa.

Los grupos de edad representados son los de 0 a VIII años para la isla de Gran Canaria y de 0 a VI años para La Palma. En ambas islas, la clase de edad 0 es la menos frecuente, presentando la talla media los respectivos valores, 10,4 cm (LS) y 10,25 cm (LS). La longitud asintótica (L_{∞}) presenta los valores 45.0 cm y 38.7 cm para las islas de Gran Canaria y La Palma, respectivamente. El parámetro K asume el valor de 0.08 año⁻¹ para Gran Canaria y 0.1 año⁻¹ para La Palma.

Los estudios de la electroforesis isoenzimática revelan que el sargo constituye una población panmíctica en el Archipiélago Canario.

Finalmente, los resultados obtenidos sugieren que la variación de los parámetros biológicos es debida a una adaptación de la subespecie a las condiciones ambientales locales.

PALABRAS CLAVE: sargo blanco, *Diplodus sargus cadenati*, Sparidae, Islas Canarias.

1

Introducción General

La pesca constituye una de las actividades con mayor tradición cultural e importancia económica en el Archipiélago Canario. Bas *et al.* (1995) la definen como el factor de contacto entre un *pueblo que vive de espaldas al mar y la realidad que le rodea*. Las peculiaridades geomorfológicas y biológicas que existen en las Islas hicieron de la pesca una actividad de carácter artesanal y familiar (González-Pajuelo y Lorenzo-Nespereira, 2001; Méndez-Villamil, 2001).

En las franjas costeras de las islas se practican distintos tipos de pesquerías, destacando la de los recursos demersales por su elevada importancia económica y social. Esta pesquería de fondo proporciona una gran variedad de especies que son explotadas por embarcaciones de pequeñas dimensiones y a la cual se dedica buena parte de la flota insular. Más de 80 especies de peces son capturadas con esta explotación multiespecífica, pero algunas de ellas son consideradas especies objetivo debido a la abundancia de sus capturas y a su interés económico. En general, los espáridos son el grupo más importante. Se destacan las especies *Dentex gibbosus*, *Pagellus acarne*, *Pagellus erythrinus*, *Pagrus pagrus* y *Spondyliosoma cantharus*, las cuales representan aproximadamente un 70% del total de peces comercializados. Entre estas, se encuentra también el sargo (*Diplodus sargus cadenati*), que se pesca durante todo el año esencialmente con nasas, a profundidades que oscilan entre los 10 y los 120 m. En la actualidad, no existe un límite o cuota de captura sobre esta subespecie, estando sólo regulada la talla mínima que está establecida en 22 cm (Bas *et al.*, 1995; Pajuelo & Lorenzo, 1999; González-Pajuelo y Lorenzo-Nespereira, 2001; Pajuelo & Lorenzo, 2002; Pajuelo & Lorenzo, 2004).

En las Islas Canarias, la ordenación de los recursos pesqueros, hasta el año 2005, estaba basada en los Decretos 154 y 155 de 9 de octubre de 1986, que regulan las artes y modalidades de pesca, y también las tallas mínimas de captura (la actual Ley de pesca –Decreto 182/2004 de 21 de diciembre- no introduce novedades significativas respecto a los anteriormente citados Decretos, únicamente introduce algunos aspectos muy discutidos que permiten un aumento del esfuerzo y el uso de artes/aparejos antes más restringidos; J. Castro, Univ. de Las Palmas de G.C., comm. pers.). Ambas normativas son de carácter generalista, ya que la regulación se aplica como si las especies sometidas a explotación estuviesen formadas por un único stock. Sin embargo, es probable que existan stocks insulares, en particular de las especies bento-demersales, como es el caso del sargo. De hecho, se ha constatado que esta subespecie no se distribuye homogéneamente en todas las islas (Castro *et al.*, 2002b).

El sargo blanco suele ser muy abundante en aguas de Gran Canaria, quizás la más común de las especies del género *Diplodus*, aunque en la isla de La Palma resulta relativamente escasa. En esta última parecen ser relativamente más abundantes las especies *Diplodus vulgaris* y *D. cervinus*. Una explicación a este fenómeno podría estar relacionada con las características geomorfológicas y oceanográficas que se verifican a lo largo del Archipiélago (Brito *et al.*, 1996; Castro *et al.*, 2002 b).

Las Islas Canarias se caracterizan por su naturaleza volcánica, líneas de costa muy irregulares y reducidas o casi inexistentes plataformas insulares. Poseen, además, formaciones volcánicas individualizadas que, con excepción de Lanzarote y Fuerteventura, están separadas entre sí por profundidades entre los 1300 y 3600 m. Aunque se encuentran a poca distancia del continente africano, presentan una estructura geomorfológica propia y de gran complejidad. Por otro lado, la presencia de la Corriente de Canarias es la característica oceanográfica más relevante, con importantes repercusiones bioclimáticas para las Islas. El conjunto de todas estas características influye de forma desigual en la composición de las diferentes especies presentes en el Archipiélago y su entorno, y puede, además, ser la posible causa para una distribución íctica diferenciada en cada isla (Brito, 1984; Brito *et al.*, 1996).

En este sentido, determinar la existencia de stocks de circunscripción insular resultaría de gran interés, ya que permitiría dar a conocer con precisión las características de las especies explotadas y como estas están influenciadas por su entorno insular (Castro *et al.*, 2002b). Además, pondría de manifiesto la poca eficacia de la visión generalista del marco legislativo pesquero vigente, haciendo necesaria la adopción de medidas técnicas de gestión y ordenación más adecuadas a la realidad pesquera del Archipiélago. Actualmente, esta normativa no ha podido ofrecer soluciones prácticas para los problemas que afectan a las pesquerías insulares. La sobreexplotación de algunas especies, los problemas ecológicos y los desequilibrios de los ecosistemas son claros ejemplos del desajuste de esta normativa (e.g. Aguilera-Klink *et al.*, 1994; Mancera-Rodriguez, 2000; González-Pajuelo y Lorenzo-Nespereira, 2001, Boyra *et al.* 2004; Tuya *et al.*, 2004).

Sin embargo, no se pretende con ello lograr una normativa de Ordenación Pesquera idónea, sino replantear aquellos aspectos que, en la actualidad, la limitan. Para poder conservar y administrar los recursos pesqueros es necesario conocer las características de las pesquerías, los datos básicos de la actividad pesquera y la biología de las especies que se explotan. El análisis de los aspectos biológicos y ecológicos es muy importante, dado que su conocimiento puede ser utilizado para establecer medidas de gestión que visen la compatibilidad de la actividad extractiva con la conservación del recurso (Gulland, 1974; 1977; Farrugio, 1993). En el caso de las especies de espáridos presentes en Canarias, el conocimiento de su biología adquiere una importancia redoblada, ya que muchas de estas han mostrado claros síntomas de agotamiento (Pajuelo *et al.*, 2001).

En este sentido, la biología de *Diplodus sargus cadenati* es prácticamente desconocida en el entorno de las islas. Durante las últimas dos décadas el sargo ha experimentado un fuerte descenso en la abundancia de sus poblaciones, lo cual ha quedado reflejado en los niveles de capturas desembarcadas en los puertos canarios. Por ello es importante plantear una gestión pesquera basada en stocks insulares que posiblemente se muestra más acorde con las características de un archipiélago oceánico. Es sabido que una explotación pesquera excesiva y mal planificada sobre stocks aislados puede originar la pérdida de un recurso importante y además, una

disminución en la diversidad genética de las especies (McClanahan & Muthiga, 1988). Como consecuencia, a corto plazo, se puede generar el colapso total de la actividad pesquera sobre el conjunto de especies que cohabitan en una unidad geográfica determinada. Tal vez uno de los ejemplos más llamativos sea el incremento de las poblaciones de erizos *Diadema antillarum* (e.g. Hernández *et al*, 2005a, b). El aumento excesivo de esta especie ha surgido a partir de la regresión mostrada por un conjunto de especies comedoras de erizos, entre ellas el sargo, como consecuencia de la pesca intensiva. Esto ha producido la aparición de un efecto cascada que ha tenido consecuencias directas en el conjunto de especies que conforman la comunidad ictiológica de las islas, con una pérdida significativa de diversidad y de biomasa (e.g. Tuya *et al*, 2004b; 2005). Además, otro factor importante es el comportamiento social de *D. sargus cadenati*, que al ser muy estereotipado (Castro & Caballero, 1998; Caballero & Castro, 1999) puede también influir en su relación con otras especies y en la propia explotación pesquera.

El presente trabajo es una contribución al estudio de la biología de *Diplodus sargus cadenati* en las Islas Canarias. Además, pretende verificar si, en esta subespecie, existen unidades de población asociadas a entornos insulares con diferentes características biológicas y ecológicas, como pueden ser las Islas Canarias.

1.1. Concepto de stock

Son numerosas las definiciones que existen sobre el concepto de stock en la literatura. Este término se ha utilizado para definir lo que, en la actualidad, se denomina especie y unidades dentro de estas, como son la raza, población o subpoblación (Waldman, 1999). En Biología Pesquera, el stock se define como unidad de producción o gestión. Se trata de una unidad de la población constituida por un conjunto de individuos de la misma especie sometidos a explotación en un área geográfica determinada (Castro *et al.*, 2002b). Para efectos de ordenación, Guerra-Sierra y Sánchez-Lizaso (1998) lo consideran como un grupo de individuos

de una especie que posee los mismos parámetros de crecimiento y mortalidad en un área geográfica dado.

Por otro lado, Ihssen *et al.* (1981) definen stock como un grupo de individuos intraespecífico con apareamiento al azar que posee integridad temporal o espacial. De acuerdo con esta definición, los stocks de la misma especie pueden exhibir diferencias en uno o más parámetros biológicos. Estos incluyen características como el crecimiento, edad de primera maduración, supervivencia, fecundidad, distribución y abundancia (Ihssen *et al.*, 1981; Pawson & Jennings, 1996, Begg & Waldman, 1999). Estas características se utilizan en la diferenciación de stocks porque son expresiones fenotípicas que resultan de la interacción entre el genotipo y la influencia del ambiente. Aunque sólo suministren información de carácter indirecto, las diferencias halladas son una evidencia de que las poblaciones de peces analizadas pueden estar geográficamente y/o reproductivamente aisladas y por lo tanto, constituir unidades discretas objeto de gestión (Ihssen *et al.*, 1981; Begg *et al.*, 1999b).

En este sentido, Guerra-Sierra y Sánchez-Lizaso (1998) apuntan que entre unidades de población diferenciadas no existe intercambio de material genético, una situación que puede dar inicio a procesos de subespeciación. En general, la existencia de barreras físicas en la Naturaleza y los rasgos comportamentales propios de cada especie son factores que contribuyen a este aspecto. En el medio acuático, estas barreras físicas pueden presentarse como frentes térmicos o de densidad, fuertes corrientes o discontinuidades en la plataforma continental, debido a las grandes profundidades que separan a las poblaciones (Coles & Tarr, 1990). Véase el ejemplo de algunas especies de la Familia Ciclidae que en los últimos años han sufrido un rápido proceso de especiación, debido aparentemente a un comportamiento de selección sexual de las hembras (Meyer, 1989; Seehausen & Van Alphen, 1998; Albertson *et al.*, 1999; Barluenga & Meyer, 2004). Otros ejemplos se pueden también encontrar en la literatura (e.g. Boughman, 2001; Scott, 2004; Borsa *et al.*, 2004, Almada *et al.*, 2002; 2005). Es evidente que unidades de población genéticamente aisladas empezarán a desarrollar diferencias. Dentro de una población, la variación genética tiene origen en la deriva genética y las

mutaciones. Procesos que son responsables de alterar las frecuencias alélicas, permitiendo la prevalencia de aquellas características que confieran más ventajas reproductivas, o de supervivencia, a los individuos de la población, en un medio ambiente con características determinadas. Al realizarse por separado, la divergencia entre las poblaciones se incrementa con el tiempo.

En la actualidad, la variación genética ha probado ser una herramienta de gran utilidad en la determinación de diferencias evolutivas entre stocks, en contraste con la variación fenotípica, en general, aplicable a las diferencias inducidas por el ambiente (Begg *et al.*, 1999a). Por todo ello, hoy en día en el concepto de stock ya se incluyen algunas nociones sobre integridad genética (Waldman, 1999), e incluso se sugiere la validez de cualquier definición que utilice marcadores heredables que permitan caracterizar un grupo específico de peces y su respectivo hábitat (Booke, 1999).

Sin embargo, conseguir mantener la integridad espacial y temporal entre stocks no siempre es fácil. La existencia de determinados factores biológicos y físicos puede permitir el flujo genético entre estos, bien sea a través del desplazamiento de huevos, o de fases larvarias y post-larvarias. Entender este tipo de mecanismos estructurales es muy importante, ya que en ellos reside el conocimiento de los factores que afectan la estabilidad de los stocks individuales (Begg *et al.*, 1999b).

Los stocks de peces son identificados en base a la variación de características comunes entre estos, haciéndose uso de técnicas complementarias que analizan varios de los aspectos biológicos y etológicos de las especies. Un criterio que resulta de gran utilidad a la hora de diferenciar unidades de población es el análisis de sus áreas de puesta. En general, a cada unidad de población le corresponde una zona de reproducción única. Sin embargo, son diversos los parámetros que sirven para describir y diferenciar unidades de población, Guerra-Sierra y Sánchez-Lisazo (1998) refieren los siguientes:

- Diferencias en los caracteres morfométricos y merísticos, que permiten expresar aspectos adaptativos resultantes de la acción ambiental.

- Diferencias en las características bioquímicas. Se hacen patentes al utilizar técnicas genéticas específicas como la electroforesis isoenzimática, la inmuno-electroforesis aloenzímica de tejidos, sangre u otros líquidos humorales y el ADN.
- Diferencias en las tasas de crecimiento, épocas de desove, fecundidad, etc.
- Técnicas de marcado y recaptura, que permiten establecer el intercambio de individuos entre las diferentes zonas de distribución de la especie.
- Identificación de parásitos específicos de la especie.
- Seguimiento de clases anuales excepcionales.
- Distribución de las frecuencias de tallas por diferentes áreas.
- Análisis de las abundancias relativas o capturas por unidades de esfuerzo (CPUE), calculadas a partir de las descargas y el esfuerzo realizado por los barcos en sectores regulares de la costa. Suele utilizarse en especies costeras que se pescan a diario.

Hoy en día, la identificación de stocks constituye un componente esencial de la evaluación del estado de las pesquerías, y por otra parte, de la gestión de pesquerías efectivas y de especies amenazadas. Delimitar los stocks de peces es necesario para la gestión pesquera, ya que de ello depende el reparto de la captura entre pesquerías competitivas, el reconocimiento y protección de las áreas de puesta, el desarrollo de una captura óptima y de estrategias de administración (Kutkuhn, 1981; Smith *et al.*, 1990; Begg *et al.*, 1999a, b; Begg & Waldman, 1999). Se trata por lo tanto de un campo multidisciplinar y en constante evolución, y que progresará con la gestión pesquera y las necesidades de conservación. Dado que muchas de las especies se distribuyen, en algún momento de su vida, en stocks mezclados, es esencial que esta técnica continúe su desarrollo, de manera a que se pueda identificar y cuantificar los distintos componentes de stocks que constituyen las pesquerías actuales.

1.2. Objetivos Específicos

Los objetivos del proyecto de tesis que se propone son los siguientes:

1. Estudio de los parámetros biológicos de *Diplodus sargus cadenati* tales como crecimiento, morfometría, mortalidad natural, período de reproducción y fecundidad en dos puntos geográficos distantes dentro del Archipiélago Canario (las islas de Gran Canaria y La Palma). Se pretende describir, si las hay, diferencias en estos parámetros biológicos como consecuencia de las particularidades geoclimáticas dominantes en ambas islas.
2. Estudio de los parámetros merísticos que identifican a esta subespecie. Se pretende determinar si existe un aislamiento geográfico que daría lugar a la diferenciación merística de las posibles unidades biológicas insulares (poblaciones, stocks o demos).
3. Estudio de las isoenzimas presentes en esta subespecie a partir de muestras procedentes de cuatro islas, con objeto de determinar si existe flujo genético entre las posibles unidades biológicas (poblaciones, stocks o demos).
4. Recopilación de datos climáticos de las islas de Gran Canaria y de La Palma, con el objetivo de correlacionarlos con los resultados que se puedan obtener en el desarrollo de los puntos anteriores.

2

La Subspecie

2.1. Descripción de la subespecie

2.1.1. Nombre científico

Diplodus sargus cadenati de La Paz, Bauchot y Daget, 1974.

2.1.2. Identidad Taxonómica

Superclase Gnathostomata

Clase Osteichthyes

Subclase Actinopterygii

Infraclass Teleostei

Superorden Acanthopterygii

Orden Percomorphi

Suborden Percoidei

Familia Sparidae

Género *Diplodus* Rafinesque, 1810

Especie *Diplodus sargus*

Subespecie *Diplodus sargus cadenati* de La Paz, Bauchot y Daget, 1974

2.1.3. Sinónimos

Sargus rondeletti Valenciennes, 1843;

Sargus vetula, Valenciennes, 1843;

Sargus rondeleti Pellegrin, 1914;
Sargus sargus Scaccini, 1941;
Diplodus sargus typicus Cadenat, 1964

2.1.4. Nombres comunes oficiales

Alemania: Creisbrasse
España: sargo marroquí
Francia: sar commun du Maroc
Gran Bretaña: moroccan white seabream
Portugal: sargo-legítimo

2.1.5. Nombres comunes en Canarias

Sargo, sargo blanco.

2.2. Caracteres distintivos de la Familia Sparidae

La familia Sparidae constituye uno de los grupos más importantes de peces marinos de interés comercial para pesquerías artesanales (Reina *et al.*, 1994), especialmente en el área de Canarias (Bas *et al.*, 1995). Está compuesta por 37 géneros, que comprenden un total de 121 especies.

Los espáridos se caracterizan por poseer un cuerpo fusiforme y comprimido, cubierto por escamas adherentes, en general ctenoideas. Tienen la boca pequeña y poco protráctil, con el paladar sin dientes. Las mandíbulas presentan dientes incisivos y molares. Los suborbitarios son desarrollados, cubriendo largamente el maxilar. Presentan un par de aberturas nasales y cuatro arcos branquiales. Poseen una única aleta dorsal, con radios espinosos en la parte anterior y blandos en la posterior. Las aletas pectorales son alargadas y puntiagudas. Tienen las aletas ventrales en posición torácica, con un radio espinoso y cinco blandos. La aleta anal presenta tres radios espinosos, y la aleta caudal es bifurcada. La línea lateral es única y continua. (Bauchot *et al.*, 1981; Parker, 1982; Bauchot & Hureau, 1990).

La coloración corporal es variada, y suelen presentar bandas verticales muy características (Bauchot *et al*, 1981; Bauchot & Hureau, 1990).

La mayoría son carnívoros, aunque también existen algunas especies de esta familia que son de hábitos herbívoros y omnívoros (Lozano-Rey, 1952).

Se distribuyen por aguas tropicales y templadas, generalmente litorales, siendo especies de costumbres bentónicas. Suelen encontrarse en fondos rocosos, pero algunas especies frecuentan los fondos de la plataforma continental y los pelágicos (Bauchot *et al*, 1981; Bauchot & Hureau, 1990; Méndez-Villamil, 2000).

2.3. Caracteres distintivos del *Diplodus sargus cadenati*__

Diplodus sargus cadenati es un espárido bento-demersal que presenta un cuerpo oval, bastante alto y comprimido. Posee una mandíbula ligeramente protráctil y labios finos. Sobre las mandíbulas suele tener ocho dientes incisivos, excepcionalmente diez, seguidos de tres o cuatro filas de molares (raramente cinco) en la superior y dos o tres (raramente cuatro) en la inferior. El número de filas de molares suele aumentar con la edad y, en general, es diferente en los dos maxilares. Tiene entre nueve a doce branquiespinas en la rama inferior del primer arco branquial y entre seis a nueve en la superior. La aleta dorsal está formada por once o doce radios espinosos (raramente trece) y de doce a quince radios blandos. La aleta anal presenta tres radios espinosos y de doce a catorce radios blandos.

Muestra, además, una aleta caudal ahorquillada. En la línea lateral tiene de cincuenta y ocho a sesenta y siete escamas (Bauchot *et al*, 1981; Bauchot, 1987; Bauchot & Hureau, 1990).

Esta subespecie presenta un color gris plata con el espacio interorbital y hocico más oscuros. En el cuerpo se aprecian nueve bandas verticales, oscura y difusa alternantes, cubriendo sus dos terceras partes, que se van difuminando con la edad, llegando incluso a desaparecer. Muestra una mancha peduncular en forma de silla de montar, justo al final de la aleta dorsal. La axila de las aletas pectorales

es negra, y las espinas de las aletas dorsal y anal son grises, adquiriendo un tono oscuro en su porción distal. También presenta los radios espinos de las aletas pectoral y ventral más o menos oscuros. Las espinas de la aleta caudal son grises con el borde negro. En general, los ejemplares adultos muestran una tonalidad más oscura que los juveniles y que los individuos de tallas medias (Bauchot *et al*, 1981; Bauchot, 1987; Bauchot & Hureau, 1990) (Fig. 1).



Figura 1 – Sargo blanco, *Diplodus sargus cadenati* (Foto: F. Cardigos, ImagDOP).

2.4. Distribución y Hábitat

Diplodus sargus cadenati se distribuye por toda la costa oriental del Océano Atlántico, desde el Golfo de Vizcaya hasta Senegal, y en las islas de Madeira y Canarias (Fig. 2). Esta ausente en las Islas de Cabo Verde, y en el Mediterráneo es sustituido por la subespecie *Diplodus sargus sargus* (Bauchot *et al*, 1981; Queró *et al*, 1990). En el Archipiélago Canario es frecuente en todas las islas (Brito, 1991), aunque parece ser más abundante en las islas más orientales.

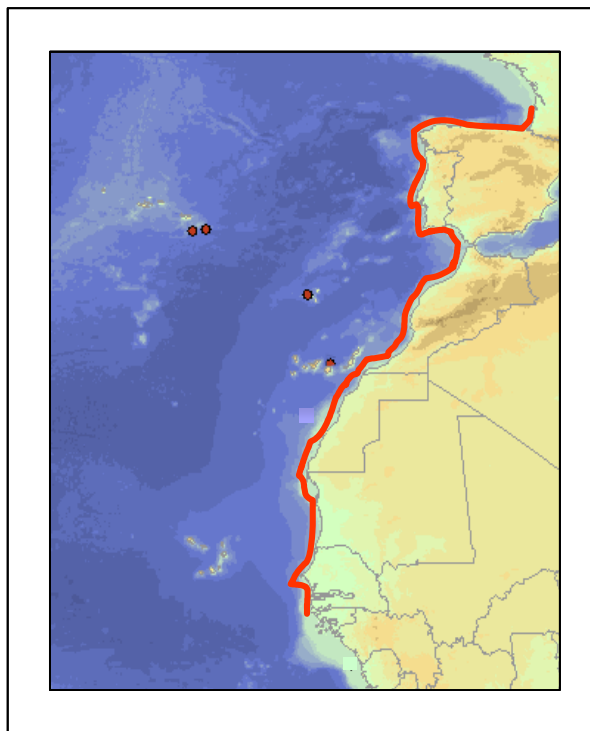


Figura 2 - Distribución del sargo marroquí, *Diplodus sargus cadenati* (Fuente: Fishbase).

Es una subespecie de hábitos costeros que se encuentra cerca del fondo, rocoso o rocoso-arenoso. Es frecuente en la zona litoral, cerca de las áreas de rompientes, distribuyéndose hasta los 150m de profundidad, aunque generalmente no sobrepasa los 50m (Bas *et al*, 1995). También se pueden observar sobre praderas de algas o refugiados en grietas y cuevas (González *et al.*, 1994). Durante la primavera los juveniles habitan aguas someras, relacionadas con las praderas de *Cymodocea nodosa*, y se desplazan hacia zonas más profundas a finales del otoño (Bauchot *et al*, 1981; Queró *et al*, 1990). (Fig 3).

2.5. Comportamiento

Presentan un comportamiento gregario y forman agrupaciones muy numerosas (Fig. 4). Los individuos jóvenes suelen formar grupos más reducidos, generalmente, entre diez a treinta peces. Dentro de los grupos, las relaciones entre estos son definidas, verificándose una estructuración jerárquica lineal (al menos en

condiciones de laboratorio). Estas relaciones son afectadas por parámetros socio-ambientales y se traducen en un aumento de la predisposición para el despliegue de comportamientos agresivos entre individuos (Castro & Caballero, 1998; Caballero & Castro, 1999; Caballero, 2002).

En cuanto a la alimentación, los individuos adultos son carnívoros, mientras que los juveniles son omnívoros, basando su dieta en algas e invertebrados (Bauchot *et al*, 1981; Bauchot & Hureau, 1990).

2.6. Interés Pesquero

En general, *Diplodus sargus cadenati* es una subespecie apreciada en su área de distribución, ya que es parte importante de la cultura gastronómica de muchas regiones. Las capturas son de relativa importancia y su comercialización se realiza en fresco o congelado. Últimamente, se está potenciando su uso en acuicultura, lo que revela su interés a nivel económico.

En Canarias es una subespecie relativamente abundante y de apreciable importancia económica (Bas *et al.*, 1995), constituyendo entre el 1 y el 7% de la captura total realizada por la flota artesanal. Sus capturas se realizan mediante artes de enmalle (trasmallos), trampas (nasas), aparejos (palangres, cordeles o liñas, cañas), arrastres desde playa (chinchorros) y cercos (redes salameras). Se encuentra presente en todas las islas, aunque sus capturas son más elevadas en las islas orientales. La escasa presencia en las islas occidentales puede estar relacionada con su distribución batimétrica, ya que en estas, con fondo muy abruptos y de elevada pendiente, los aparejos y artes de pesca se suelen calar a profundidades donde el sargo no es muy común (Castro *et al*, 2002b). Su explotación se realiza prácticamente durante todo el año, con máximos de captura generalmente a finales de la primavera



Figura 3 - Hábitat del sargo blanco (Foto: S. Gosálvez Díaz).



Figura 4 - Agrupación de sargos (Tomada de González *et al*, 1994).

3

*Área de Estudio***3.1. Localización**

Las Islas Canarias constituyen un archipiélago atlántico (Fig.5) situado aproximadamente a 115 Km de la costa nor-occidental del Continente Africano. Está delimitado por los paralelos 27° 37' y 29° 25'N y los meridianos 13° 25' y 18°16' W, y comprende un conjunto de siete islas principales que ocupan una superficie de aproximadamente 7501 km², con unos 1500 Km de línea de costa (Carracedo, 1984) (Fig. 6). Asimismo, las islas están comprendidas en la región biogeográfica de la “Macaronesia”, junto a los archipiélagos de Azores, Madeira y Cabo Verde.



Figura 5 – Islas Canarias (Foto: NASA).

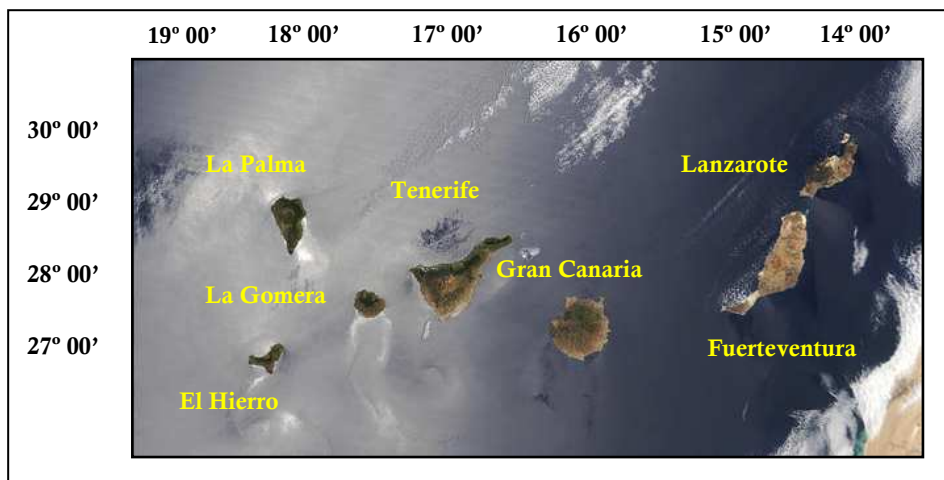


Figura 6 – Localización de las Islas Canarias (Foto: NASA).

3.2. Características Oceanográficas

Las Islas Canarias se encuentran separadas entre sí por profundidades del orden de los 3000 m. El origen volcánico de las islas se pone de manifiesto en la ausencia de plataformas insulares amplias, una característica que es común a la mayoría de los archipiélagos oceánicos. Estas plataformas son generalmente estrechas y están seguidas de un talud que alcanza los 200 m de profundidad a poca distancia de la costa. En la isla de Gran Canaria, el área de mayor plataforma se encuentra localizada en la zona sur y oeste de la misma, verificándose sin embargo un aumento brusco de la profundidad a partir de la isobata de 30 m. El norte y sur de las islas de Lanzarote y Fuerteventura presentan plataformas más o menos extensas, pero en el mismo orden que la observada el oeste de Gran Canaria.

Las singularidades geológicas presentes en las islas se reflejan también en la naturaleza de sus fondos marinos, que son tanto de tipo rocoso, como arenoso, fangoso o de grava.

La hidrología y oceanografía de las aguas del Archipiélago Canario ha sido considerada por diversos autores (Mascareño, 1972; Molina y Laatzen 1986, 1989; Ramos y Sangrá, 1992; Llinás *et al.*, 1993, 1994; Pérez-Martell *et al.*, 1996, entre

otros). Uno de los factores oceanográficos de mayor relevancia es la Corriente de Canarias, ya que esta es responsable por las características ambientales marinas que se observan en el Archipiélago y áreas próximas. Esta corriente, una rama de la corriente cálida generada en el Golfo de México, fluye en dirección sur-suroeste y alcanza una mayor intensidad de flujo cerca del litoral africano, experimentando una clara revitalización al atravesar los canales de separación entre islas. Dado que procede de latitudes más septentrionales, la Corriente de Canarias genera un ambiente marino más frío que aquel que sería de esperar en estas latitudes (en este sentido también existe una importante influencia del afloramiento norteafricano, especialmente en la parte más oriental del Archipiélago).

Las aguas superficiales (hasta 150 m) de Canarias dependen de las condiciones atmosféricas y de la dinámica de la capa de mezcla. Bajo estas se encuentran masas de aguas, que según sus valores de temperatura, salinidad, oxígeno y nutrientes, pueden ser clasificadas como: agua profunda noratlántica, agua mediterránea, agua central del Atlántico Norte y agua antártica intermedia (Mascareño, 1972, Llinás *et al.*, 1993; Medina, 1995).

La temperatura superficial del agua varía lo largo del año entre 16 y 24 °C (Bordes, 1993; Franquet y Brito, 1995; Medina, 1995). Esta disminuye con la profundidad, encontrándose valores de 16-17°C a 200 m y de 2°C a 1500 m (Braun, 1980, Llinás *et al.*, 1993). Los valores de salinidad varían poco en los primeros metros de la columna de agua. Se han observado variaciones entre los 36.54 y 36.64 USP para los primeros 100 m, valores que van disminuyendo con la profundidad (36.54 – 36.25 USP entre 100 y 200 m; 35,13 USP a 1000 m) (Llinás *et al.*, 1993).

En las vertientes suroccidentales o de sotavento de las islas se localizan áreas de calma, las cuales presentan valores de temperatura superficial más elevados (Hernández-León, 1986; Hernández-León, 1988a). Este fenómeno es debido a la barrera formada por las islas al efecto de los vientos alisios, que impide el ascenso de masas de agua profunda, y consecuentemente, dificulta la mezcla con las aguas superficiales.

Según algunos autores, las aguas que rodean las Islas Canarias son oligotróficas, con ligeros aumentos de nutrientes en la zona eufótica, y una baja productividad primaria (Medina *et al.*, 1998; entre otros). En este sentido, Llinás *et al.* (1993) dan valores de fosfatos en superficie de 0,18 $\mu\text{moles/l}$, con un máximo de 1,71 $\mu\text{moles/l}$ a 900 m de profundidad, y un mínimo de 0,13 $\mu\text{moles/l}$ a 20 m. Los nitritos y nitratos presentan un mínimo de 0,45 $\mu\text{moles/l}$ a 30 m, profundidad a partir de la cual la concentración de estos nutrientes asciende hasta llegar a 26,30 $\mu\text{moles/l}$ a 900 m. Los silicatos muestran un patrón de distribución similar, verificándose valores de 0,27 $\mu\text{moles/l}$ a 30 m y de 18,62 $\mu\text{moles/l}$ a 1000 m.

Los trabajos dedicados al estudio de la clorofila *a* y a la producción primaria muestran que los valores de la biomasa estimada en clorofila *a* son bajos (0,15-0,25 mg Ca/m³) (Bordes *et al.*, 1997; Arístegui, 1990), con un ligero gradiente de aumento hacia las islas más orientales. Además, también los valores de biomasa mesozooplancónica son bajos (Bordes *et al.*, 1987; Hernández-León y Miranda-Rodal, 1987).

La distribución vertical de la biomasa fitoplanctónica, en estaciones localizadas sobre la plataforma, suele estar concentrada en los primeros 15 m de profundidad, mientras que sobre el borde del talud los máximos se obtienen a profundidades comprendidas entre los 50 y los 120 m (Bordes *et al.*, 1987; Bordes, 1993). También se ha constatado que el 80% del fitoplancton presente corresponde a la fracción menor de 10 μm , y que el 77% de la clorofila *a* pertenece al ultraplancton (Braun *et al.* 1985, Bordes, 1993; Medina, 1995). El fitoplancton de red es de poca relevancia, hecho que puede estar relacionado con la ausencia de nutrientes en las aguas de la Corriente de Canarias (Braun y Real, 1981).

En aguas al sur de la isla de Gran Canaria, el 51,1% de la biomasa zooplánctónica se encuentra en los primeros 200 m de la columna de agua, con máximos a finales de invierno y a principios de primavera (Hernández-León *et al.*, 1984), siendo los copépodos el grupo más importante (Fernández de Puellas, 1987; Hernández-León, 1988a). Los valores de biomasa en el sur de Gran Canaria son superiores a los observados al norte de Tenerife, lo que parece ser atribuible a la

presencia de una plataforma insular más amplia (Braun, 1980; Hernández-León *et al.*, 1984; Hernández-Léon., 1988a, Hernández-León *et al.*, 1988c, Gómez-Cabrera, 1991).

La oceanografía de las Islas Canarias, y en particular la de las islas más orientales, está claramente influenciada por el afloramiento del Norte de África, que genera variaciones espacio-temporales en el entorno de estas (Molina y Laatzén, 1986, 1989; Arístegui, 1990; Hernández-Guerra, 1993), con claras consecuencias en la composición faunística (Brito *et al.*, 1996; Rodríguez *et al.*, 1999).

4

Material y Métodos Generales

4.1. Procedencia de las muestras

En el análisis de los parámetros morfométricos y merísticos se utilizaron un total de 1009 ejemplares procedentes de capturas comerciales desembarcadas por la flota artesanal en diversos puertos de las islas de Gran Canaria y La Palma (Fig.7), durante el periodo comprendido entre los meses de enero de 2000 y marzo de 2001. Se analizaron 611 ejemplares procedentes de los puertos de Arinaga y Mógan (Fig. 8), en la isla de Gran Canaria, y 397 de Tazacorte y Santa Cruz de La Palma (Fig. 9), en isla La Palma. Los ejemplares se obtuvieron con una frecuencia mensual (Tabla 1). En general procedieron de pescas efectuadas con nasas, aunque en la isla de La Palma también se utilizaron cordeles para su captura.

Para el estudio genético se consideró un rango geográfico de mayor amplitud. Se utilizaron cincuenta ejemplares para tres de las islas estudiadas: Gran Canaria, La Palma y Lanzarote, estos últimos procedentes de los puertos de Arrecife y Orzola (Fig. 10). Sin embargo, para la isla de Tenerife el número de ejemplares utilizado fue menor ($n=10$), ya que existían dudas sobre el origen exacto de algunas de las muestras. Estos ejemplares fueron obtenidos en el puerto de Los Cristianos (Figs. 7 y 11).

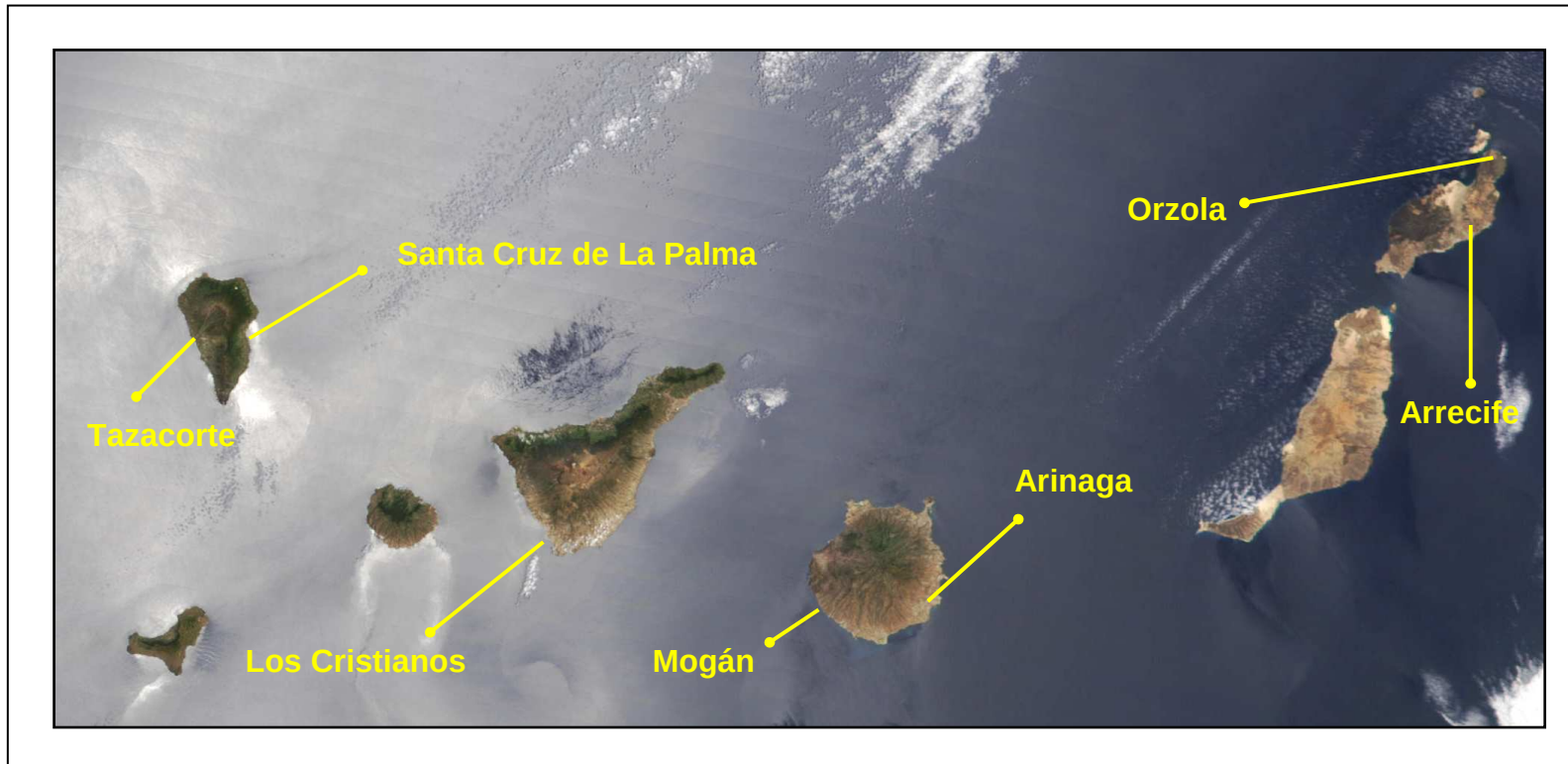


Figura 7 - Mapa de las Islas Canarias mostrando los puertos de procedencia de las muestras (Foto: NASA).



Figura 8 - Puerto de Mogán (Gran Canaria).



Figura 9 - Puerto de Tazacorte (La Palma).



Figura 10 - Puerto de Orzola (Lanzarote).



Figura 11 - Puerto de Los Cristianos (Tenerife).

Tabla 1 - Número de individuos recogidos por mes para las islas de Gran Canaria y La Palma.

Mes		Nº individuos Gran Canaria	Nº individuos La Palma
Enero	2000	26	-
Febrero	2000	38	2
Marzo	2000	42	9
Abril	2000	58	25
Mayo	2000	43	23
Junio	2000	38	26
Julio	2000	33	51
Agosto	2000	51	36
Septiembre	2000	14	55
Octubre	2000	48	43
Noviembre	2000	43	30
Diciembre	2000	49	36
Enero	2001	50	21
Febrero	2001	27	12
Marzo	2001	50	28
Total		611	397

4.2. Estrategia en la toma de muestras

La toma de las muestras biológicas se realizó de modo aleatorio, con el objetivo de obtener un rango de tallas que fuese representativo de la captura total desembarcada por la flota artesanal, en cada una de las islas consideradas. Se procuró que los individuos obtenidos fueran representativos de todos los rangos de tallas considerados para esta subespecie. Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de Pesquerías de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, por un mismo observador, y se consideraron distintos parámetros biológicos.

En el estudio genético se optó por considerar varios puntos de muestreo, un procedimiento común seguido según la bibliografía referente al tema (e.g. Pla &

Martí, 1999). Los datos así recopilados aportan información importante sobre la estructura de la población, aunque algunas veces puedan constituir una simplificación de la situación real. En general, se requiere un amplio rango de muestreo de las especies, ya que de esta forma se consigue una mejor aproximación a la estructura poblacional existente. En ese sentido, y por motivos operacionales, sólo se consideraron cuatro de las islas del Archipiélago. Por otro lado, las marcadas diferencias geomorfológicas (especialmente a nivel de plataforma insular disponible) y oceanográficas entre las islas más occidentales y orientales fue otro de los factores que se tuvo en cuenta a la hora de elegir las zonas de muestreo. Todo esto permitió realizar un análisis comparativo entre las diferentes islas, y obtener información de carácter innovador para la subespecie en esta área geográfica.

4.3. Metodología de laboratorio

Dada la lejanía entre los distintos puntos de muestreo, algunas de las muestras fueron congeladas después de la captura, razón por la cual, no siempre fue posible realizar su estudio biológico en fresco. Los datos morfométricos y biológicos se procuraron obtener con la mayor celeridad posible, en general, en el día posterior a la captura.

Al total de ejemplares se les tomaron diferentes medidas de longitud (total - LT, furcal - LF y estándar - LS), que fueron realizadas sobre un ictiómetro y colocando el animal sobre su flanco derecho, en dirección paralela al eje antero-posterior del cuerpo. Las restantes medidas morfométricas y merísticas fueron tomadas de modo similar, y haciendo uso de un calibrador digital. La apreciación en la toma de las medidas fue de 1 mm.

A continuación, se tomó el peso total (PT) y eviscerado (PE) en una balanza electrónica (Sartorius modelo Basic BA110S), con una precisión de 0.1g.

Posteriormente, todos los ejemplares fueron abiertos por la línea media abdominal, practicando una incisión desde el orificio anal hasta la región gular. Se

les extrajeron las gónadas, y se les determinó macroscópicamente el sexo y el estado de madurez sexual (Fig.12). Además, se tomó el peso de las gónadas (PG), siendo estas posteriormente conservadas en líquido de Gilson o formol tamponado al 10%. A cada uno de los ejemplares también se les extrajo el hígado, los cuales fueron pesados (PH), y almacenados en un congelador a -20° C. En ambos casos, la apreciación en la toma de las medidas fue de 0.01g.

Asimismo, a los ejemplares les fueron extraídos los otolitos. Para ello, se realizó un corte transversal entre el borde posterior de los ojos y el anterior de las branquias (Fig. 13). Los otolitos *saggita* se extrajeron con unas pinzas finas, y se limpiaron con papel, previa su inmersión en agua por un período de 5 a 10 minutos. Después, estos fueron debidamente guardados e etiquetados.

Por último, para el análisis genético, a los individuos seleccionados se les extrajo los diferentes tejidos (hígado, músculo y ojo; Fig.12). Cada uno de estos fue envuelto en papel de aluminio y guardado en una misma bolsa, con una etiqueta correspondiente a cada ejemplar. Después se almacenaron en un congelador a -20°C, hasta la realización de la electroforesis. Todo el procedimiento fue realizado en el menor tiempo posible, ya que procesos de recolección y almacenamiento impropios conducen a la reducción o pérdida de actividad enzimática (Aebersold *et al.*, 1987).

4.4. Análisis de los Datos

En el estudio morfométrico y merístico se consideraron los datos por sexos y por islas. El análisis estadístico fue realizado con los programas Excel-97 (Microsoft), y Statistica versión 7.0 (Statsoft Inc).

En el análisis genético se separaron los datos por islas, y se utilizó el programa estadístico BIOSYS-1 (Swofford & Selander, 1981), GENPOP (Raymond & Rousset, 1997) y PHYLIP (Felsenstein, 2005).

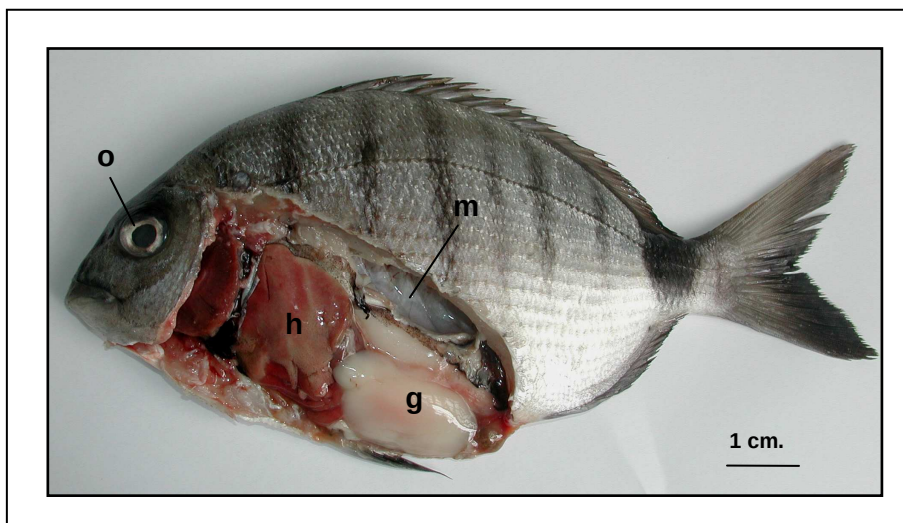


Figura 12 – Foto de un ejemplar de *Diplodus sargus cadenati* donde se observan los diferentes tejidos utilizados para el análisis isoenzimático (h: hígado; g: gónada; m: músculo; o: ojo) (Foto: Yeray Pérez).

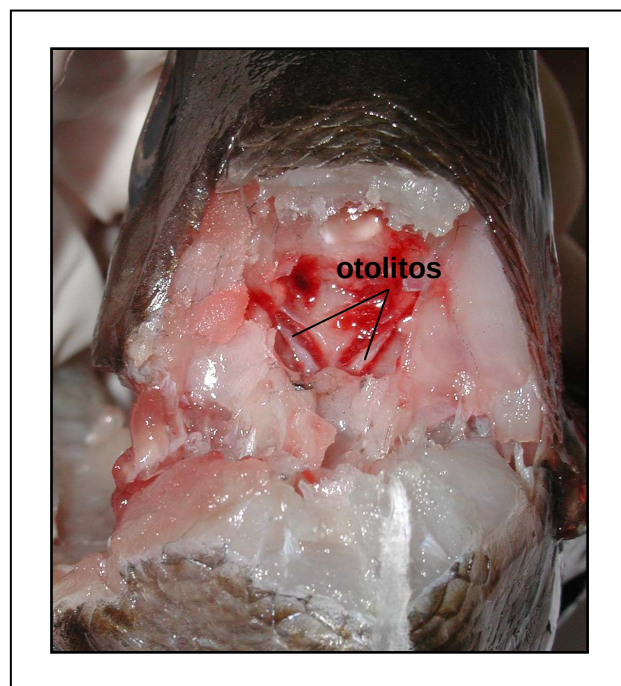


Figura 13 – Foto donde se muestra la localización de los otolitos *saggita* de *Diplodus sargus cadenati* (Foto: Yeray Pérez).

5

*Morfometría***5.1. Introducción**

Es indudable la importancia que el estudio morfométrico, con sus respectivas variaciones, tiene en el conocimiento de la biología de las especies. Dichas variaciones no son más que el resultado de la expresión parcial de las características fenotípicas y genotípicas de un organismo, y de cómo este interacciona con el medio (Bas, 1959). De ahí que los estudios sobre el crecimiento relativo de los organismos hayan sido siempre de especial interés para los investigadores. De hecho existen gran cantidad de referencias sobre aspectos morfométricos de espáridos en la bibliografía (e.g. Cardenas, 1978; Botros *et al.*, 1985; Wassef, 1985; Martínez y Villegas 1992; entre otros).

Las relaciones morfométricas reflejan el crecimiento diferencial de las distintas partes del cuerpo en las tres dimensiones del espacio a lo largo del tiempo. En los seres vivos, éstas representan un equilibrio dinámico entre el medio interno y externo, y constituyen un importante valor de adaptación. Cualquier tipo de variación biológica implica una respuesta del organismo, que tiende a reflejarse en el establecimiento de formas más estables y equilibradas que garanticen la supervivencia con el tiempo. Sin embargo, este complejo proceso no se limita únicamente a los cambios morfológicos externos, ya que sus repercusiones también se hacen notar en la anatomía interna, etología, fisiología, metabolismo y preferencias alimenticias de los organismos (Kendal *et al.*, 1984). En este sentido, muchos trabajos han hecho referencia sobre la relación de la morfología con la

dieta o de la relación de los hábitos alimenticios con la comunidad ecológica (e.g. Delariva & Agostinho, 2001; Hugueny & Pouilly, 1999; Bouton *et al.*, 1998; Hahn *et al.*, 1997; entre otros). En definitiva, el estudio de las relaciones morfométricas es de considerable valor, al permitir inferir cual es la influencia del hábitat sobre los seres vivos y de cómo éstos se adaptan a las limitaciones impuestas por el mismo (Bas, 1964).

Los caracteres morfológicos representan un synergismo entre la forma y el tamaño, y sus diferencias son normalmente descritas como contraposiciones en la forma global del cuerpo o en características anatómicas determinadas (Ihssen *et al.*, 1980; Castro *et al.*, 2002b). Estas medidas están representadas por datos continuos, dado que los peces son organismos que experimentan varios cambios corporales a lo largo de su desarrollo, y que además presentan un crecimiento indefinido. Por otro lado, los caracteres merísticos son aquellos que han tenido lugar como consecuencia de la segmentación del cuerpo en el periodo de evolución histórica de una especie (Castro *et al.*, 2002b). En general incluyen elementos repetidos en serie, como es el caso de los radios de las aletas o las vértebras. Estos están representados por datos discretos, porque suelen ser medidas estables a partir de una determinada talla. Es evidente que tanto las medidas morfométricas como las merísticas son fundamentales en la diferenciación de especies, poblaciones o estadios ontogénicos.

En este sentido, los análisis biométricos y merísticos han sido utilizados para diferenciar taxones, constatar posibles diferencias entre tamaños y sexos, e incluso, estimar aspectos relacionados con el proceso de desarrollo, como son la existencia de alometrías en el crecimiento (Martínez y Villegas, 1992). Entre los parámetros más utilizados se encuentran la longitud y el peso, los cuales sirven para identificar las características biológicas de cualquier especie, tanto a nivel de individuo como de población (Hernández-García & Castro, 1998). Las relaciones entre la longitud y el peso tienen varias aplicaciones, como la estimación del peso a partir de la longitud de un individuo o por clases de individuos, la estimación de la biomasa a pescar cuando la distribución de frecuencias es conocida, la determinación de los factores de condición, la conversión de la longitud en ecuaciones de crecimiento, el establecimiento de comparaciones morfológicas entre poblaciones de diferentes

áreas, u otros aspectos de la dinámica poblacional de los peces (Anderson & Gutreuter, 1983; Petrakis & Stergiou, 1995). Además, todos estos caracteres anatómicos se han aplicado a estudios de variabilidad de stocks, ya que la cuantificación de las características específicas de un individuo, o grupo de individuos, puede demostrar el grado de especiación inducido por condiciones abióticas y/o bióticas (Palma & Andrade, 2002). Hoy en día, el análisis de estas variables, conjuntamente con estudios fisiológicos y bioquímicos, constituye una herramienta muy útil en la evaluación de la estructura de los stocks de muchas especies de peces marinos (Schaefer, 1989; Palma & Andrade, 2002). Sin duda, todas éstas variables son esenciales en una gran variedad de estudios, ya que constituyen la base de la gestión y control de las pesquerías.

En el presente capítulo se pretende determinar las características morfométricas y merísticas del *Diplodus sargus cadenati* para las islas de Gran Canaria y La Palma, así como verificar la existencia de posibles diferencias entre estos parámetros.

5.2. Material y Métodos

5.2.1. Toma de Muestras

Se dispuso de un total 1008 ejemplares, de los cuales 611 procedían de la isla de Gran Canaria y 397 de la isla de La Palma. Los rangos de pesos y longitudes obtenidos para cada una de las islas se describen en el apartado de resultados del presente capítulo.

También se consideró la relación **Longitud-Peso**, que sirve para determinar de manera indirecta el ritmo de crecimiento de un organismo. Es decir, es posible estimar la ecuación de la curva de correlación entre longitud y peso, y conocer una variable a partir de la otra. La relación Longitud-Peso se puede expresar a partir de la siguiente ecuación:

$$P = aL^b$$

donde, **P** representa el peso (en gramos), **L** la longitud (en centímetros), **a** es una constante que indica el punto de corte de la curva con el eje de las ordenadas, y **b** la pendiente de la recta de regresión entre ambos parámetros en escala logarítmica, es decir, el coeficiente de alometría. Cuando el valor de **b** es igual a 3 la relación Longitud-Peso es isométrica, mientras que si es diferente de 3 es alométrica ($b > 3$; $b < 3$). Tanto los factores externos como los internos afectan a esta relación, por lo que la misma cambia dependiendo de la época de captura, del estado de desarrollo gonadal e incluso del intervalo de tallas considerado (Martínez y Villegas, 1992).

En este estudio se estimó esta relación por sexos y para las islas de Gran Canaria y La Palma.

A cada uno de los ejemplares también se les tomaron medidas morfométricas y merísticas (entre paréntesis se da el código que se ha utilizado en este trabajo), que se describen a continuación (Figs. 14 y 15):

- **Medidas Morfométricas**

Peso (P). Peso del animal entero tomado en fresco.

Peso eviscerado (PE). Peso húmedo del ejemplar sin gónadas, aparato digestivo e hígado.

Longitud total (LT). Distancia medida desde extremo anterior del hocico, con la boca cerrada, hasta el extremo más distal dibujado por una línea imaginaria que une las puntas de ambos lóbulos de la aleta caudal.

Longitud Furcal (LF). Distancia medida desde extremo anterior del hocico, con la boca cerrada, hasta la bifurcación caudal.

Longitud Estándar o Standard (LS). Distancia medida desde extremo anterior, con la boca cerrada, hasta el urostilo (última vértebra de la columna vertebral antes del inicio de la aleta caudal).

Longitud Predorsal (LD). Longitud a la inserción de la aleta dorsal. Distancia medida desde extremo anterior del hocico, con la boca cerrada, hasta el origen anterior de la base de la aleta dorsal (punto de intersección del borde anterior del primer radio).

Longitud Preanal (PA). Longitud a la inserción de la aleta anal. Distancia medida desde extremo anterior del hocico, con la boca cerrada, hasta el inicio de la base de la aleta anal.

Longitud Preventral (LV). Longitud a la inserción de las aletas ventrales. Distancia medida desde extremo anterior del hocico, con la boca cerrada, hasta el inicio de la base de las aletas ventrales.

Longitud Prepectoral (LP). Longitud a la inserción de las aletas pectorales. Distancia medida desde extremo anterior del hocico, con la boca cerrada, hasta el punto medio dibujado por la inserción de la aleta pectoral.

Longitud Céfalica (LC). Distancia medida desde extremo anterior del hocico, con la boca cerrada, hasta el borde más posterior del hueso opercular.

Longitud Mandibular (LM). Distancia medida desde extremo de la mandíbula inferior hasta el inicio de la articulación o comisura.

Distancia Interorbital (DO). Distancia existente entre ambos ojos medida sobre el perfil dorsal de la cabeza.

Altura Opercular (AO). Distancia medida entre el vientre y el dorso del pez, a nivel del final del opérculo y principio de la inserción de la aleta pectoral.

Altura Anal (AA). Distancia medida entre el vientre y el dorso del pez, a nivel del orificio anal.

- **Medidas Merísticas**

Número de branquiespinas de la rama superior del primer arco branquial.

Número de branquiespinas de la rama inferior del primer arco branquial.

Número de espinas de la aleta dorsal.

Número de radios blandos de la aleta dorsal.

Número de espinas de la aleta anal.

Número de radios blandos de la aleta anal.

Número de espinas de la aleta ventral.

Número de radios blandos de la aleta ventral.

Número de incisivos en la mandíbula superior.

Número de incisivos en la mandíbula inferior.

Número de molares en la mandíbula superior.

Número de molares en la mandíbula inferior.

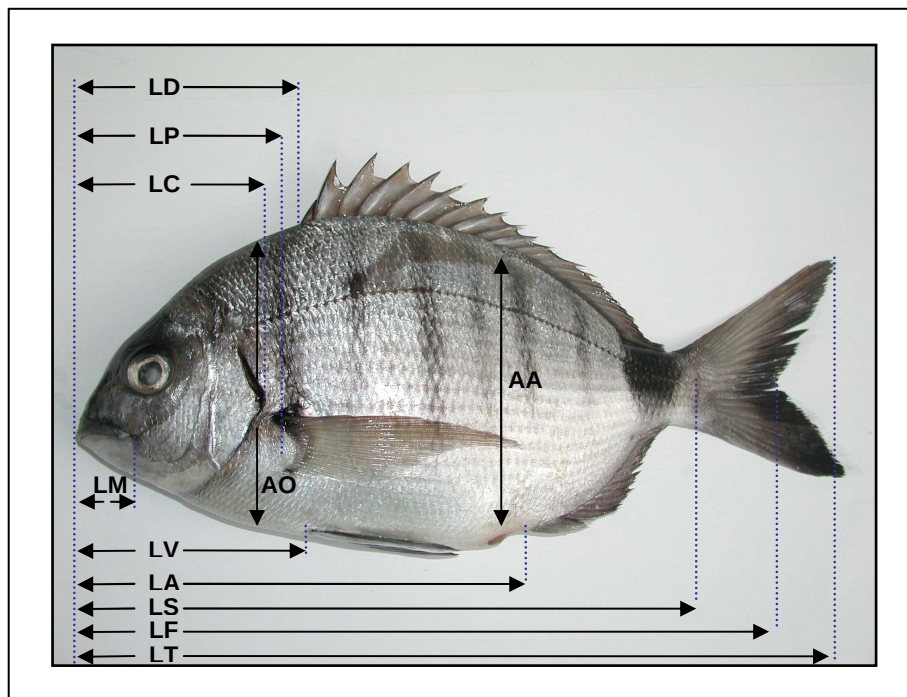


Figura 14 – Relación de medidas morfométricas tomadas en *Diplodus sargus cadenati* (Foto: Yeray Pérez).

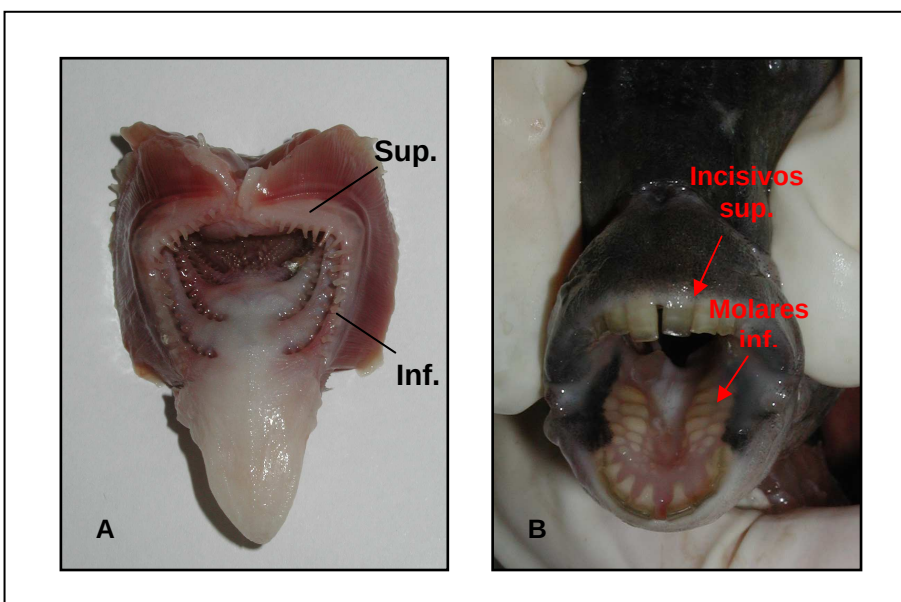


Figura 15 - Medidas merísticas (A: branquiespinas; B: boca) (Sup.: superior; Inf.: inferior) (Foto: Yeray Pérez).

5.2.2. Tratamiento estadístico

Las medidas de las distancias corporales presentan la particularidad de cambiar con el crecimiento. Una técnica frecuentemente utilizada en la evaluación de diferencias en la forma del cuerpo es la utilización de proporciones de las distintas medidas con respecto a la longitud del cuerpo. Esta técnica puede resultar de gran utilidad al asumir que las proporciones son una forma de eliminar el efecto de la talla del individuo. Esta consiste en dividir todas las medidas corporales por la talla, que en este caso ha sido la longitud estándar (LS). Sin embargo, estas proporciones también pueden variar con el crecimiento.

Para el tratamiento de datos se utilizó el programa Statistica versión 6.0 (StatSoft, Inc). Las medidas corporales fueron analizadas utilizando estadísticos univariantes (ANOVA o prueba de Mann-Whitney, según las series mostrasen una distribución normal o no), a la vez que todos los caracteres fueron tratados con estadísticos multivariantes de forma simultánea (MANOVA, Análisis de los Componentes Principales y Análisis de la Función Discriminante).

5.3. Resultados

5.3.1. Rangos de Tallas y Pesos

Para la isla de Gran Canaria, el rango de tallas de los ejemplares muestreados osciló entre 14,2 y 37,7 cm de longitud total, y sus pesos entre 44,4 y 952,5 g. Para los ejemplares capturados en la isla de La Palma estos valores se situaron entre 12,6 y 33,6 cm y 43,4 y 672,4 g, respectivamente. El rango de estas medidas se encuentra representado en la Tabla 2. Se observó un valor próximo para la talla media de las islas de Gran Canaria y La Palma, 21,3 cm y 20,1 cm. Lo mismo sucedió con los pesos, aunque esta medida presentó una mayor variabilidad, siendo el valor medio para Gran Canaria de 180,0 g y de 155,7 g para La Palma.

Tabla 2 - Pesos y medidas corporales de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma.

(g; cm)	Gran Canaria			La Palma		
	X	SD	Rango	X	SD	Rango
Peso	179,98	106,58	44,4-952,5	155,74	94,80	34,3-672,4
Peso Eviscerado	161,80	93,66	15,3-855,8	141,76	84,60	29,7-569,3
Total	21,27	3,55	14,2-37,7	20,09	3,87	12,6-33,6
Furca	18,41	3,11	12,2-32,9	17,34	3,30	11,1-29,0
Estándar	16,33	2,87	10,3-30,0	15,33	2,99	9,6-25,9
Dorsal	5,27	1,03	3,3-10,5	4,90	1,09	2,4-9,1
Pectoral	5,08	0,96	2,98-9,98	4,76	1,04	3,0-8,7
Ventral	5,59	0,99	3,5-10,5	5,28	1,11	3,4-9,9
Anal	10,63	1,93	6,6-19,4	9,94	2,10	5,8-17,7
Cefálica	4,51	0,88	2,5-8,9	4,22	0,98	2,7-8,9
Mandíbula	1,57	0,37	0,9-3,8	1,51	0,39	0,9-3,2
Alt. Opercular	6,90	1,20	3,9-12,3	6,51	1,26	2,5-10,5
Alt. Anal	7,60	1,13	1,5-13,1	7,28	1,29	4,5-11,1
Interorbital	1,64	0,32	0,3-3,2	1,55	0,35	0,9-2,9

En general, no se apreciaron diferencias significativas en los valores medios de la práctica totalidad de las medidas corporales de los ejemplares muestreados en las islas de Gran Canaria y La Palma, aunque se mostraron siempre menores para la isla de La Palma (Tabla 2).

5.3.2. Relación longitud-peso

La relación de longitud-peso (eviscerado) para machos y hembras para la isla de Gran Canaria es la siguiente:

Machos:

Peso= $0,077907 (LS^{2,7139})$ (Coeficiente de Correlación de Pearson $r=0,90$, R de Spearman=0,95 $P<0,0001$) (Fig. 16)

Hembras:

Peso= 0,09047 (LS ^{2,6521}) (Coeficiente de Correlación de Pearson $r=0,97$, R de Spearman= $0,95$ $P<0,0001$) (Fig. 17)

Total de la población:

Peso= 0,08582 (LS ^{2,673673}) (Coeficiente de Correlación de Pearson $r=0,95$, R de Spearman= $0,96$ $P<0,0001$) (Fig. 18)

La relación longitud-peso (eviscerado) para machos y hembras de La Palma es la siguiente:

Machos: Peso= 0,09499 (LS ^{2,647027}) (Coeficiente de Correlación de Pearson $r=0,99$, R de Spearman= $0,98$ $P<0,0001$) (Fig. 19)

Hembras:

Peso= 0,070045 (LS ^{2,757351}) (Coeficiente de Correlación de Pearson $r=0,99$, R de Spearman= $0,99$ $P<0,0001$) (Fig. 20)

Total de la población:

Peso= 0,065146 (LS ^{2,779416}) (Coeficiente de Correlación de Pearson $r=0,98$, R de Spearman= $0,98$ $P<0,0001$) (Fig. 21)

En la relación Longitud-Peso no se observaron diferencias significativas entre sexos, e islas. Todos los análisis considerados presentaron un valor de **b** aproximadamente similar.

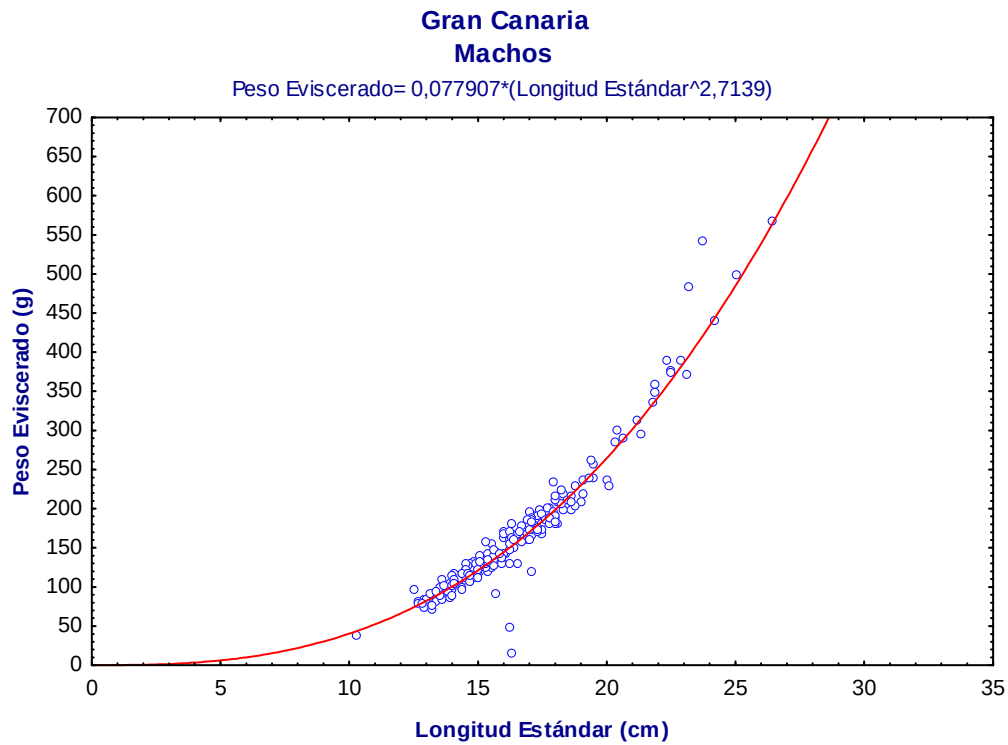


Figura 16 - Relación talla-peso para ejemplares macho de *Diplodus sargus cadenati* obtenidos en la isla de Gran Canaria.

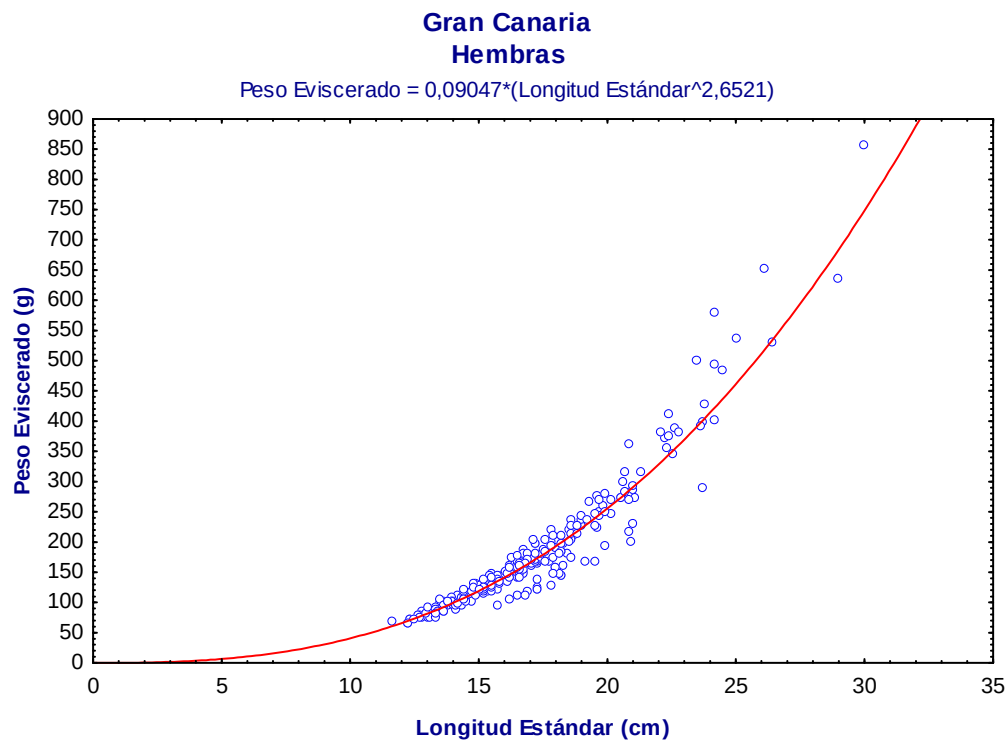


Figura 17 - Relación talla-peso para ejemplares hembra de *Diplodus sargus cadenati* obtenidos en la isla de Gran Canaria.

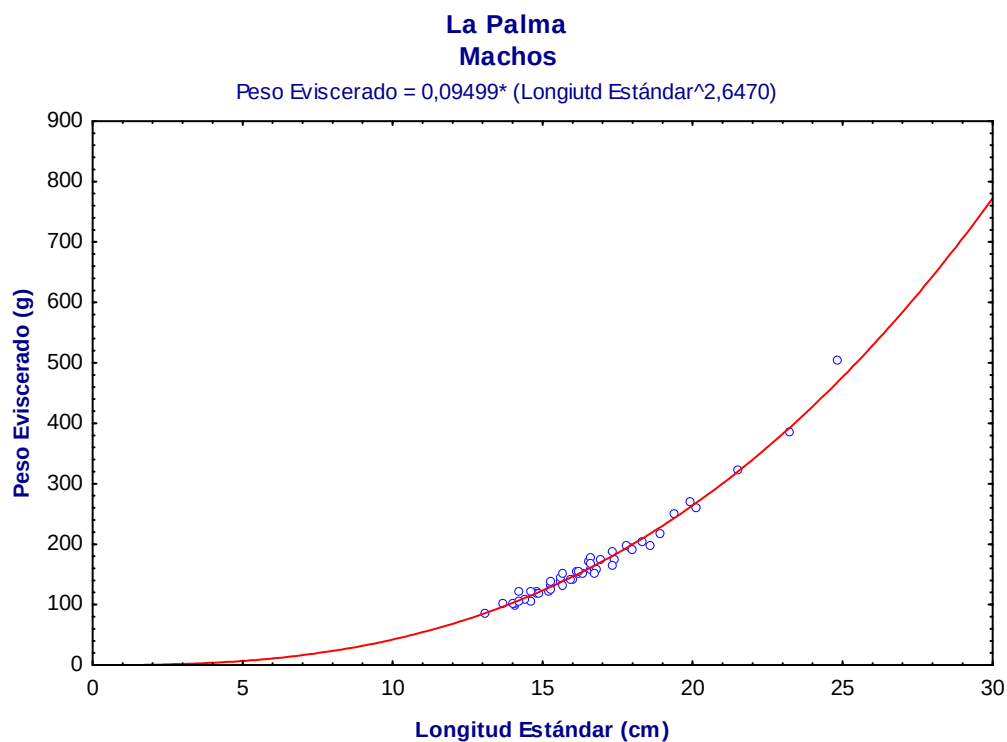


Figura 18 - Relación talla-peso para ejemplares macho de *Diplodus sargus cadenati* obtenidos en la isla de La Palma.

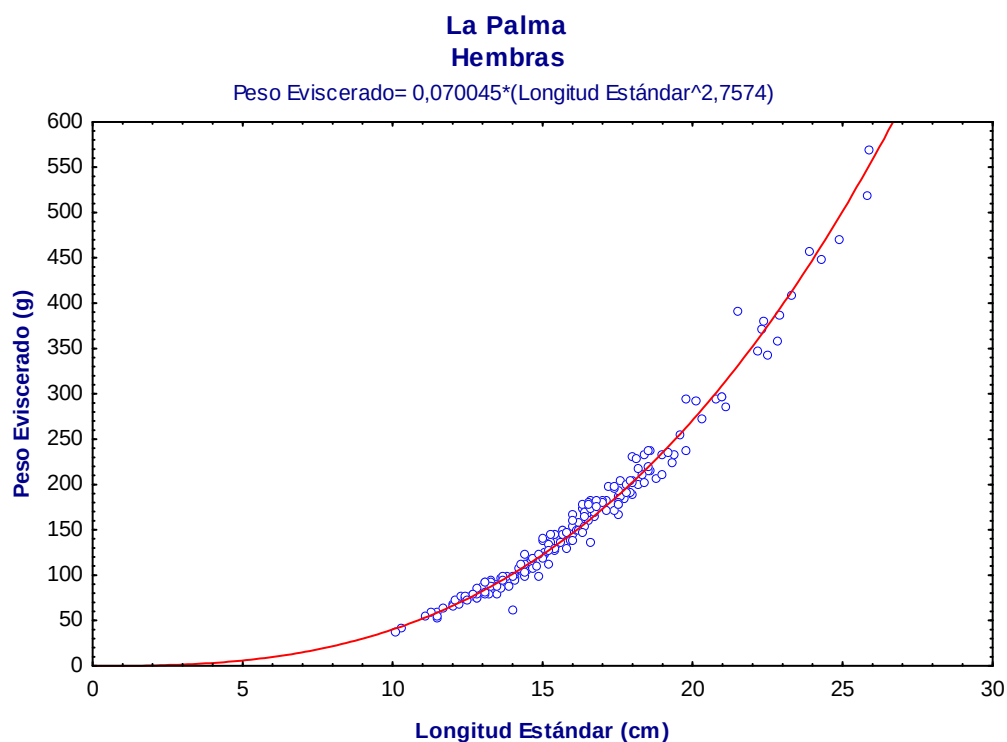


Figura 19 - Relación talla-peso para ejemplares hembra de *Diplodus sargus cadenati* obtenidos en la isla de Gran Canaria.

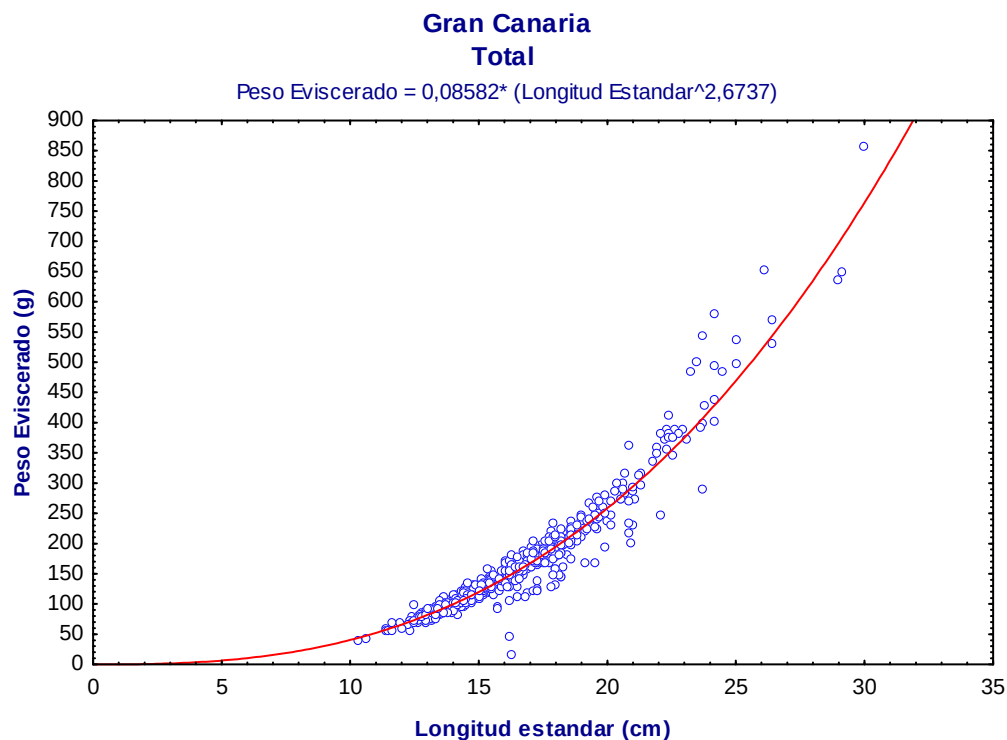


Figura 20 - Relación talla-peso para el conjunto de individuos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de Gran Canaria.

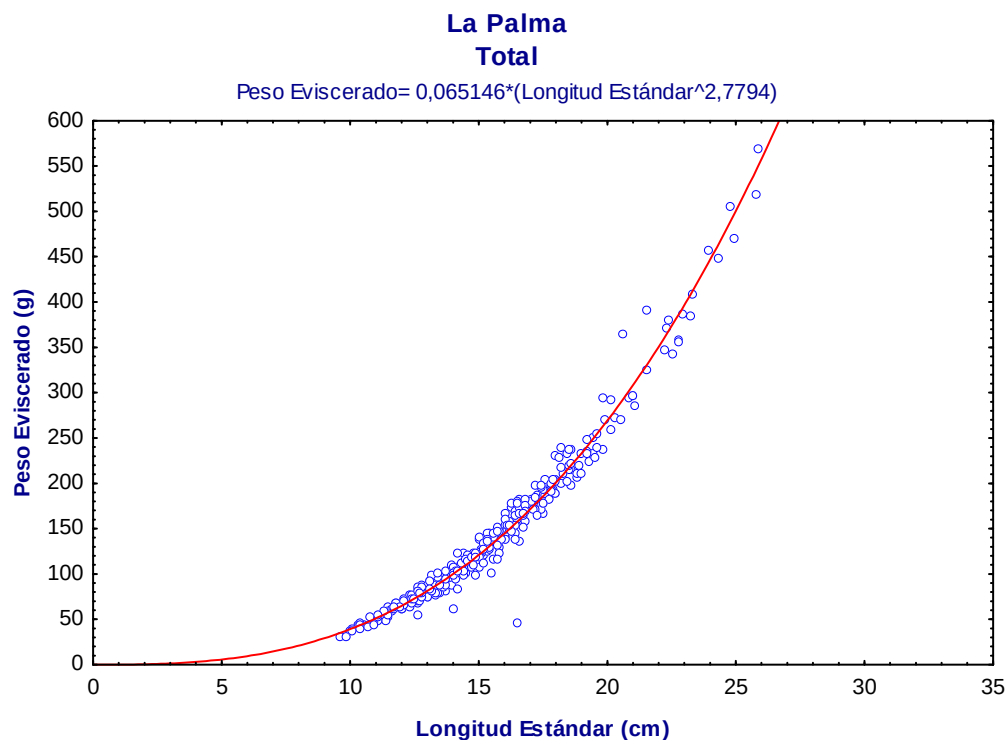


Figura 21 - Relación talla-peso para el conjunto de individuos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de La Palma.

5.3.3. Análisis Morfométrico

No se observaron diferencias significativas en las medidas corporales, y sus rangos respectivos, de los ejemplares procedentes de las islas de Gran Canaria y La Palma. Sin embargo, si se apreciaron algunas diferencias para el análisis de las proporciones corporales, con relación a la longitud estándar. Se verificó una mayor proporción del tamaño de la mandíbula superior en los individuos de La Palma, con respecto a los de Gran Canaria (Mann-Whitney U test; $U=101943,0$, $P<0,001$). Resultados similares se obtuvieron en la altura del cuerpo en la región anal (Mann-Whitney U test; $U=98849,0$, $P<0,001$) (Tabla 3).

En general, las proporciones de las regiones cefálica y central de los individuos de la isla de Gran Canaria fueron ligeramente superiores. Sin embargo, la región anal y la altura del cuerpo, tanto en la zona opercular como del ano, fueron proporcionalmente más pequeñas en comparación con los ejemplares procedentes de La Palma (Tabla 3).

Se observó una alta heterogeneidad en las medidas y proporciones del cuerpo de esta subespecie. En la tabla 4 se resumen las tendencias que experimentaron las diferentes proporciones corporales con respecto a la longitud estándar. Casi todas las proporciones corporales mantuvieron una correlación significativa con la variación de la longitud del cuerpo, aunque los coeficientes de variación resultaron ser muy bajos (indicando una escasa variación con la talla). Sin embargo, se observó que algunas de las proporciones corporales invierten su tendencia con el incremento de la talla, dependiendo de la isla de procedencia de los individuos. En este sentido, la longitud ventral mostró una tendencia a aumentar con la talla en La Palma y a disminuir en Gran Canaria (aunque la correlación mostrada por los datos de La Palma no fue significativa). Igualmente, la relación entre la distancia interorbital y la longitud de la cabeza presentó un patrón similar a la proporción anterior.

Tabla 3 - Proporción guardada entre las diferentes partes del cuerpo de *Diplodus sargus cadenati* y la longitud estándar, y niveles de significancia estadística, en ejemplares capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma.

Proporción respecto a la longitud estándar	Gran Canaria			La Palma			MANN-WHITNEY		ANOVA	
	X	SD	RANGO	X	SD	RANGO	U	P	F	P
Dorsal	32,28	1,96	25,6-46,2	31,89	1,86	20,0-37,6			9,65	0,002
Pectoral	31,08	1,64	23,6-35,9	30,95	1,77	20,0-39,3			1,36	0,244
Ventral	34,30	1,68	28,1-39,6	34,47	1,73	26,7-39,8			2,49	0,115
Anal	65,14	2,57	56,0-77,8	64,76	3,40	55,3-71,4	106197,0	0,015		
Céfalica	27,58	1,72	21,9-35,8	27,42	1,93	21,4-33,6			1,85	0,174
Mandíbula	9,58	0,89	6,2-13,0	9,77	0,89	6,3-12,5	101943,0	<0,001		
Alt. Opercular	42,35	2,53	33,6-50,5	42,62	2,93	29,0-51,4			2,43	0,119
Alt. Anal	46,96	2,80	38,3-60,5	47,68	2,89	32,1-60,5	98849,0	<0,001		
Interorbital	10,08	0,62	8,19-12,7	10,06	0,63	7,3-11,9			0,12	0,734

Proporción respecto a la long. de la cabeza	Gran Canaria			La Palma			MANN-WHITNEY		ANOVA	
	X	SD	RANGO	X	SD	RANGO	U	P	F	P
Mandíbula	34,78	2,99	23,8-46,4	35,72	3,10	25,8-45,7			22,75	<0,001
Interorbital	36,60	2,54	18,2-45,4	36,86	2,91	27,8-47,7			2,15	0,143

ANOVA MULTIVARIANTE: Lambda de Wilks = 0,933; R de Rao= 6,35; $P < 0,00001$

Tabla 4 - Parámetros de la correlación existente entre las diferentes proporciones del cuerpo de *Diplodus sargus cadenati* con la longitud estándar, y niveles de significancia estadística, en ejemplares capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma.

Correlación con longitud estándar	Gran Canaria					La Palma				
	R	P	r	a	b	R	P	r	a	b
Dorsal	0,102	0,01	0,090	31,24	0,041	0,236	<0,001	0,29	29,43	0,161
Pectoral	0,016	0,69	0,031	30,79	0,018	0,259	<0,001	0,235	28,81	0,139
Ventral	-0,140	<0,001	-0,116	35,41	-0,068	0,021	0,68	0,096	33,68	0,051
Anal	0,004	0,92	0,013	64,95	0,012	0,264	<0,001	0,213	61,65	0,202
Cefálica	0,044	0,27	0,071	26,88	0,043	0,212	<0,001	0,229	25,20	0,145
Mandíbula	0,233	<0,001	0,310	7,99	0,097	0,422	<0,001	0,463	7,66	0,138
Alt. Opercular	-0,211	<0,001	-0,191	45,10	-0,168	-0,129	0,02	-0,180	45,14	-0,164
Alt. Anal	-0,590	<0,001	-0,554	55,87	-0,546	-0,367	<0,001	-0,367	53,12	-0,355
Interorbital	0,008	0,85	0,049	9,91	0,011	0,387	<0,001	0,397	8,82	0,081

Correlación con longitud de la cabeza	Gran Canaria					La Palma				
	R	P	r	a	b	R	P	r	a	b
Mandíbula	0,089	0,02	0,198	31,68	0,687	0,093	0,07	0,161	33,50	0,529
Interorbital	-0,242	<0,001	-0,193	39,05	-0,536	-0,114	0,03	-0,109	38,29	0,339

5.3.4. Análisis Merístico

El análisis de los caracteres merísticos indicó diferencias significativas en el número de branquiespinas, que componen ambas ramas del primer arco branquial, en los ejemplares procedentes de distintas islas (Tabla 5). En el caso concreto del número de branquiespinas de la rama inferior, se observó que las proporciones de individuos difieren entre islas de forma significativa (Chi-Cuadrado esperado vs. observado = 10,18; $P < 0,037$) (Tabla 6). Sin embargo, estas diferencias no se observaron en el caso de la rama superior (Chi-Cuadrado esperado vs. observado = 5,29; $P < 0,26$) (Tabla 7).

La variación del número de incisivos en la mandíbula superior no presentó diferencias significativas entre los individuos procedentes de ambas islas (Chi-Cuadrado esperado vs. observado = 8,19; $P < 0,085$). Sin embargo, se observó que el rango de este parámetro es superior en los sargos procedentes de ambas islas al descrito como estándar para la especie en el Atlántico Centro-oriental (Bauchot *et al.* 1981), aunque no se verificaron diferencias significativas para ningún de los casos (Chi-Cuadrado = 0,58; $P > 0,74$, para Gran Canaria y Chi-Cuadrado = 0,30; $P < 0,85$ para La Palma). Esto también se observó en relación a los molares presentes en la mandíbula superior, donde tampoco se apreciaron diferencias significativas entre islas (Chi-cuadrado esperado vs. observado 4,63; $P < 0,33$) (Tablas 8 y 9).

Por otro lado, sucede algo similar con la proporción de individuos con variación en el número de radios blandos en la aleta anal, donde se observaron una apreciable cantidad de individuos con un mayor número de radios anales que lo descrito para la especie en el Atlántico Centro-oriental (4,67% en Gran Canaria y 5,4% en La Palma), pero sin diferencias significativas entre ambas islas (Chi-Cuadrado esperado vs. observado = 0,79; $P < 0,85$). Respecto al número de radios blandos de la aleta dorsal, las proporciones de individuos con variaciones tampoco mostraron diferencias significativas entre islas (Chi-Cuadrado esperado vs. observado = 0,42; $P < 0,99$) (Tablas 10 y 11).

Tabla 5 - Caracteres merísticos y niveles de significancia estadística en *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma.

Caracteres Merísticos	MANN-WHITNEY		Gran Canaria			La Palma		
	U	P	X	SD	RANGO	X	SD	RANGO
Branq.Inferior	99240,5	0,002	9,86	0,75	8,0-12,0	10,07	0,71	8,0-12,0
Branq.Superior	103844,0	0,010	7,45	0,66	6,0-10,0	7,56	0,62	6,0-9,0
Incisivos Superior	114748,0	0,964	8,05	0,50	6,0-10,0	8,03	0,34	6,0-10,0
Incisivo Inferior	114934,5	0,941	7,99	0,25	6,0-10,0	7,98	0,27	6,0-10,0
Molares Superior	106196,5	0,179	3,35	0,52	1,0-5,0	3,30	0,58	2,0-5,0
Molares Inferior	105225,0	0,116	2,63	0,52	1,0-4,0	2,56	0,55	1,0-4,0
Esp. Dorsal	116933,5	0,955	11,83	0,39	10,0-13,0	11,82	0,42	10,0-13,0
Rad. Dorsal	116414,0	0,853	14,36	0,79	10,0-17,0	14,39	0,75	12,0-17,0
Esp. Anal	117552,0	0,967	3,00	0,04	3,0-4,0	3,00	-	3,0
Rad. Anal	117552,0	0,751	13,76	0,57	12,0-15,0	13,74	0,62	12,0-15,0
Esp. Ventral	117738,0	1,000	1,00	-	1,0	1,00	-	1,0
Rad. Ventral	117366,0	0,933	5,00	0,06	5,0-6,0	5,00	-	5,0

Tabla 6 - Variación en el número de branquiespinas en las ramas inferiores del primer arco branquial de ejemplares de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma (en % de individuos).

Nº de Branquiespinas en la rama inferior de 1 ^{er} arco branquial.	Gran Canaria	La Palma
8	3,2	1,1
9	24,7	16,7
10	55,8	58,9
11	15,0	21,2
12	1,3	2,2

Tabla 7 - Variación en el número de branquiespinas en las ramas superior del primer arco branquial de ejemplares de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma (en % de individuos).

Nº de Branquiespinas en la rama superior de 1 ^{er} arco branquial.	Gran Canaria	La Palma
6	4,4	2,2
7	51,4	44,1
8	39,6	49,2
9	4,4	4,6
10	0,3	0,0

Tabla 8 - Variación en el número de incisivos de la mandíbula superior de ejemplares de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma (en % de individuos).

Nº de incisivos de la mandíbula superior	Gran Canaria	La Palma
6	1,0	0,5
7	3,9	1,6
8	87,6	93,0
9	4,3	3,8
10	3,2	1,1

Tabla 9 - Variación en el número de molares de la mandíbula superior de ejemplares de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma (en % de individuos).

Nº de molares de la mandíbula superior.	Gran Canaria	La Palma
1	0,2	0,0
2	1,0	4,6
3	62,6	62,7
4	35,7	30,8
5	0,5	1,9

Tabla 10 - Variación en el número de radios blandos de la aleta anal de ejemplares de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma (en % de individuos).

Nº de radios blandos de la aleta anal	Gran Canaria	La Palma
12	2,7	4,3
13	23,3	23,1
14	69,5	67,2
15	4,6	5,4

Tabla 11 – Variación en el número de radios blandos de la aleta dorsal de ejemplares de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma (en % de individuos).

Nº de radios blandos de la aleta dorsal	Gran Canaria	La Palma
12	1,1	1,1
13	8,3	7,9
14	46,1	47,7
15	40,7	39,5
16	3,7	4,6
17	0,1	0,3

5.4. Discusión

Son diversos los estudios que describen las relaciones morfométricas que existen en varias especies pertenecientes a la familia Sparidae (e.g. Cardenas, 1978; Botros *et al.*, 1985; Wassef, 1985; Martínez y Villegas, 1992; Méndez-Villamil, 2001; entre otros). En general, estos trabajos realizan una descripción detallada sobre las relaciones que existen entre las diferentes variables, dando a conocer los tipos de alometrías que los peces sufren durante su desarrollo. Por ejemplo, la relación longitud-peso ha sido extensivamente utilizada para determinar variaciones individuales o colectivas, dentro de las poblaciones, a corto plazo. En el caso particular del *Diplodus sargus cadenati*, Santana *et al.* (1986) hicieron sucintas referencias a este aspecto. Sin embargo, estudios más detallados han sido realizados con la subespecie *Diplodus sargus sargus* (e.g. Martínez y Villegas, 1992). En esta subespecie se verificaron discontinuidades en el crecimiento, observándose un intenso desarrollo de la región cefálica en su inicio, para dar lugar después a un aumento en anchura. Aparentemente la menor importancia que va teniendo la parte anterior del cuerpo, con respecto al resto, está relacionada con la mayor necesidad de desarrollar las partes abdominal y caudal para la consecución de actividades como la reproductora o la motora. Bas (1964) refiere que las formas inestables son frecuentes en animales con una gran capacidad de reproducción, crecimiento y sustitución, en los cuales son precisos cambios de hábitat en relación con sus necesidades vitales.

En este estudio, los resultados obtenidos con la relación longitud-peso se mostraron similares tanto entre los sexos, como entre islas. En ambos casos el valor del parámetro **b** se presentó cercano a 3, mostrando una clara tendencia a la isometría. Unos resultados análogos a los ya observados en otros espáridos, como el *Diplodus sargus* (Martínez y Villegas, 1992; Morato *et al.* 2001), *Diplodus vulgaris*, *Diplodus annularis*, *Diplodus puntazzo*, y *Diplodus bellotti* (Dulčić & Kraljević, 1996; Gonçalves *et al.*, 1997), lo que parece ser un patrón relativamente común en las especies pertenecientes al género *Diplodus*. Sin embargo, es importante referir que la relación longitud-peso no está exenta de variaciones, ya que sus parámetros

dependen de factores como la temperatura, salinidad, alimento (cantidad, calidad, y tamaño), época del año y estadio de madurez (Weatherley & Gill, 1987).

Por otro lado, los caracteres merísticos de *Diplodus sargus cadenati* ofrecen similitudes y diferencias con los descritos para esta subespecie en el catálogo de la FAO para el Atlántico Centro-Oriental. Analizando los caracteres merísticos definidos por Bauchot *et al.* 1981, se apreció que en las islas esta subespecie posee un mayor número de incisivos y molares en la mandíbula superior, al igual que más radios blandos en la aleta anal. Estos resultados realzan diferencias merísticas entre las poblaciones insulares y las que habitan sobre la plataforma continental africana próxima. Sin embargo, una tendencia desigual se ha observado para el número de branquiespinas del arco inferior.

El análisis morfométrico no reveló diferencias significativas para los rangos y valores medios de las diferentes medidas corporales consideradas en los ejemplares obtenidos en ambas islas, pero si en las proporciones. Concretamente el tamaño de la mandíbula superior y la altura del cuerpo en la región anal fueron, en ambos casos, mayores en los ejemplares procedentes de La Palma.

Tanto los caracteres morfológicos como los merísticos mostraron diferencias significativas en la región cefálica, lo que puede sugerir que existe una cierta influencia de las características que definen el hábitat en ambas islas, tales como la temperatura, tipo de presas, etc. Es cierto que la mayor característica referente al crecimiento es la flexibilidad. Aunque esta esté asociada a una componente genética, es indiscutible su relación con el ambiente. Diferentes tipos de crecimiento no son más que la variación de un carácter fenotípico en respuesta a las condiciones ambientales. Se ha observado que las larvas de algunas especies del género *Diplodus* sufren importantes variaciones durante la transición de hábitat, la mayoría relacionadas con la capacidad natatoria y el comportamiento alimenticio (Loy *et al.*, 2001). Las relaciones morfométricas observadas en estas especies parecen estar asociadas a variaciones en su ecología. Los individuos jóvenes presentan formas alargadas, con un gran pedúnculo, acompañadas de una cabeza redondeada, típicas de los peces que nadan y se alimentan en la columna de agua (Winemiller, 1991).

El perfil ancho de los juveniles y la elongación de la base de la aleta dorsal, son características de forma asociadas a rápidos giros en ambientes complejos. Estas características están además relacionadas con un tipo de alimentación epibentónico, en el que las partículas de alimentos son encontradas en el sustrato. Algunas modificaciones producidas en la boca de los juveniles de *D. sargus* y *D. vulgaris* parecen estar relacionadas con un cambio en su dieta. (Loy *et al.*, 2001; Motta *et al.*, 1995). Además, Linde *et al* (2004) refieren que en los espáridos la forma de la premaxila está significativamente correlacionada con el tipo de comida, en concreto, con el tipo habitat de la presa. Planes *et al* (1999) también señalan la importancia del ambiente sobre el crecimiento. Estos autores refieren que, en los juveniles del género *Diplodus*, la variación espacio-temporal del crecimiento parece ser común. Incluso, en las mismas especies pueden existir diferentes patrones de crecimiento como consecuencia del ambiente. En el Mediterráneo, el crecimiento de las especies *D.sargus*, *D.vulgaris*, y *D. puntazzo* parece estar fuertemente relacionado con fenómenos de naturaleza física, como son las corrientes y la temperatura de la masa de agua (Planes *et al.*, 1999). Lo expuesto hasta ahora sugiere que el crecimiento en los peces es mayoritariamente controlado por las condiciones ambientales. De entre los factores exógenos que más afectan el crecimiento se encuentran la temperatura y el alimento. Aunque en algunos ambientes, el oxígeno y la salinidad también pueden ser factores controladores (e.g. Shervette *et al.*, 2007; Conides *et al.* 2004; Boeuf & Payan, 2001; Planes *et al.*, 1999). Por ello, es de esperar que las condiciones ambientales del mar de cada una de las islas determinen el proceso de desarrollo morfológico del sargo. Las diferencias en la temperatura del agua y la presencia de características oceanográficas determinadas (afloramiento norteafricano, naturaleza y pendiente de las plataformas insulares, etc...) son una realidad entre las islas de La Palma y Gran Canaria (Bas *et al*, 1995).

Por otro lado, otro aspecto que se debe también considerar es la presencia de barreras geográficas naturales, las cuales pueden dar lugar a la aparición de diferencias entre poblaciones. Por ejemplo, varios autores han indicado la ruptura filogeográfica que existe debido al Estrecho de Gibraltar (e.g. Borsa *et al.*, 1997). Palma & Andrade (2002) también han observado esta diferencia para las especies

Diplodus sargus y *Diplodus puntazzo*. Estos autores refieren la existencia de un gradiente geográfico entre el Atlántico y el Mediterráneo, sugiriendo que las especies de estas dos áreas pueden llegar a representar grupos separados. Lo mismo parece también observarse con la especie *Dentex dentex* (Palma & Andrade, 2004). Luego, un proceso similar puede también estar ocurriendo entre las islas del Archipiélago Canario, o entre éstas y el continente africano. La presencia de características geomorfológicas y oceanográficas peculiares en el Archipiélago puede actuar a modo de barrera. Los caracteres morfológicos y merísticos dejan patente las diferencias, que pueden estar relacionadas con las características físico-químicas, orográficas y ambientales de cada hábitat (e.g temperatura, corrientes), inducidas por las disimilitudes geográficas. La existencia de este gradiente, no implica necesariamente la existencia de un aislamiento genético que pueda dar lugar a fenómenos de especiación en el Archipiélago.

La aplicación de las relaciones morfométricas tradicionales al estudio de la “forma” de las especies es ampliamente conocida. El uso de los *ratios* y de la regresión lineal como herramientas de medida de variación ha probado tener algunas limitaciones en este contexto. Recientemente, el empleo de los métodos multiescalares ha abierto una nueva dimensión en este tipo de estudios. Estos métodos permiten describir geoméricamente los organismos através de coordenadas (x, y, z) obtenidas por un conjunto de marcadores. Al no realizar restricciones en la dirección y la localización de las variaciones, esta técnica proporciona información muy útil sobre la forma de un organismo. Además, cuando combinada con procedimientos estadísticos multivariados, constituye una herramienta imprescindible para testar y establecer diferencias en formas biológicas (Cavalcanti *et al.*, 1999; Rolf & Marcus, 1993). En el caso de la familia Sparidae, diversos estudios se han realizado en ecomorfología (e.g. Loy *et al.*, 1998; 2000; 2001; Linde *et al.*, 2004). En la actualidad, su uso se ha extendido al análisis y identificación de stocks (e.g. Palma & Andrade, 2002; 2004), y también a la acuicultura (e.g. Loy *et al.*, 1999; Sará *et al.*, 1999; Koumoundouros *et al.*, 2005; Kouttouki *et al.*, 2006). Dada su importancia, será necesaria la aplicación de esta técnica al estudio de la forma de *Diplodus sargus cadenati*, lo que que permitirá en un futuro añadir más información a la obtenida en el presente estudio.

6

Sexualidad y Reproducción

6.1. Introducción

Dentro de los vertebrados, los peces constituyen el grupo presente en una mayor variedad de habitats (Chan & Yeung, 1983). La gran diversidad de especies (unas 22000) pone de manifiesto también una alta variedad de estrategias reproductivas (Tyler & Sumpter, 1996). Aunque la mayoría sean gonocóricas, la presencia del hermafroditismo, con inversión de sexos, no deja de ser un modo normal de reproducción entre los peces. En este sentido, los peces teleósteos poseen la inversión sexual como mecanismo funcional (Chan & Yeung, 1983), lo cual es una característica común en la familia Sparidae, donde la sexualidad se refleja en diferentes tipos de hermafroditismo. Tanto el hermafroditismo secuencial (i.e. proterandría y protoginia) como el rudimentario pueden ser encontrados en muchas de las especies pertenecientes a esta familia (Buxton & Garatt, 1990), ya que en los espáridos el hermafroditismo constituye la regla y no la excepción. La variabilidad de su patrón de sexualidad está relacionada con el carácter bisexual de la gónada, el ovotestis. Ésta es del tipo delimitado, y consiste en un área ovárica medio-dorsal y una zona testicular latero-ventral, separadas entre sí por tejido conectivo (Sadovoy & Shapiro, 1987). Las dos zonas nunca experimentan maduración al mismo tiempo, ya que una de ellas funciona activamente durante uno o más ciclos reproductivos, entrando después en progresiva regresión, mientras que la otra, quiescente hasta ese momento, empieza a desarrollarse (Micale & Perdichizzi, 1994). Sin embargo, el sexo secundario no siempre es de carácter quiescente (Bruslé-Sicard & Fourcalt, 1997), ya que su desarrollo puede iniciarse de manera

progresiva durante el periodo de pos-puesta anual. Aquí es importante hacer notar que el conocimiento sobre el desarrollo de las células germinales requiere todavía de un estudio más profundo (Sadovoy & Shapiro, 1987). Además, tampoco está claro si la inversión sexual es el resultado de la estimulación de células germinales del sexo secundario previamente quiescentes, pero ya diferenciadas, o si es consecuencia de la producción de nuevas células germinales primarias. Es posible que el hermafroditismo y la inversión sexual sean regulados a nivel gonadal, con los individuos poseyendo una mezcla de células germinales de ambos sexos, que son estimuladas a proliferarse y diferenciarse dependiendo de las condiciones ambientales (Devlin & Nagahama, 2002).

Ciertas subespecies de *Diplodus sargus* están descritas como hermafroditas, como es el caso de *D. sargus sargus* (D' Ancona, 1949; Reinboth, 1962; Micale *et al.*, 1987; Micale y Perdichizzi, 1994; Martínez y Villegas, 1996), *D. sargus capensis* (Joubert, 1981; Coetzee, 1986; Mann & Buxton, 1998) y *D. sargus kotschy* (Abou-Seedo *et al.*, 1990). Algunas presentan un hermafroditismo proterándrico (Micale *et al.*, 1987; Micale y Perdichizzi, 1994; Martínez y Villegas, 1996) en el que, por definición, los individuos funcionan primero como machos, cambiando posteriormente de sexo a hembras. Este hermafroditismo se puede demostrar a través de la distribución de las frecuencias de talla por sexos, de la proporción de sexos y de la presencia de individuos intersexuales. Este tipo de reproducción se verifica en especies cuyo éxito reproductivo está relacionado con la talla, permitiendo que estas maximicen su ciclo reproductor, bien por funcionar como macho o como hembra en un periodo dado (Buxton & Garatt, 1990). Además, estos tipos de reproducción están relacionados con el ambiente, ya que muchos son el resultado de la selección de adaptaciones a la modificación del medio (Potts & Wootton, 1984).

Así, la importancia de los estudios de reproducción reside no sólo en el conocimiento de la biología de la especie, sino también en la regulación y explotación de la misma. Parámetros como la tipología sexual, talla de madurez sexual, fecundidad y período de reproducción, requieren de conocimientos sobre el grado de desarrollo gonadal de los individuos (West, 1990), y constituyen un instrumento básico para la administración del recurso. Al igual que el conocimiento

sobre la época de desove y los lugares de freza, estos son imprescindibles para la imposición de medidas de regulación pesquera, como vedas temporales o espaciales (Guerra-Sierra y Sánchez-Lizaso, 1998). En este sentido, las características geomorfológicas, oceanográficas y climáticas que se verifican a lo largo del Archipiélago son suficientes como para provocar la existencia de diferencias significativas en los parámetros reproductivos de las unidades poblacionales insulares, que pueden dar lugar a la diferenciación de stocks. No hay que olvidar que uno de los criterios útiles para la identificación de los mismos está relacionado con las características reproductivas y la delimitación espacio-temporal de las zonas de puesta (Guerra-Sierra y Sánchez-Lizaso, 1998).

El presente capítulo contempla el estudio de las características sexuales y reproductivas del sargo en aguas de Gran Canaria y La Palma.

6.2. Material y Métodos

Para el estudio de la sexualidad y reproducción se consideraron un total de 1009 ejemplares, de los cuales 611 provenían de la isla de Gran Canaria, y 397 de La Palma. La totalidad de los individuos fueron seleccionados en base a muestreos estratificados por rangos de tallas.

Se extrajeron las gónadas de todos los ejemplares, las cuales fueron pesadas en una balanza (Sartorius modelo Basic BA110S) con una precisión de 0,001g. Éstas se conservaron en una solución al 10% de formol en tampón fosfato, o en Fluido de Gilson, para su posterior análisis. De igual modo, se extrajo el hígado, que fue pesado y almacenado a una temperatura de -20°C .

6.2.1. Sexualidad

6.2.1.1. Proporción de sexos

La proporción de sexos se realizó para todo el período de estudio, y por meses, para cada una de las islas. Se contabilizó el número total de machos y

hembras, y se determinó la proporción de sexos (machos: hembras) existentes en cada mes. Igualmente, se analizó la proporción entre sexos por clases de tallas y las frecuencias obtenidas se expresaron en porcentaje. Para este análisis se usó un test de Chi-cuadrado.

6.2.2. Reproducción

6.2.2.1 Índice Gonadosomático (IGS)

Para determinar el período reproductor se realizó un análisis de las variaciones del valor medio mensual del índice gonadosomático relativo (IGS), que se calcula, para cada ejemplar, como la relación entre el peso de la gónada (Pg) y el peso total (Pt) del individuo (Anderson & Gutreuter, 1983). Éste viene dado por la siguiente expresión:

$$IGS = \left(\frac{Pg}{Pt} \right) * 100$$

Este índice se estimó para cada ejemplar, y a partir de los datos individuales obtenidos se calculó el valor medio en cada mes. Se analizaron los datos por sexos, al igual que por islas.

6.2.2.2. Índice Hepatosomático (IHS)

El Índice Hepatosomático permite determinar, en porcentaje, la acumulación de materia de reserva. Se calcula a través de la siguiente fórmula (Lorenzo, 1992):

$$IHS = \left(\frac{Ph}{Pevic} \right) * 100$$

donde, Ph representa el peso del hígado y Pevic el peso eviscerado del pez, ambos expresados en gramos.

Este índice se estimó para cada ejemplar, y a partir de los datos individuales obtenidos se calculó el valor promedio en cada mes. Se analizaron los datos por sexos, al igual que por islas.

6.2.2.3. Factor de Condición (Kn).

El factor de condición relativo (Kn) es considerado como un indicador del grado de salud de un pez en un momento determinado de su desarrollo. Éste factor permite registrar la influencia de las variaciones ambientales sobre el individuo, ya sea con respecto al sexo, estado gonadal o alimenticio (Mancera-Rodríguez, 2000). En concreto, las hembras experimentan cambios estacionales, ya que existe una correspondencia entre este factor y las variaciones que acompañan el estado de desarrollo de las gónadas. Anderson & Gutreuter (1983) propone el siguiente cociente:

$$Kn = \left(\frac{P_{vic}}{aL_t^b} \right) * 100$$

donde, P_{vic} es el peso de un individuo expresado en gramos y aL_t^b el peso teórico del animal eviscerado, estimado para un individuo de igual talla a partir de la ecuación talla-peso.

Este factor se estimó para cada ejemplar, y a partir de los datos individuales se calcularon los valores mensuales. Los datos se analizaron, separadamente, por sexos y por islas.

6.2.2.4. Estados de madurez

La determinación del sexo (macho; hembra; intersexual; indiferenciado) y del estado de madurez se realiza mediante la observación macroscópica de las gónadas, siguiendo la clasificación propuesta por Holden & Raitt (1975). Sin embargo, para este trabajo dicha clasificación no fue considerada inicialmente debido a su subjetividad, optándose para la determinación del grado de madurez el

estudio histológico de la gónada y su comparación con el índice gonadosomático, creando una escala de doble entrada.

6.2.2.5. Histología

Se realizó un análisis histológico de las gónadas femeninas para conocer los diferentes estados de madurez sexual. La secuencia de la ovogénesis y la identificación microscópica de los estadios de desarrollo de ovocitos se realizó en base a la clasificación propuesta por Yamamoto & Yoshioka (1964), Febvre *et al.* (1975), Takashima & Hibiya (1995) y Tyler & Sumpter (1996) para peces teleósteos (Tabla 12).

Para este estudio se consideraron gónadas pertenecientes a 7 intervalos de índices gonadosomáticos: [0-1[, [1-2[, [2-3[, [3-4[, [4-5[, [5-6[y ≥ 6

La preparación de los cortes histológicos consistió, inicialmente, en la realización de varios cortes transversales de la gónada. Se seleccionó la parte central, así como los extremos lobulares anterior y posterior, ya que éstas últimas son bastante representativas del desarrollo gonadal en los espáridos (Garrat, 1993).

Las secciones obtenidas fueron fijadas sumergiéndolas, durante 4 horas a temperatura ambiente, en una disolución al 5% de glutaraldehído en tampón cacodilato sódico 0,1M, con sacarosa 0,25M, a pH 7,4. A continuación, se procedió a realizar cuatro lavados de 30 minutos de duración cada uno y agitación periódica, en soluciones de cacodilato sódico 0,1M (sin fijador) y de concentración decreciente de sacarosa (0,25M, 0,125M, 0,0625M, 0M). Seguidamente, al material se le realizó un proceso de pré-infiltración e infiltración. La solución de pré-infiltración se preparó según el protocolo del kit de inclusión (0,5g de activador en 50 ml de Basic Resin ^{MR}). El material, sumergido en esta solución, se trató durante diez minutos con vacío y se mantuvo en el desecador durante toda la noche. El material fue incluido posteriormente en glicol metacrilato (GMA, Historesin ^{MR}, Gerrids & Smith, 1983). La solución de inclusión polimerizó a los 30-40 minutos a 60 °C.

Tabla 12 – Escala de grados de maduración de los ovocitos en base a la clasificación propuesta por Yamamoto & Yoshioka (1964), Febvre *et al.* (1975), Takashima & Hibiya (1995) y Tyler & Sumpter (1996).

Grado Maduración	Descripción
Grado I Ovocitos previtelogénicos	Comprenden ovogonias, ovocitos previtelogénicos primarios y secundarios. Las ovogonias son células isodiamétricas, dispuestas en lamelas ováricas. Los ovocitos previtelogénicos primarios y secundarios poseen un núcleo central, con uno o más nucleolos bien definidos.
Grado II Ovocitos vitelogénicos	Constituidas por ovocitos vitelogénicos primarios, secundarios y terciarios. Poseen un citoplasma de apariencia granular, observándose granos de vitelo y la formación de la zona radiada. El núcleo de los ovocitos vitelogénicos secundarios migra desde centro de la célula a uno de los extremos, llegando a desaparecer en los ovocitos vitelogénicos terciarios.
Grado III Ovocitos hidratados	Constituidos por ovocitos hidratados primarios, secundarios y terciarios. A medida que se desarrollan aumentan de tamaño y los granos de vitelo se unen con las gotas de lípidos, dando lugar a placas de apariencia uniforme.
Grado IV Folículos post-ovulatorios: atresia.	Corresponden a ovocitos inviables. Presentan formas irregulares y contenido citoplasmático amorfo.

Se obtuvieron secciones seriadas de 5 μm , cortadas con una cuchilla de tungsteno, en un micrótopo (Reichter-Jung modelo 2050). Los cortes se depositaron en un baño de agua destilada, a temperatura ambiente, para su estiramiento y se recogieron en portas desengrasados, manteniéndose a 60 °C por un periodo de 20 minutos. Después de realizados los cortes, se procedió a la tinción de los mismos con azul de toulidina. Los cortes teñidos, durante 1 minuto, se lavaron abundantemente con agua destilada y se dejaron secar al aire. Una vez

secas, las preparaciones se montaron en EUKITT para su posterior observación. Al microscopio óptico se identificaron los diferentes grados de maduración de los ovocitos y se determinó el tamaño de los mismos, utilizando un ocular y portaobjetos milimetrados. La medida para cada ovocito, en cada estadio, se calculó como la media de 30 células.

6.2.2.6. Talla de Primera Madurez

La talla de primera madurez corresponde a la longitud media en la cual el 50% de los individuos presentan actividad gonadal (González-Pajuelo, 1997). Esta se determinó en base a las curvas de madurez realizadas para cada sexo y para cada una de las islas. La curva se construyó a partir de los datos de IGS combinados con las estimaciones de madurez obtenidas a través del estudio histológico. En cada caso se calculó el porcentaje acumulado de individuos maduros por clase de talla, y se ajustaron los datos a una curva sigmoideal simétrica mediante un análisis de regresión no lineal iterativo (Pope *et al*, 1983). De igual modo, se procedió a la determinación de la talla de madurez masiva (longitud media en la cual el 95% de los individuos presentan actividad gonadal).

6.2.2.7. Fecundidad

Para determinar la fecundidad relativa se contabilizaron el número de ovocitos presentes en las gónadas de individuos maduros. Se seleccionó una fracción de la gónada y se realizaron tres valoraciones numéricas, aceptándose el valor medio de las mismas. Asimismo se midió el diámetro de diez ovocitos, elegidos al azar, en cada una de las muestras analizadas.

Todas las observaciones fueran realizadas en una lupa binocular (Olympus SZ60) con luz reflejada y micrómetro incorporado.

La fecundidad relativa se calculó a través de la siguiente expresión:

$$F = \frac{n}{P_{\text{evic}}}$$

donde F es la Fecundidad relativa, n el número de ovocitos, y Pevic el peso eviscerado del animal, en gramos.

El análisis de la fecundidad relativa se realizó para las dos islas por separado.

6.3. Resultados

6.3.1. Sexualidad

6.3.1.1. Rangos de Tallas y Pesos

Para la isla de Gran Canaria, el rango de tallas de los ejemplares muestreados oscila entre 10,3 y 30 cm de longitud estándar, y sus pesos entre 44,41 y 952,5 g. En isla de La Palma estos valores se sitúan entre 9,6 y 25,9 cm y 34,4 y 672,4 g, respectivamente. Los valores máximos y mínimos de la longitud estándar y peso total de los ejemplares inmaduros, intersexuales, machos y hembras están representados en la Tabla 13. No se aprecian diferencias significativas en las tallas de los individuos muestreados en ambas islas en función del sexo (ANOVA $F=0,97$; $P=0,32$ para machos; $F=1,56$; $P=0,21$ para hembras).

Tabla 13 - Rangos de las variables longitud estándar y peso total para el sargo *Diplodus sargus cadenati* de Gran Canaria y La Palma

	Gran Canaria				La Palma			
	Longitud estándar (cm)		Peso total (g)		Longitud estándar (cm)		Peso total (g)	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Machos	10,3	29,1	44,4	753,8	9,6	24,8	34,3	586,9
Hembras	11,6	30,0	71,6	952,5	10,1	25,9	42,2	672,4
Intersexuales	13,1	22,4	82,4	418,4	14,5	22,8	108,4	384,9
Indiferenciados	10,6	17,0	47,3	184,1	9,8	19,6	35,3	270,2

6.3.1.2. Proporción de Sexos

De los 611 ejemplares analizados para la isla de Gran Canaria, 243 (39,7%) eran machos, 286 (46,80%) hembras y 22 (3,60%) intersexuales. El sexo de los individuos restantes no se pudo identificar macroscópicamente, ya que al ser individuos inmaduros las gónadas eran finas y traslúcidas (poco desarrolladas). Por otro lado, de los 397 ejemplares muestreados para la isla de La Palma, 55 (13,8%) fueron machos, 221 (55,6%) hembras, 16 (4%) intersexuales y los 86 (21,6%) restantes indiferenciados.

La proporción entre machos y hembras fue de 1:17 y 1:41 para Gran Canaria y La Palma, respectivamente. Esta proporción de sexos varió a lo largo del año, verificándose un predominio de los machos en los meses que coinciden con la época de freza (chi-cuadrado = 888,35; $P < 0,001$ para Gran Canaria y chi-cuadrado = 2155,64; $p < 0,001$ para La Palma). Este periodo se verificó aproximadamente entre los meses de enero a abril, para Gran Canaria y de febrero a junio para La Palma (Figs. 22, 23).

Por otro lado, se observó una variación de la proporción de sexos con respecto a la talla, ya que en ambas islas las hembras fueron más abundantes en las clases de tallas intermedias y superiores, mientras que los machos lo fueron para las clases inferiores. Esto puede estar justificado por la proterandria de la especie (Bauchot *et al.*, 1981). Por tanto, es de esperar que los ejemplares jóvenes indiferenciados se correspondan con machos. Los individuos intersexuales fueron poco frecuentes y se distribuyen por las clases de tallas intermedias, entre los 13 y 23 cm de longitud estándar (Figs. 24, 25)

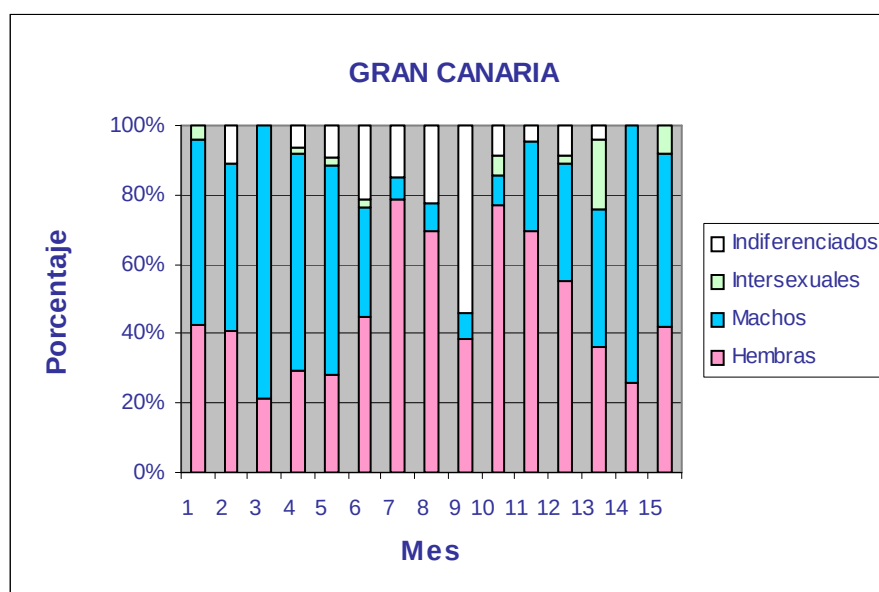


Figura 22 - Variación mensual de la proporción de sexos de *Diplodus sargus cadenati* para la isla de Gran Canaria.

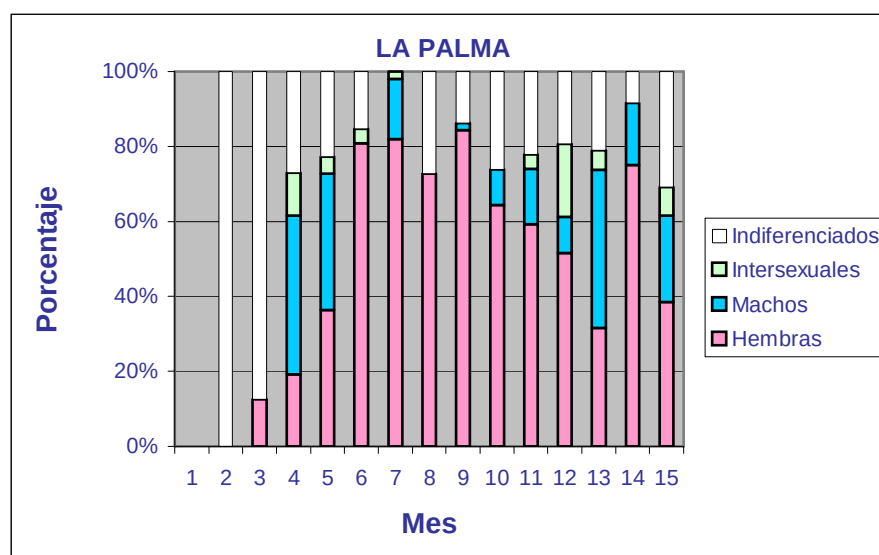


Figura 23 - Variación mensual de la proporción de sexos de *Diplodus sargus cadenati* para la isla de La Palma.

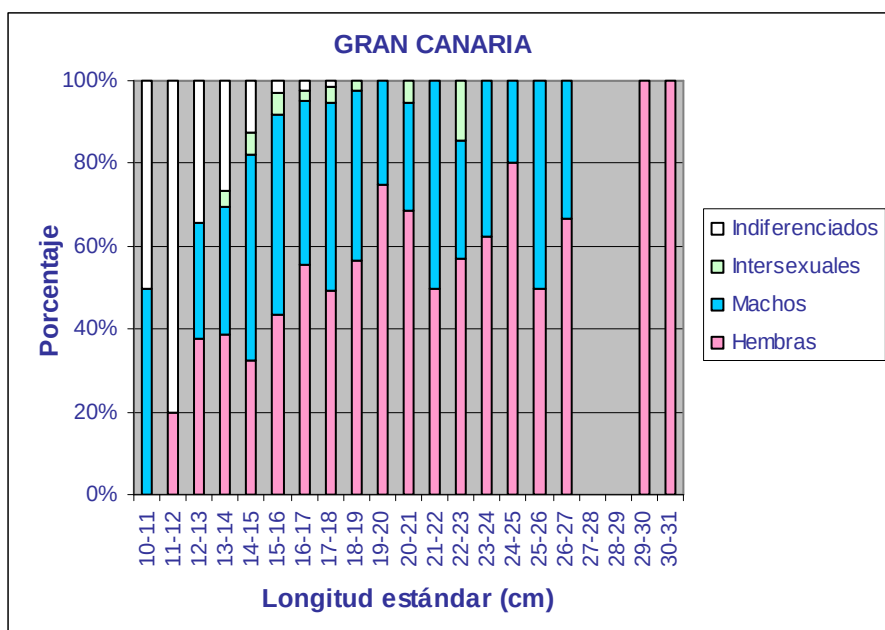


Figura 24 - Proporción de sexos por clase de tallas para el *Diplodus sargus cadenati* de la isla de Gran Canaria.

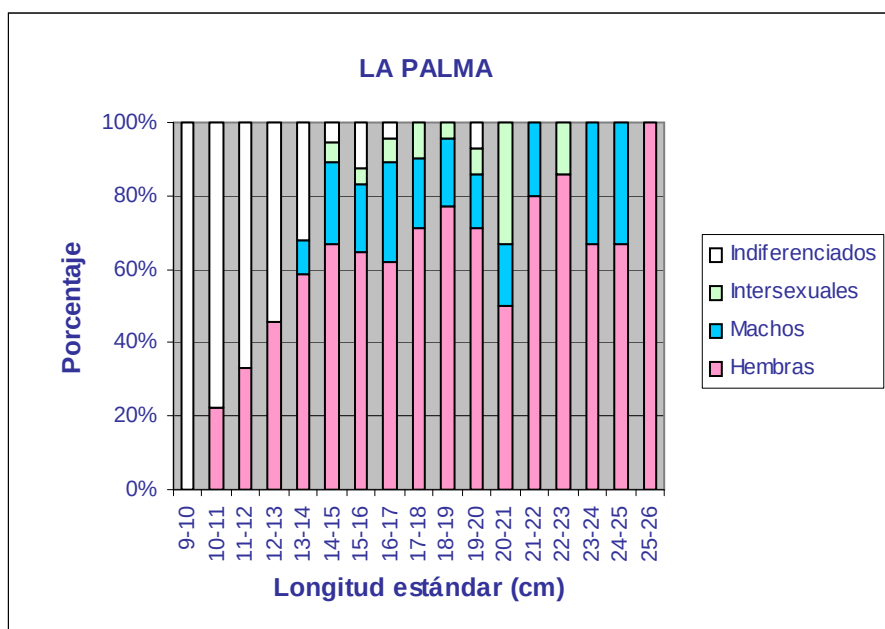


Figura 25 - Proporción de sexos por clases de tallas para el *Diplodus sargus cadenati* de la isla de La Palma.

6.3.2. Reproducción

6.3.2.1. Índice Gonadosomático (IGS)

Los valores de IGS obtenidos presentaron diferencias mensuales para machos y hembras procedentes de las distintas islas. En Gran Canaria, ambos sexos mostraron un patrón de variación similar, aunque los valores de IGS correspondientes a las hembras fueron siempre superiores. En los machos, los valores más elevados se registraron entre los meses de enero y abril, descendiendo progresivamente hasta septiembre. A partir de octubre se observó un lento ascenso, hasta diciembre, volviendo a presentar valores elevados en los meses de enero y marzo del año siguiente (Fig. 26; Tabla 14). En cuanto a las hembras, los valores más altos se situaron entre enero y mayo, verificándose un máximo en enero. En los meses posteriores se observó un descenso de los valores de IGS, iniciándose la recuperación a partir de septiembre y hasta diciembre. De nuevo, entre enero y marzo del año siguiente se registraron los valores más altos, con un máximo en febrero (Fig. 27; Tabla, 15).

En la isla de La Palma la evolución sexual se verificó ligeramente desplazada en el tiempo. En los machos, los valores máximos se observaron a principios de año, entre enero y marzo, y los mínimos entre los meses de septiembre y octubre. Para las hembras se apreció un patrón similar, aunque los máximos de los valores medios de IGS fueron algo más bajos para el segundo año de muestreo (Figs. 28, 29; Tablas 14, 15).

Se observaron diferencias significativas entre los valores de IGS de machos y hembras de ambas islas (incluso excluyendo los individuos inmaduros de la muestra, para evitar un posible desvío en los resultados por este motivo). Los ejemplares procedentes de Gran Canaria presentan valores de IGS significativamente más altos que los observados para los de La Palma (Mann Whitney test, $U=4604,0$; $P=0,012$ para machos y $U=18116,0$; $P<0,0001$ para hembras; $U=47,0$; $P=0,03$ sólo con machos maduros y $U=733,0$; $P=0,04$ sólo con hembras maduras).

Tabla 14 - Variación mensual del índice gonadosomático (IGS) para los machos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma.

IGS	Gran Canaria		La Palma	
Mes	X	SD	X	SD
Enero	3,17	2,48	-	-
Febrero	3,07	1,90	-	-
Marzo	3,18	2,40	-	-
Abril	2,90	2,25	2,73	2,19
Mayo	1,26	1,20	1,11	0,85
Junio	0,45	0,50	-	-
Julio	0,24	0,07	0,23	0,14
Agosto	0,21	0,13	-	-
Septiembre	0,09	-	0,11	-
Octubre	0,11	0,02	0,06	0,02
Noviembre	0,14	0,11	0,28	-
Diciembre	0,86	2,37	0,25	0,15
Enero	1,23	1,31	0,79	0,67
Febrero	2,05	2,62	1,11	0,98
Marzo	2,44	2,33	2,26	1,12

Tabla 15 - Variación mensual del índice gonadosomático para las hembras de *Diplodus sargus cadenati* capturadas en las islas de Gran Canaria y La Palma.

IGS	Gran Canaria		La Palma	
Mes	X	SD	X	SD
Enero	4,97	2,13	-	-
Febrero	2,75	1,42	-	-
Marzo	2,80	1,41	-	-
Abril	2,76	2,41	8,87	6,14
Mayo	2,16	1,29	2,77	3,22
Junio	0,90	0,97	0,28	0,22
Julio	0,41	0,27	0,39	0,26
Agosto	0,34	0,31	0,07	0,05
Septiembre	0,13	0,12	0,23	0,23
Octubre	0,22	0,26	0,09	0,08
Noviembre	0,35	0,62	0,47	0,41
Diciembre	0,40	0,35	0,23	0,32
Enero	1,92	2,23	0,61	0,38
Febrero	3,83	0,94	1,27	2,65
Marzo	2,46	2,33	1,76	3,02

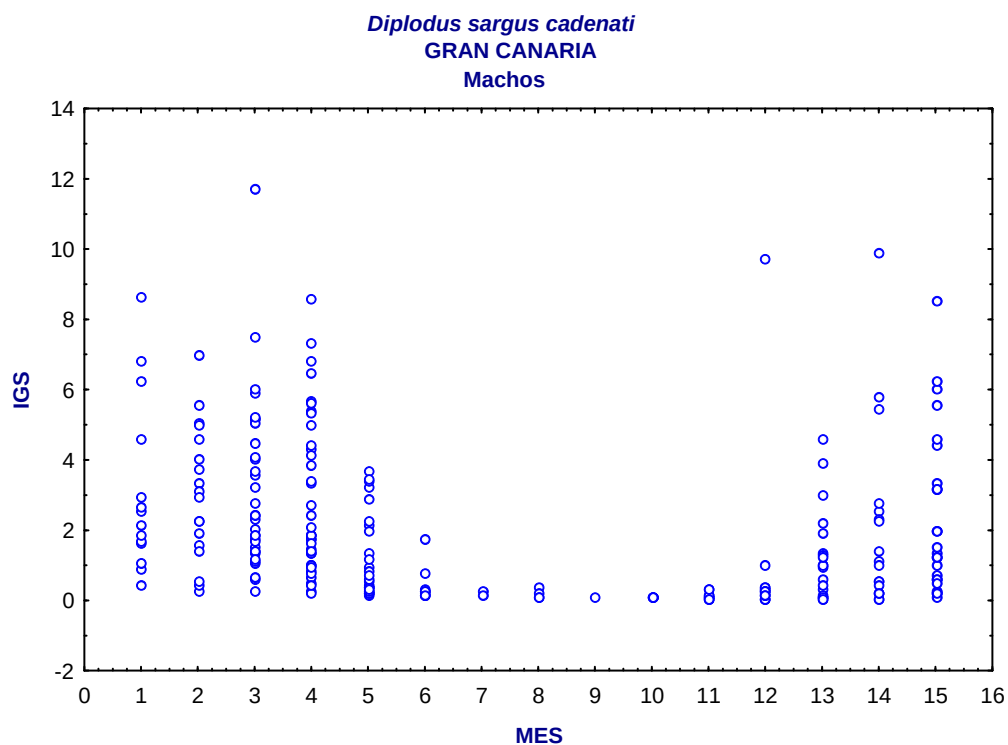


Figura 26 - Variación mensual del Índice Gonadosomático (IGS) para machos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de Gran Canaria.

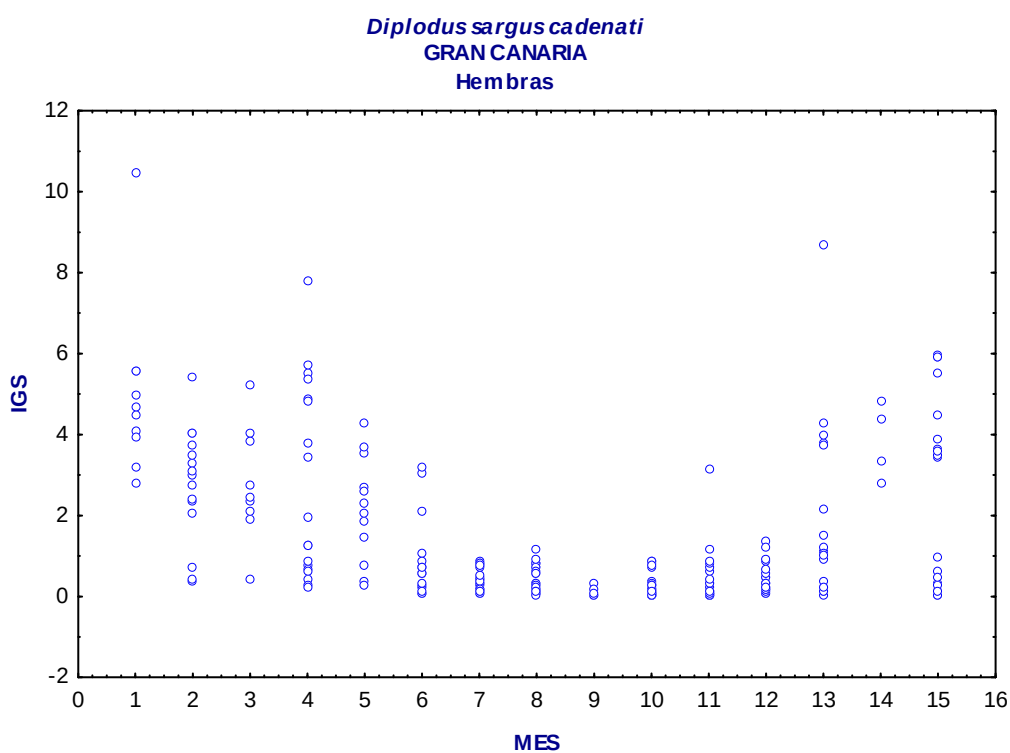


Figura 27 - Variación mensual del Índice Gonadosomático (IGS) para hembras de *Diplodus sargus cadenati* capturadas en la isla de La Palma.

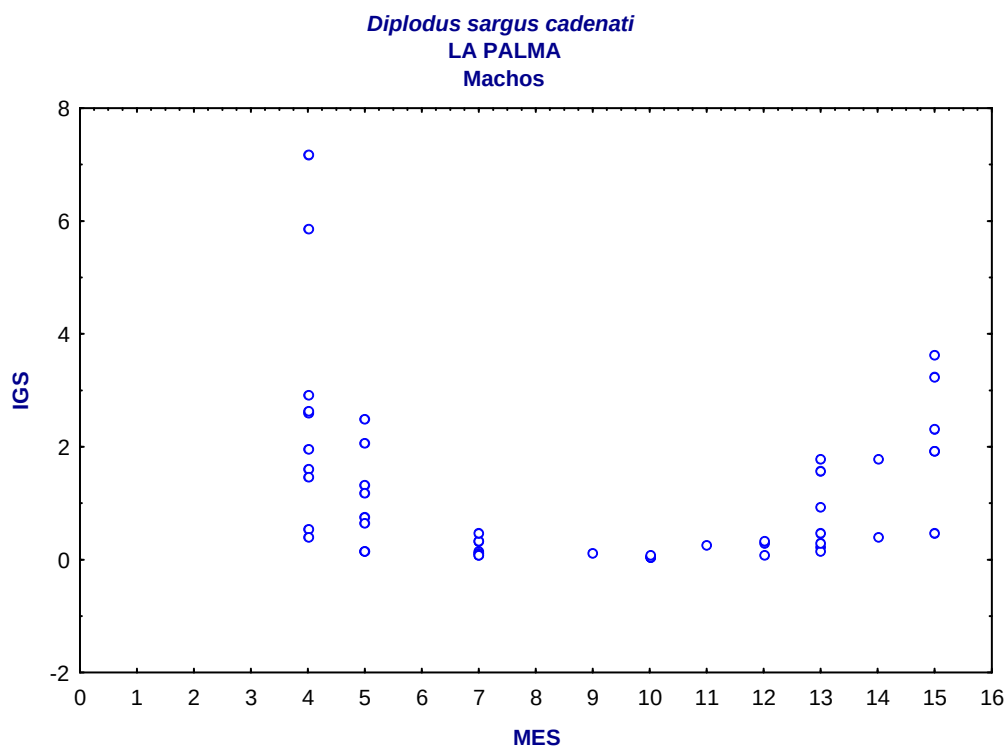


Figura 28 - Variación mensual del Índice Gonadosomático (IGS) para los machos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de La Palma.

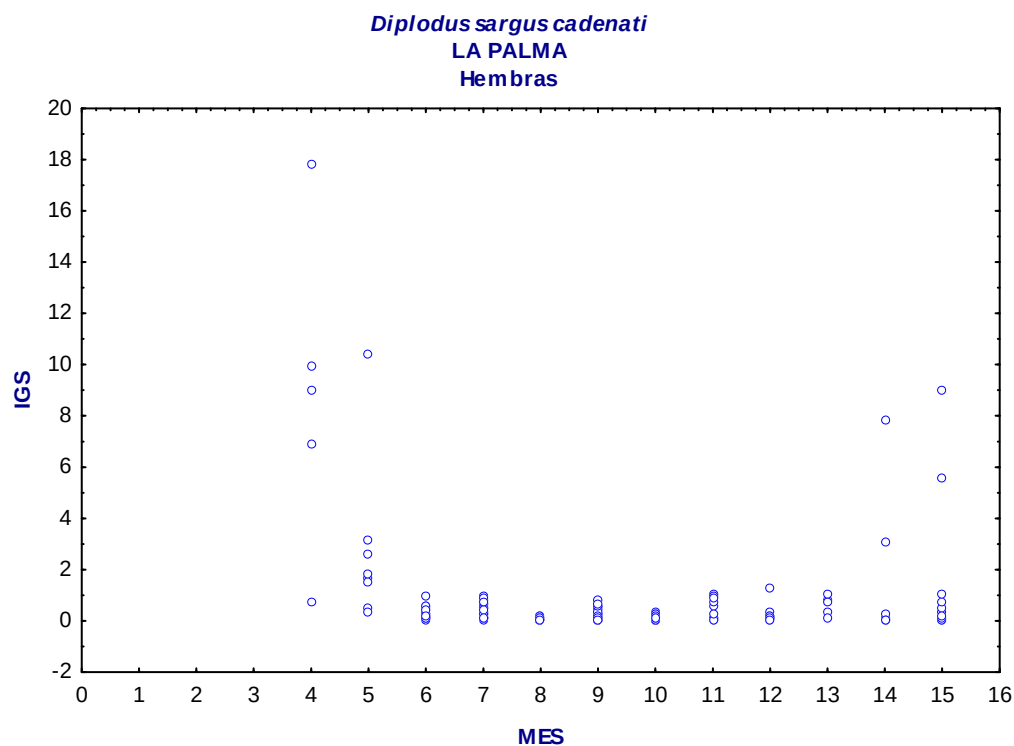


Figura 29 - Variación mensual del Índice Gonadosomático (IGS) para las hembras de *Diplodus sargus cadenati* capturadas en la isla de La Palma.

6.3.2.2. Índice Hepatosomático (IHS)

No se obtuvieron diferencias significativas entre los valores de IHS de los machos procedentes de ambas islas (Mann Whitney test, $U=52223,0$; $P<0,19$). Sin embargo, se verificaron diferencias en el patrón de variación mensual de este índice. Aunque, en ambas islas se observó un valor máximo secundario en el mes de septiembre, en Gran Canaria el valor máximo principal se verificó para el mes de enero, mientras que para La Palma hubieron dos, entre enero-febrero y en julio. Éste último prácticamente coincidiendo con los valores mínimos observados para Gran Canaria (Figs 30, 32; Tabla 16).

Con respecto a las hembras, si se observaron diferencias significativas entre los valores de IHS de las dos islas (Mann Whitney test, $U=20732,0$; $P<0,001$), siendo estos superiores para La Palma. En Gran Canaria, los valores máximos se verificaron entre los meses de enero y abril, mientras que los mínimos entre septiembre y diciembre. Sin embargo, en La Palma, los valores más elevados se observaron entre junio-septiembre y enero-marzo, y los más bajos en el mes de octubre (Figs. 31, 33; Tabla 17)

Tabla 16 - Variación mensual del índice hepatosomático (IH) en los machos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma

IH	Gran Canaria		La Palma	
	X	SD	X	SD
Mes				
Enero	1,40	0,74	-	-
Febrero	0,96	0,35	-	-
Marzo	1,07	0,32	-	-
Abril	1,07	0,72	0,77	0,15
Mayo	0,91	0,33	0,78	1,18
Junio	1,06	0,57	-	-
Julio	0,85	0,19	1,70	0,39
Agosto	0,97	0,26	-	-
Septiembre	1,20	-	1,26	-
Octubre	0,87	0,07	0,92	0,45
Noviembre	1,08	0,35	0,47	-
Diciembre	1,08	1,56	0,96	0,34
Enero	0,99	0,45	1,55	0,49
Febrero	0,64	0,30	1,61	0,26
Marzo	1,26	0,58	0,84	0,24

Tabla 17 - Variación mensual del índice hepatosomático (IH) en las hembras de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma.

IH	Gran Canaria		La Palma	
	X	SD	X	SD
Enero	1,98	0,76	-	-
Febrero	1,36	0,54	-	-
Marzo	1,53	0,32	-	-
Abril	1,66	0,6	1,03	0,31
Mayo	1,07	0,61	1,02	0,23
Junio	1,12	0,38	1,34	0,45
Julio	0,88	0,18	1,79	0,66
Agosto	1,09	0,27	4,83	1,11
Septiembre	0,53	0,22	1,72	0,62
Octubre	0,95	0,17	0,89	0,28
Noviembre	1,00	0,44	1,02	0,32
Diciembre	0,59	0,18	1,18	0,21
Enero	1,02	0,34	1,23	0,44
Febrero	1,24	0,57	1,73	0,87
Marzo	1,18	0,48	1,13	0,62

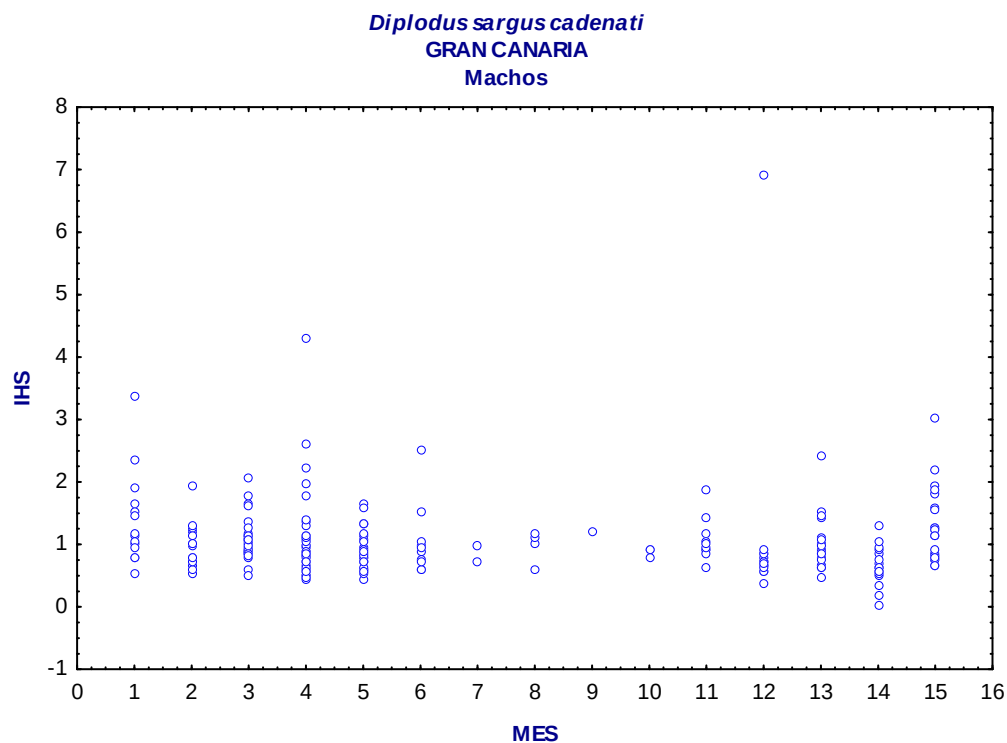


Figura 30 - Variación mensual del Índice Hepatosomático (IHS) de machos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de Gran Canaria.

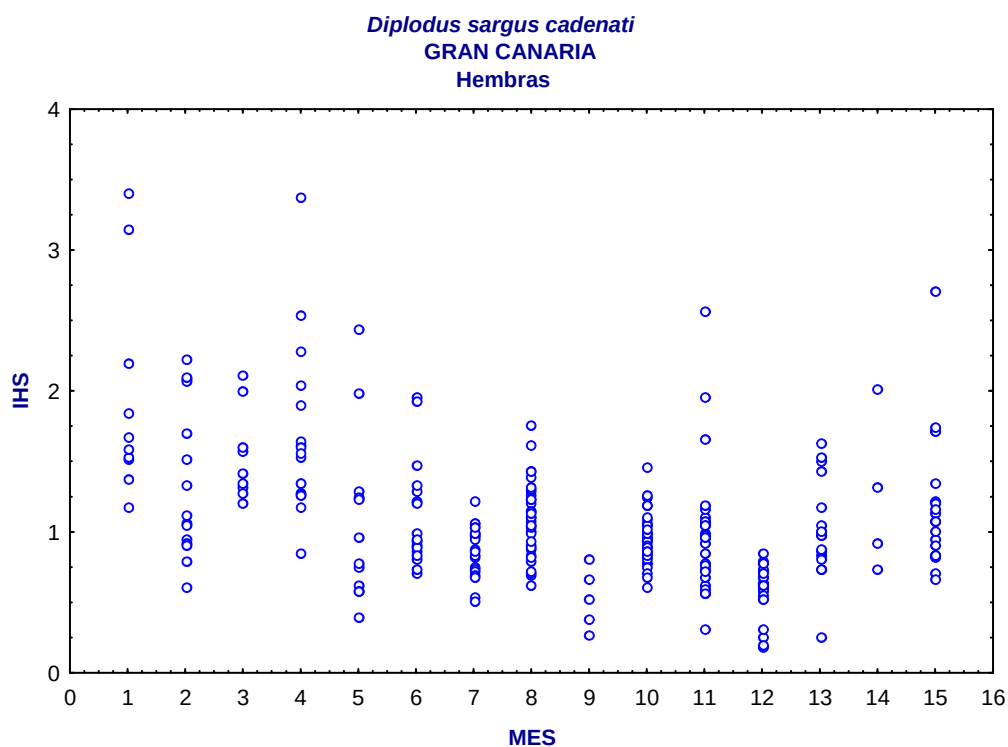


Figura 31 - Variación mensual del Índice Hepatosomático (IHS) de las hembras de *Diplodus sargus cadenati* capturadas en la isla de Gran Canaria.

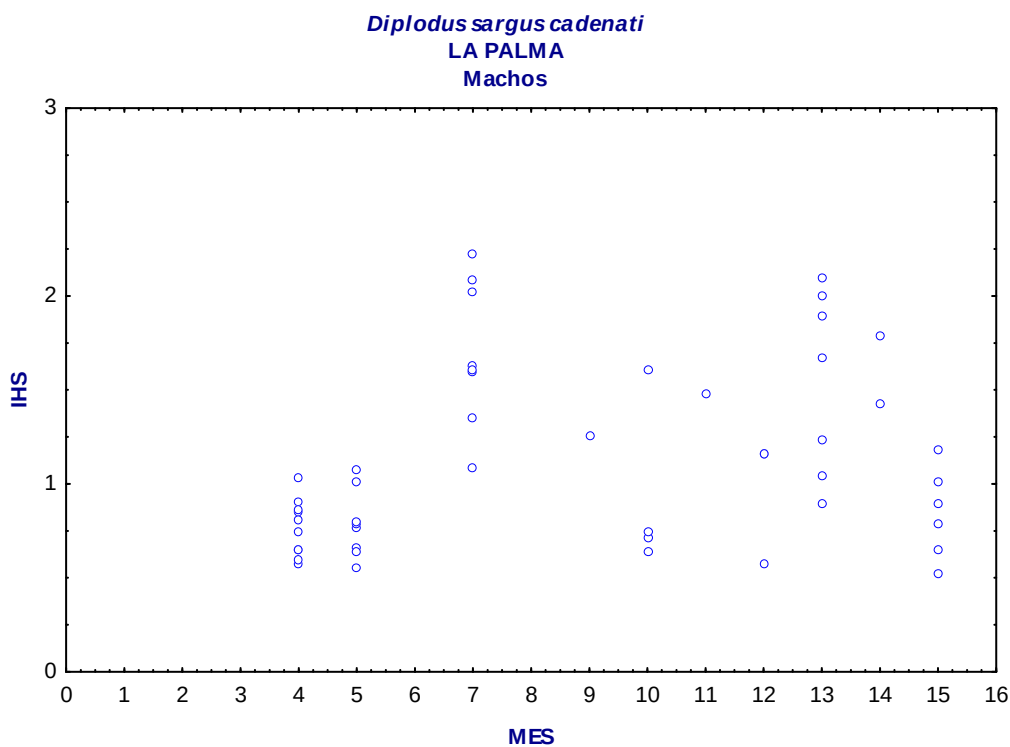


Figura 32 - Variación mensual del índice Hepatosomático (IHS) de los machos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de La Palma.

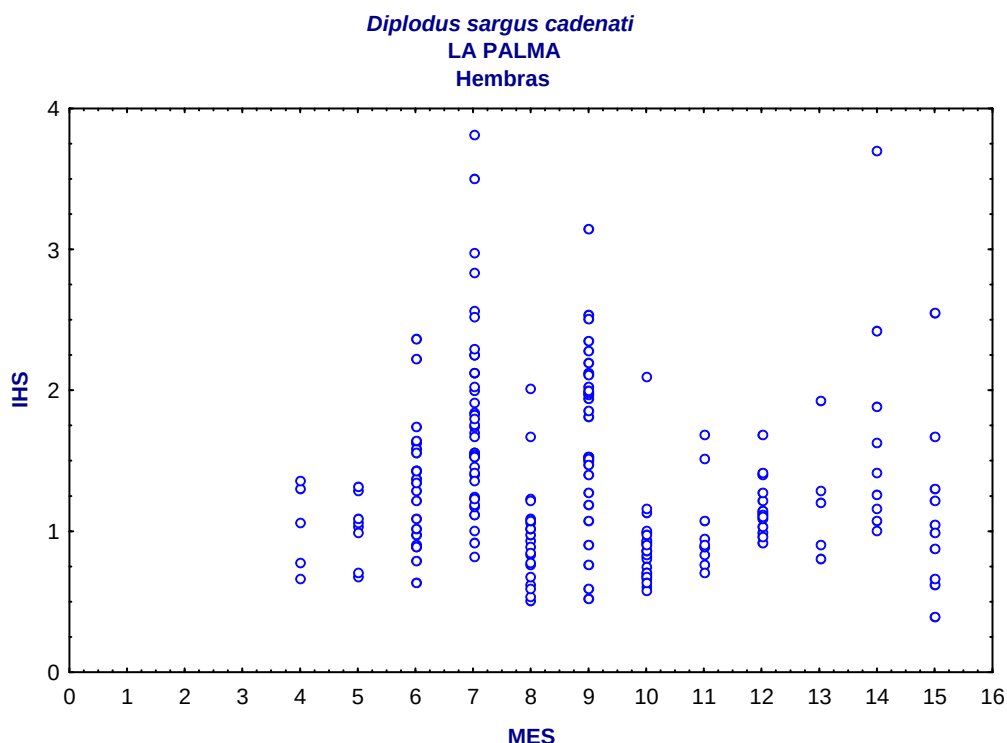


Figura 33 - Variación mensual del Índice Hepatosomático (IHS) de las hembras de *Diplodus sargus cadenati* capturadas en la isla de La Palma.

6.3.2.3. Factor de Condición (Kn)

En la isla de Gran Canaria el valor medio de Kn obtenido para los machos fue generalmente superior a 1, excepto para los meses de abril, agosto, octubre y diciembre. En cambio, en la isla de La Palma se observó un cierto desfase, registrándose los valores inferiores a 1 en los meses de mayo, septiembre y diciembre. Los valores más bajos se observaron para los meses de octubre y septiembre, en Gran Canaria y La Palma respectivamente (Figs., 34, 36; Tabla, 18). De modo similar, en Gran Canaria las hembras presentaron valores de Kn inferiores a 1 en abril, octubre y enero, mientras que en La Palma estos se observaron en abril, mayo, noviembre y diciembre. Los valores mínimos respectivos se obtuvieron en octubre y abril (Figs. 35, 37; Tabla 19).

Los valores de Kn de los machos mostraron diferencias significativas en ambas islas (Mann-Whitney test, $U=457,6$; $P=0,011$), siendo ligeramente

superiores en los individuos procedentes de Gran Canaria. Sin embargo, en las hembras no se apreciaron estas diferencias ($U=26375,0$; $P=0,35$)

Tabla 18 – Variación mensual del índice de condición (Kn) para los machos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma.

Kn	Gran Canaria		La Palma	
Mes	X	SD	X	SD
Enero	1,06	0,09	-	-
Febrero	1,09	0,09	-	-
Marzo	1,05	0,04	-	-
Abril	0,96	0,12	1,01	0,04
Mayo	1,04	0,07	0,98	0,04
Junio	1,02	0,06	-	-
Julio	1,10	0,01	1,02	0,04
Agosto	0,99	0,94	-	-
Septiembre	1,14	-	0,95	-
Octubre	0,89	0,16	1,02	0,05
Noviembre	1,00	0,06	1,02	-
Diciembre	0,98	0,24	0,98	0,05
Enero	1,01	0,10	1,01	0,04
Febrero	1,04	0,11	1,05	0,07
Marzo	1,06	0,08	1,02	0,11

Tabla 19 - Variación mensual del índice de condición (Kn) para las hembras de *Diplodus sargus cadenati* capturados en las islas de Gran Canaria y La Palma.

Kn	Gran Canaria		La Palma	
Mes	X	SD	X	SD
Enero	1,08	0,14	-	-
Febrero	1,07	0,10	-	-
Marzo	1,06	0,08	-	-
Abril	0,99	0,08	0,95	0,05
Mayo	1,00	0,06	0,96	0,06
Junio	1,02	0,11	1,03	0,06
Julio	1,03	0,05	1,03	0,05
Agosto	1,02	0,06	1,00	0,10
Septiembre	1,02	0,04	1,05	0,08
Octubre	0,85	0,16	1,01	0,05
Noviembre	1,01	0,07	0,99	0,05
Diciembre	1,02	0,07	0,97	0,06
Enero	0,99	0,07	1,01	0,08
Febrero	1,04	0,06	1,04	0,06
Marzo	1,02	0,06	1,00	0,05

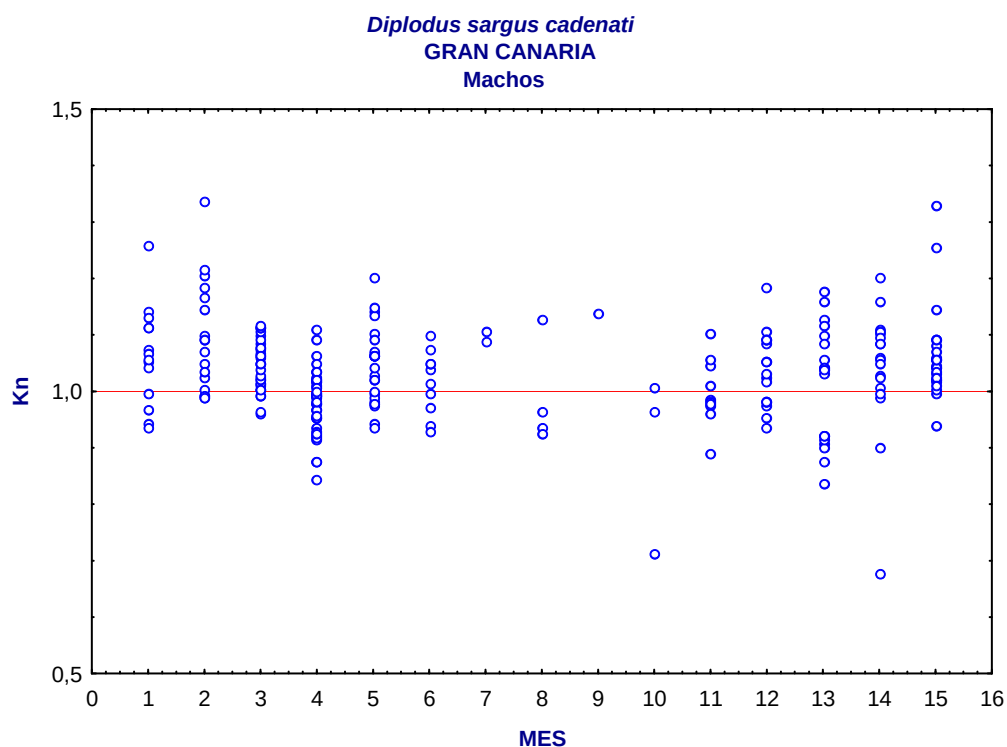


Figura 34 - Variación mensual del Factor de Condición (Kn) de los machos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de Gran Canaria.

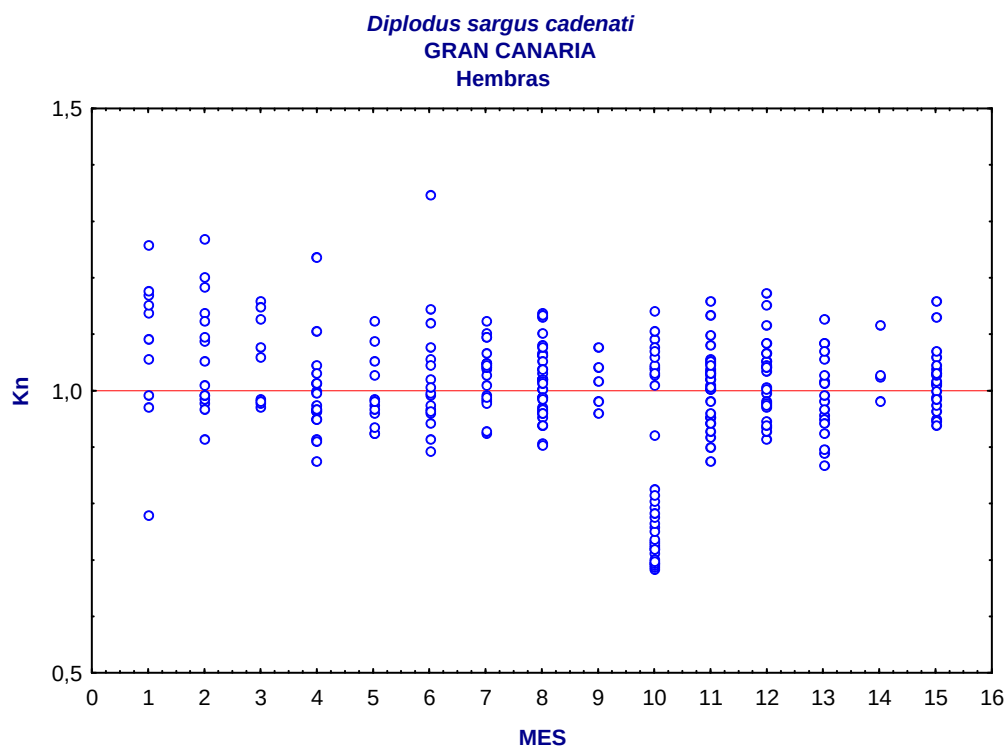


Figura 35 - Variación mensual del Factor de Condición (Kn) de las hembras de *Diplodus sargus cadenati* capturadas en la isla de Gran Canaria.

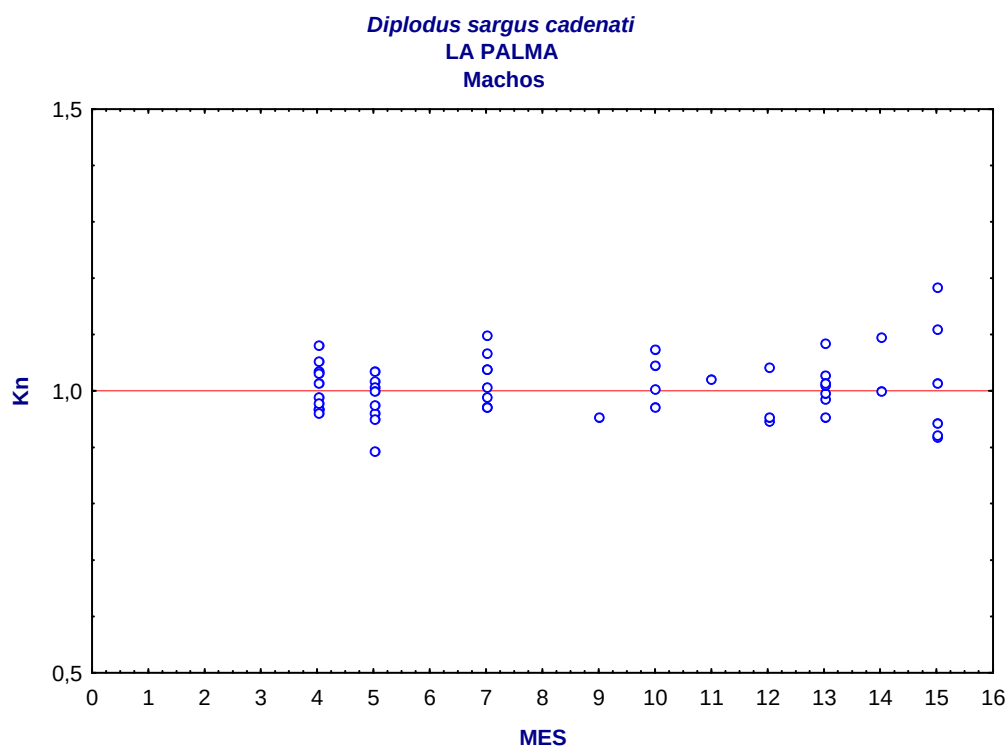


Figura 36 - Variación mensual del Factor de Condición (Kn) de los machos de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de La Palma.

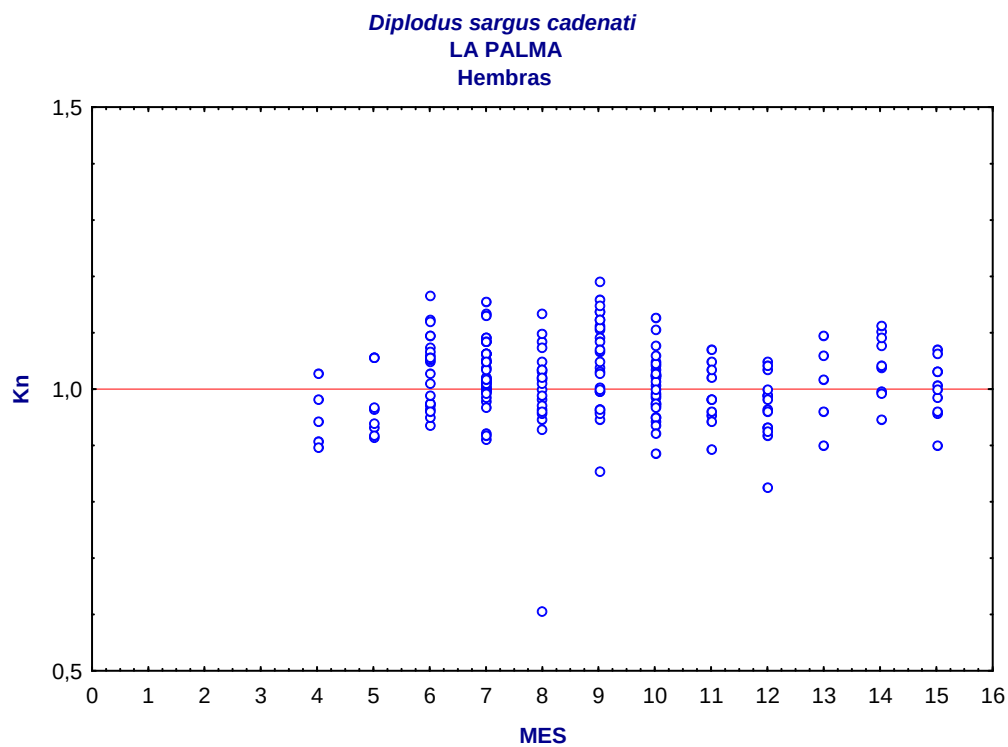


Figura 37 - Variación mensual del Factor Condición (Kn) en las hembras de *Diplodus sargus cadenati* capturadas en la isla de La Palma.

6.3.2.4. Histología

Al realizar el estudio histológico de las gónadas femeninas de *Diplodus sargus cadenati* se verificaron diferencias morfo-histológicas de naturaleza cíclica y estacional. Además, se pudieron identificar varios estadios de desarrollo de los ovocitos (Fig. 38).

En el estado perinuclear, las ovogonias y los ovocitos presentaron un citoplasma ligeramente basofílico con núcleos bien definidos. En los ovocitos perinucleares tardíos o finales, el nucleolo se localizó en la periferia del núcleo.

Los ovocitos vitelogénicos presentaron varios tamaños. Los primarios se situaron entre 30 y 80 μm , los secundarios en torno a 250-370 μm , mientras que los terciarios oscilaron entre 400-650 μm . En esta línea, Coetzee (1983), trabajando con espáridos, justifica esta variación en tamaño en función de los diferentes grados de desarrollo de los ovocitos.

Inicialmente, las gotas de vitelo se dispusieron en la periferia de la célula, pero con el sucesivo desarrollo de la fase vitelogénica se fueron colocando alrededor del núcleo. Al observarlas al microscopio óptico, las gotas de vitelo aparentaron estar vacías, apariencia que resulta frecuente y que se debe al tratamiento que las gónadas sufren durante la preinfiltración e inclusión.

Al final del período vitelogénico, las gotas de vitelo se presentaron más abundantes y con formas irregulares, como resultado de la fusión entre ellas y de las gotas lipídicas. En esta fase, el citoplasma se caracterizó por una apariencia ligeramente granular, observándose un incremento de la capa radiada y folicular. Los resultados obtenidos están de acuerdo con los dados por Coetzee (1983) y West (1990). Este proceso va acompañado de la migración del núcleo hacia la periferia de la célula, siendo muy característico en teleósteos (Yamamoto, 1957; Van der Horst, 1976).

Dadas las dificultades de identificación de los distintos tipos de células masculinas, y considerando la diversidad de terminología utilizada, no se secuenció la espermatogénesis, aunque se pudieron distinguir diferentes grados de desarrollo (Billard, 1986; Grier, 1981; Micale & Perdichizzi, 1994; Schulz *et al.*, 1996; Schulz *et al.*, 2000; Yoneda *et al.*, 1998).

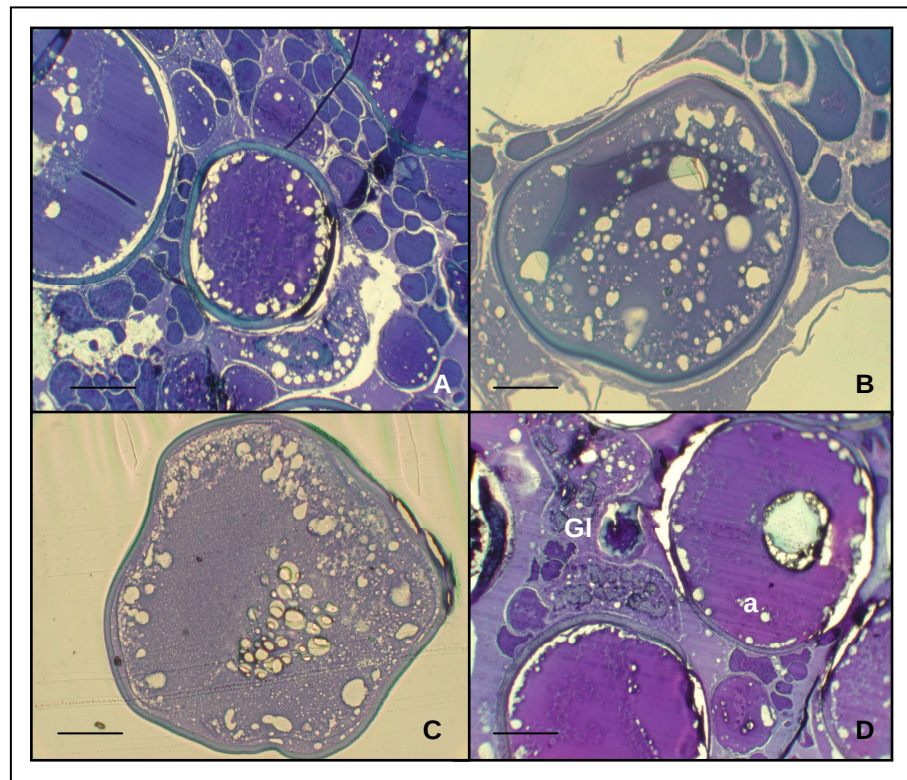


Figura 38 - Ovocitos en diferentes estadios de desarrollo: **A:** Sección de una gónada femenina mostrando ovocitos vitelogénicos en estadio primario, así como ovocitos previtelogénicos. Nótese la capa granulosa (interior) y la tecal (exterior) (escala = 33 μ m). **B:** Ovocito vitelogénico conteniendo gotas de vitelo y lípidos formadas por coalescencia de las primeras (escala = 54 μ m). **C:** Ovocito en estadio secundario de la vitelogénesis. Nótese como las vesículas han ido rellenoando el citoplasma aunque se conserva la continuidad de la capa granulosa y tecal (escala= 54 μ m). **D:** Sección de una gónada mostrando un ovocito en estadio terciario de la vitelogénesis. Nótese como en este estadio el citoplasma adquiere una apariencia homogénea (GI: gota lípido; a: ovocito atrésico; escala = 120 μ m).

Por otro lado, al comparar los valores de IGS con el grado de desarrollo de los ovocitos, se observó una relación directa entre ambos parámetros, es decir, a mayor índice gonadosomático mayor desarrollo de ovocitos. La secuencia de la

ovogénesis y la identificación microscópica de los diferentes estadios de desarrollo de los ovocitos fue idéntica en ambas islas. Así, a medida que aumentó el grado de desarrollo de las gónadas, destacó la presencia de ovogonias seguidas de ovocitos en grado de maduración II. Sin embargo, en el grado de maduración III se constató la presencia de ovocitos hidratados para distintos valores de IGS, siendo estos superiores a 4 en Gran Canaria y a 6 en La Palma (Tablas 20, 21), lo cual podría indicar una maduración más tardía para los individuos de esta última isla.

Tabla 20 - Desarrollo gonadal asociado al valor del índice gonadosomático (IGS) para las hembras de *Diplodus sargus cadenati* procedentes de la isla de Gran Canaria.

Valores de IGS	Grado de Desarrollo
< 1	Grado I – Ovocitos Previtelogénicos
1 – 4	Grado II – Ovocitos Vitelogénicos (primarios, secundarios)
4 – 5,5	Grado II – Ovocitos Vitelogénicos (terciarios) Grado III – Ovocitos Hidratados
> 5,5	Grado II – Ovocitos Vitelogénicos (primarios, secundarios, terciarios) Grado III – Ovocitos Hidratados

Tabla 21 - Desarrollo gonadal asociado al valor del índice gonadosomático (IGS) para las hembras de *Diplodus sargus cadenati* procedentes de la isla de La Palma

Valores de IGS	Grado de Desarrollo
≤ 1-2	Grado I – Ovocitos Previtelogénicos
2-6	Grado II – Ovocitos Vitelogénicos
> 6	Grado II – Ovocitos Vitelogénicos Grado III – Ovocitos Hidratados

Además, el análisis histológico reveló la presencia de individuos intersexuales, cuyas gónadas mostraron la presencia simultánea de tejido femenino

y masculino. El tejido femenino estaba constituido por células en grado I de desarrollo, es decir, ovogonias y ovocitos perinucleares (Figs.38, 39).

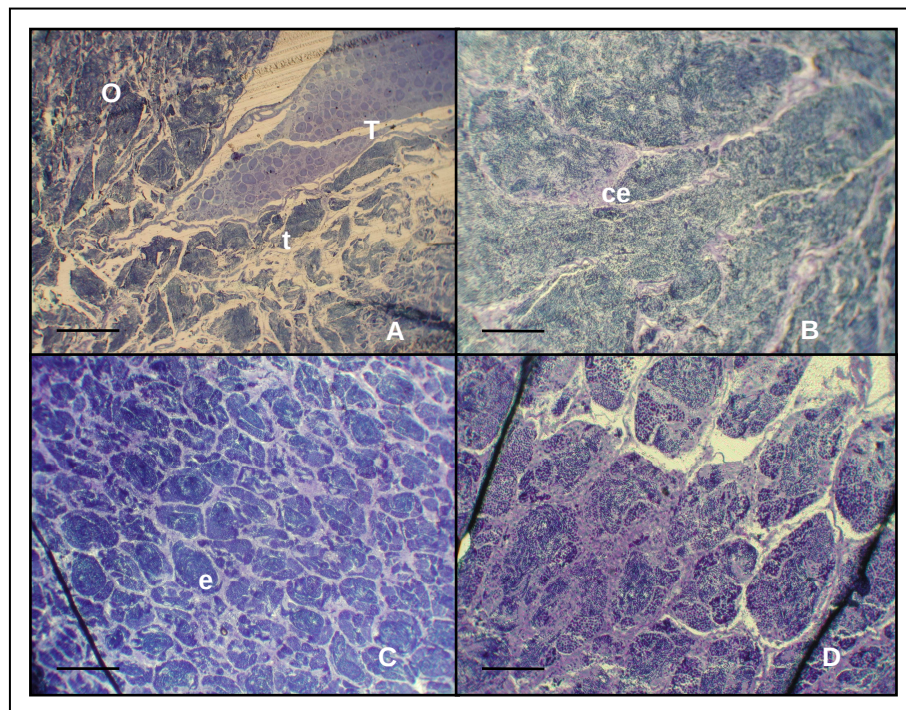


Figura 39 - Individuo intersexual. A: Sección de una gónada intersexual. t tejido conectivo; T tejido masculino; O tejido femenino. B: Detalle del tejido masculino de una gónada intersexual, mostrando los lóbulos y los conductos espermáticos (ce). C: Sección mostrando los espermatocitos (e). D: Sección con diferentes grados de desarrollo de las espermatogonias. Todas las escalas: 29 μ m.

6.3.2.5. Talla de Primera Madurez

En las hembras, la talla media de primera madurez se verificó a los 18,7 cm, tanto en individuos procedentes de Gran Canaria como de La Palma. Sin embargo, se observaron diferencias importantes en las tallas de madurez masiva, siendo la de Gran Canaria superior a la observada para La Palma (25,3 y 21,8 cm LS, respectivamente). Estos parámetros no fueron considerados para los machos, debido a la falta de material para la interpretación de cortes histológicos. (Figs. 40 y 41).

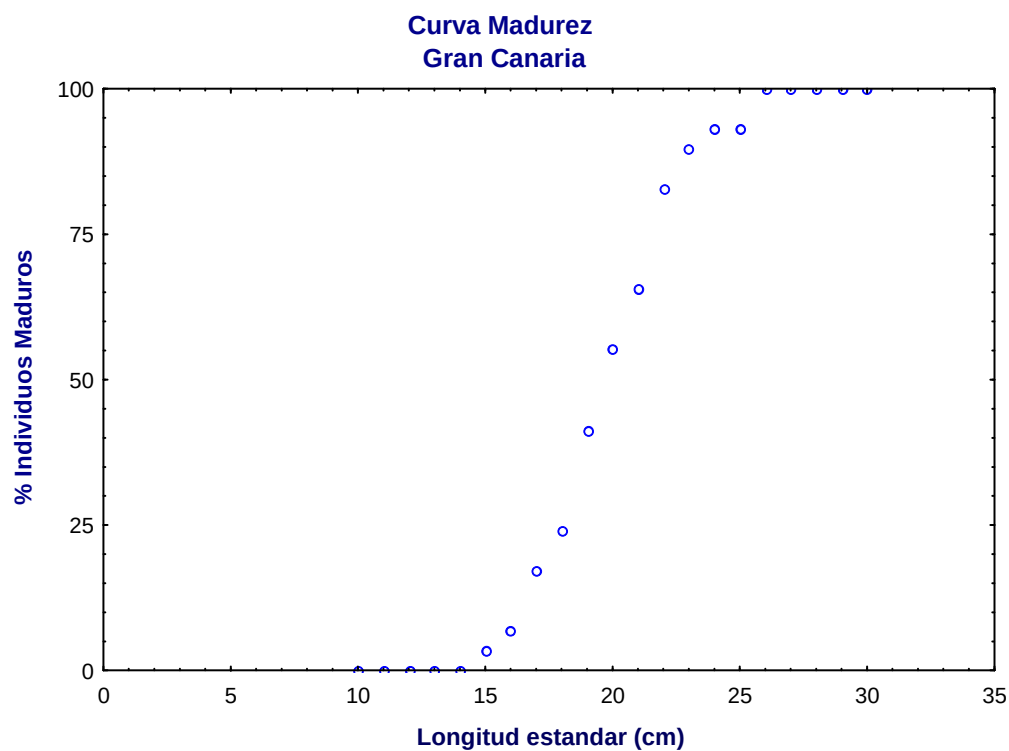


Figura 40 - Curvas de madurez para *Diplodus sargus cadenati* procedentes de Gran Canaria.

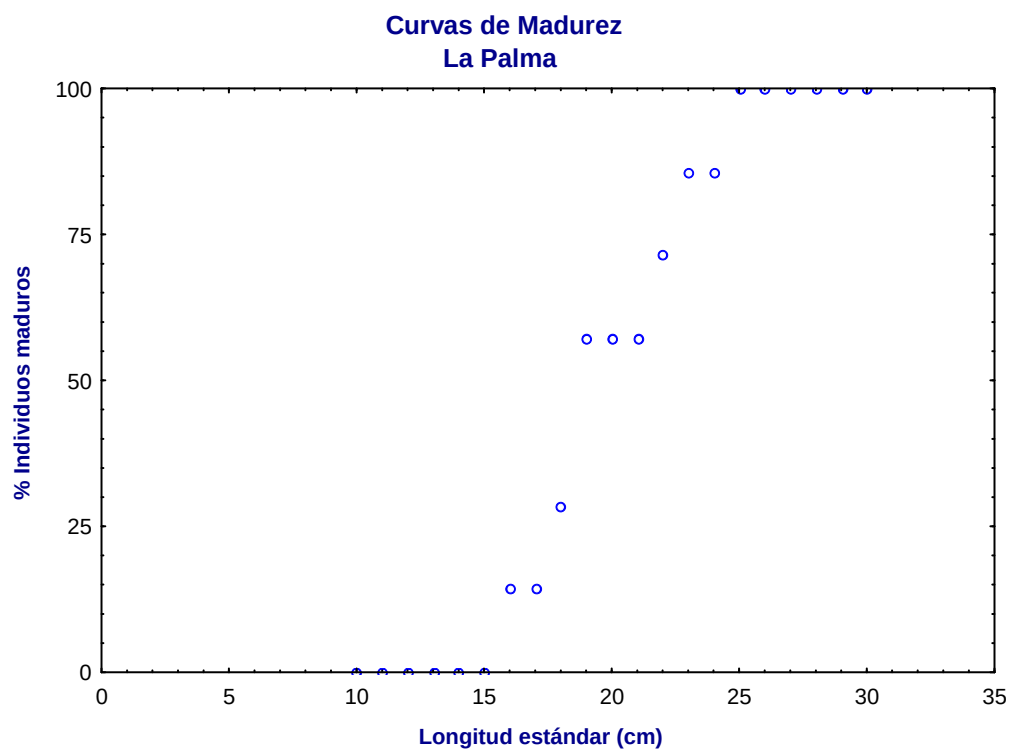


Figura 41 - Curvas de madurez para *Diplodus sargus cadenati* procedentes de La Palma.

6.3.2.6. Fecundidad

En Gran Canaria se analizaron un total de 21 muestras procedentes de ejemplares de entre 19,0 y 31,1 cm de longitud total y un rango de IGS que osciló entre 0,05 y 5,92. Por otro lado, de la isla de La Palma se estudiaron 18 muestras de individuos con un rango de tallas entre 18,8 y 32,1cm de longitud total y con valores de IGS que variaron entre 0,08 y 7,82.

El número medio de ovocitos producidos por una hembra procedente de Gran Canaria fue de 26376,14 (SD=20413,09), significativamente muy inferior al promedio de ovocitos producido en La Palma (53408,49; SD=36736,52) (ANOVA $F=8,3787$; $P=0,006$) (Fig.42). En ambas islas se observó que el número de huevos aumenta progresivamente con la talla (Figs 43 y 44)

Por otro lado, se observó que para valores de IGS superiores a 1 el diámetro medio de los ovocitos fue significativamente mayor en las hembras procedentes de Gran Canaria, con respecto a las de La Palma (ANOVA/MANOVA $F=5,95$; $P=0,01$ para el IGS como covariante, Fig 47; $F=39,0$; $P=0,0001$ para el peso como covariante; $F=38,9$; $P=0,0001$ para la talla como covariante). También, en concordancia con todo esto, se apreciaron diferencias significativas entre la fecundidad relativa de las hembras procedentes de ambas islas, presentando los sargos de La Palma un valor más elevado de fecundidad relativa (ANOVA $F=13,52$; $P=0,007$) (Fig. 48). Por otro lado, no se apreció un aumento de la fecundidad relativa con la talla del pez (Figs. 49 y 50).

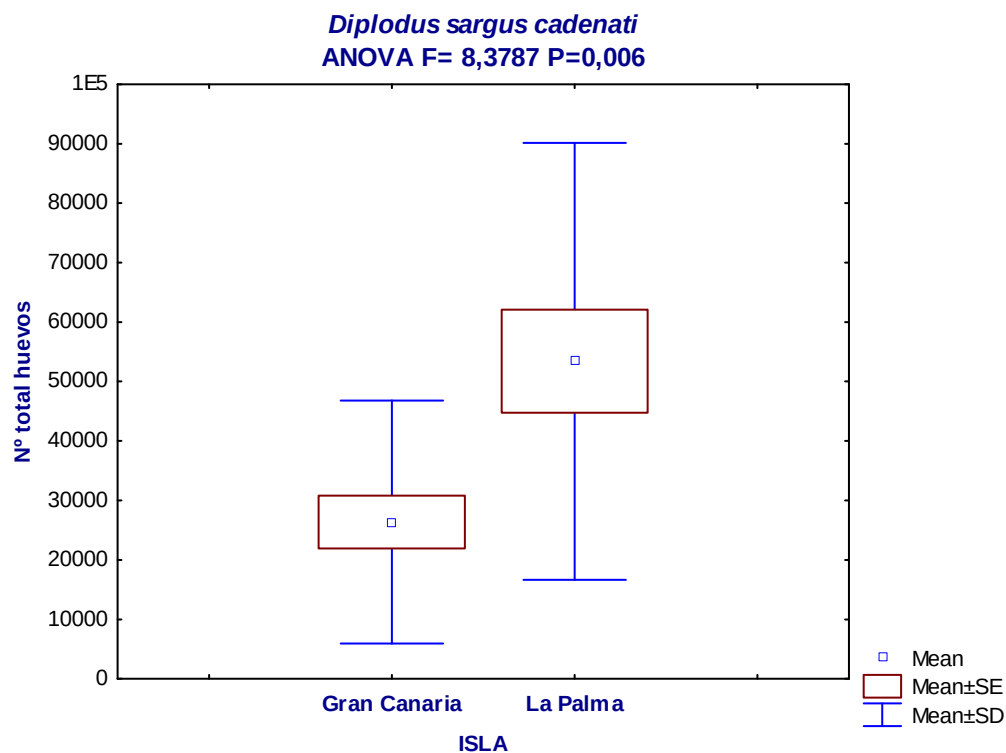


Figura 42 – Diferencias en el número medio de huevos producidos en hembras de *Diplodus sargus cadenati* procedentes de Gran Canaria y La Palma.

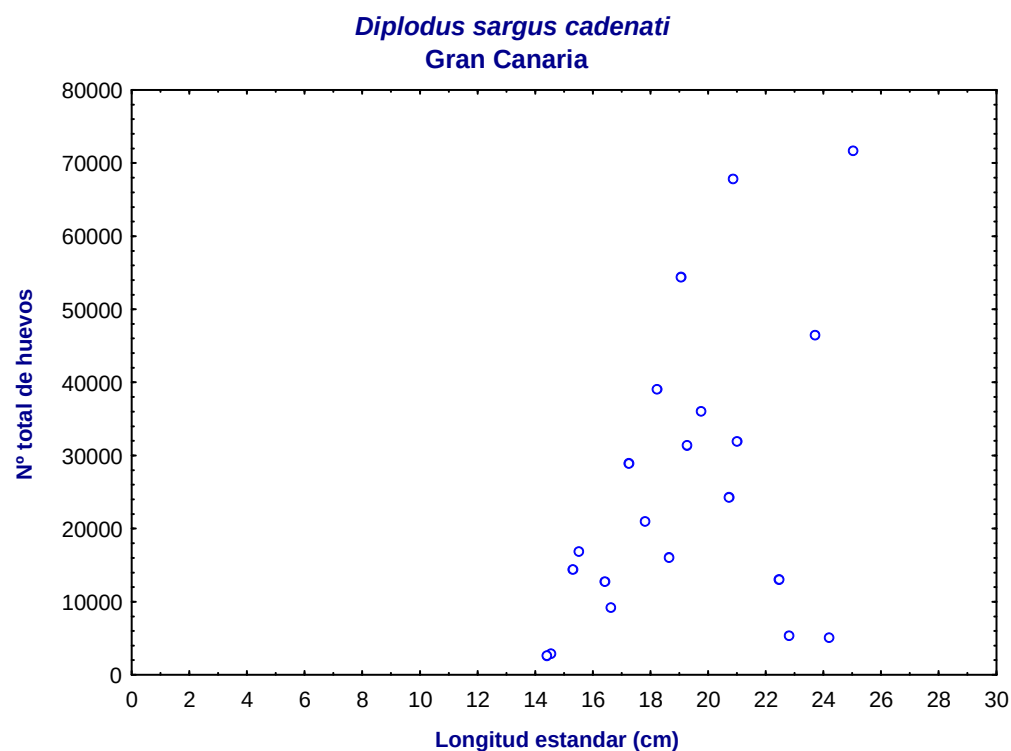


Figura 43- Número de huevos producidos por hembras de *Diplodus sargus cadenati* procedentes de Gran Canaria con respecto a la talla.

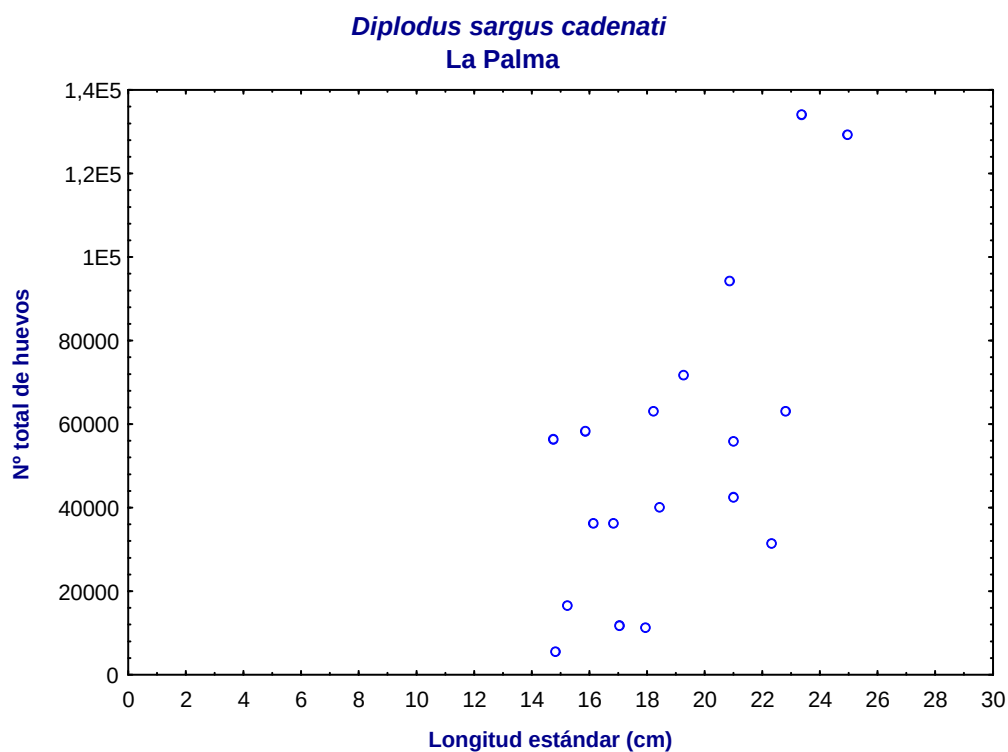


Figura 44 - Número de huevos producidos por hembras de *Diplodus sargus cadenati* procedentes de La Palma con respecto a la talla.

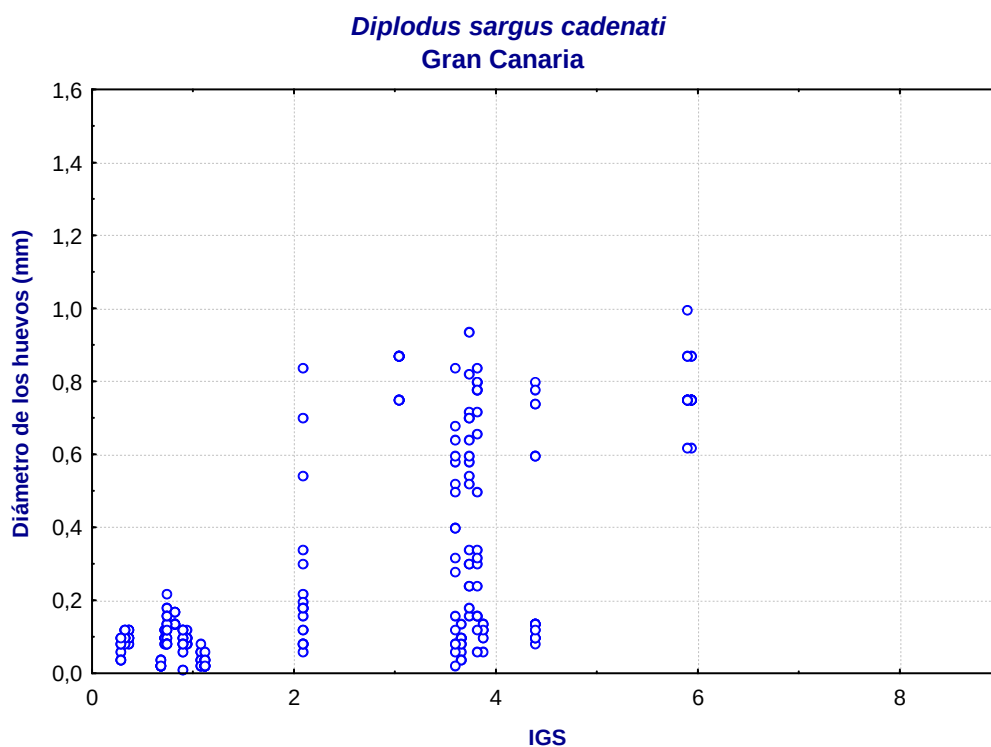


Figura 45 - Relación entre el diámetro de los huevos (mm) y los valores de IGS para los individuos procedentes de Gran Canaria.

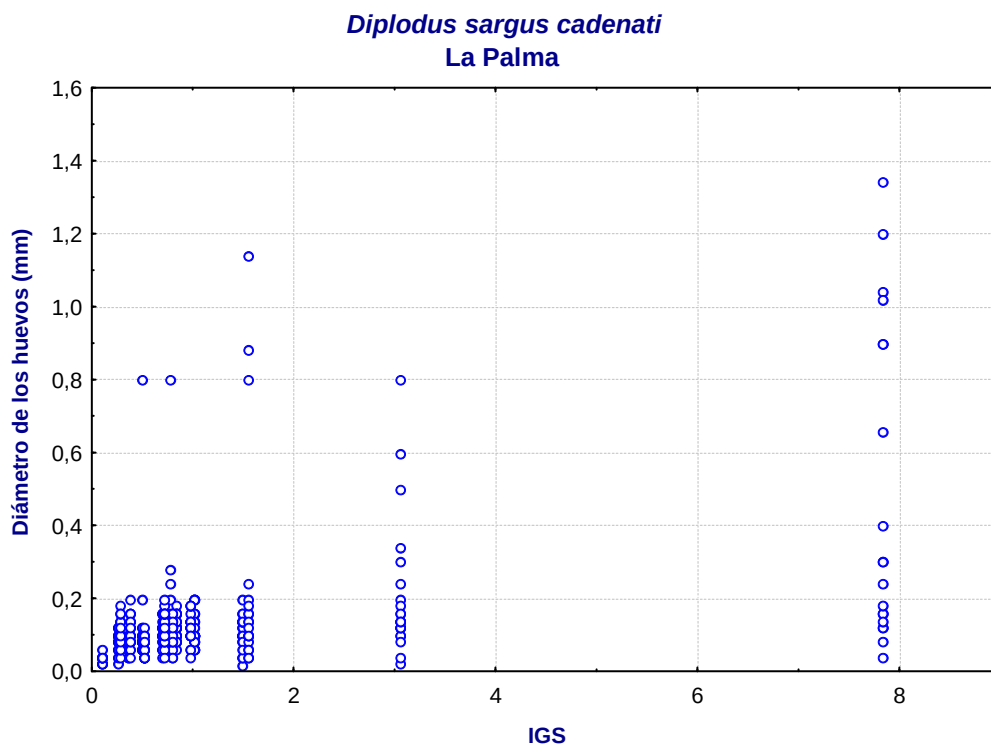


Figura 46 -Relación diámetro de los huevos (mm) y los valores de IGS para los individuos procedentes de La Palma.

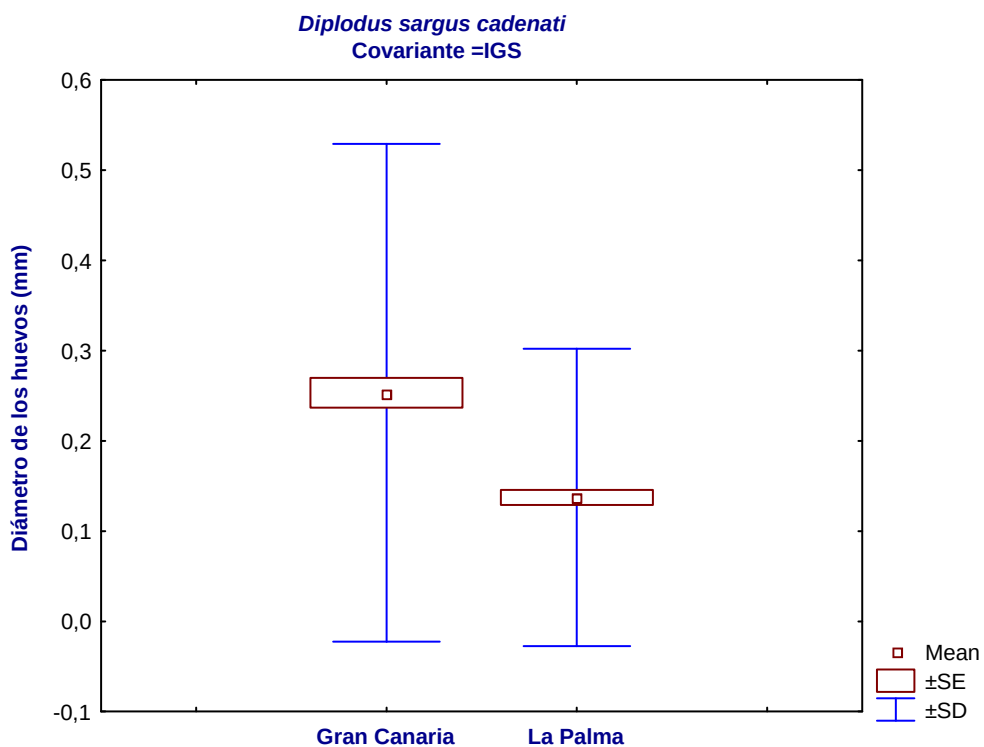


Figura 47 - Diferencias respecto al diámetro de los huevos entre los individuos procedentes de Gran Canaria y La Palma (ANOVA/ MANOVA F=5,95; P=0,014 Covariante = IGS).

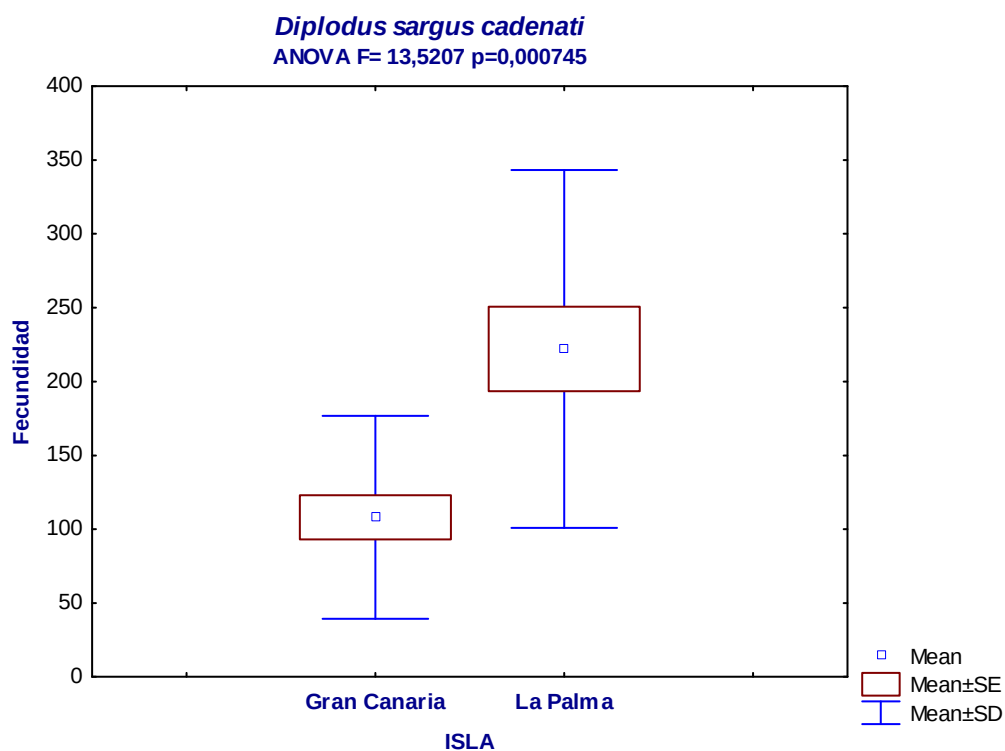


Figura 48 - Diferencia en la fecundidad relativa para *Diplodus sargus cadenati* procedentes Gran Canaria y La Palma.

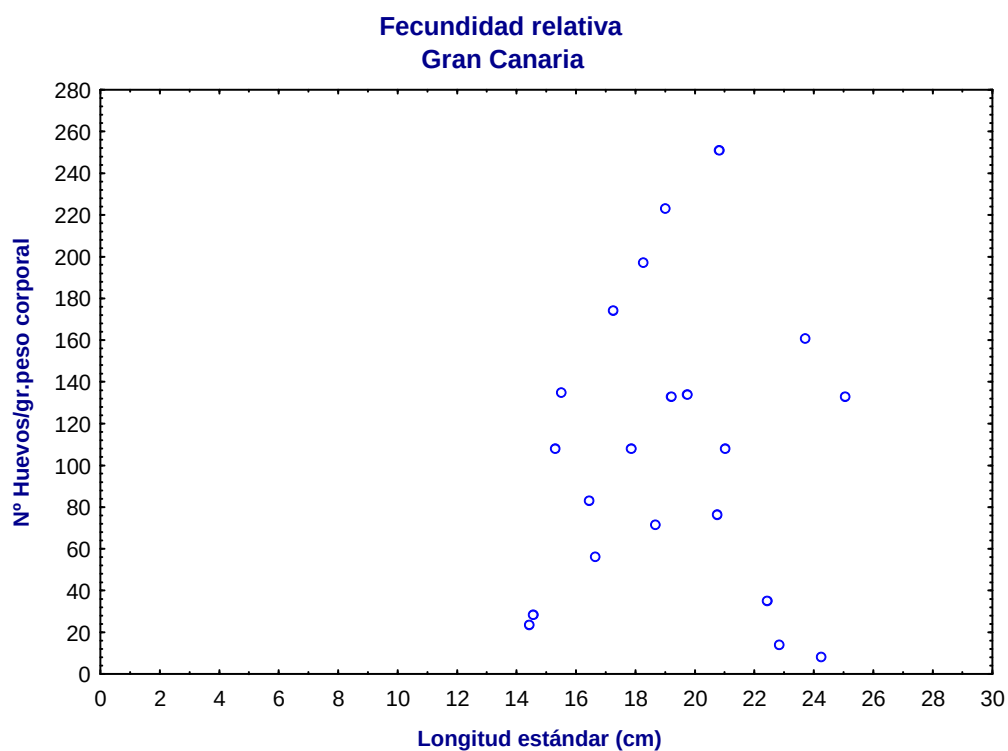


Figura 49 - Fecundidad relativa para *Diplodus sargus cadenati* con respecto a la talla para individuos procedentes de Gran Canaria.

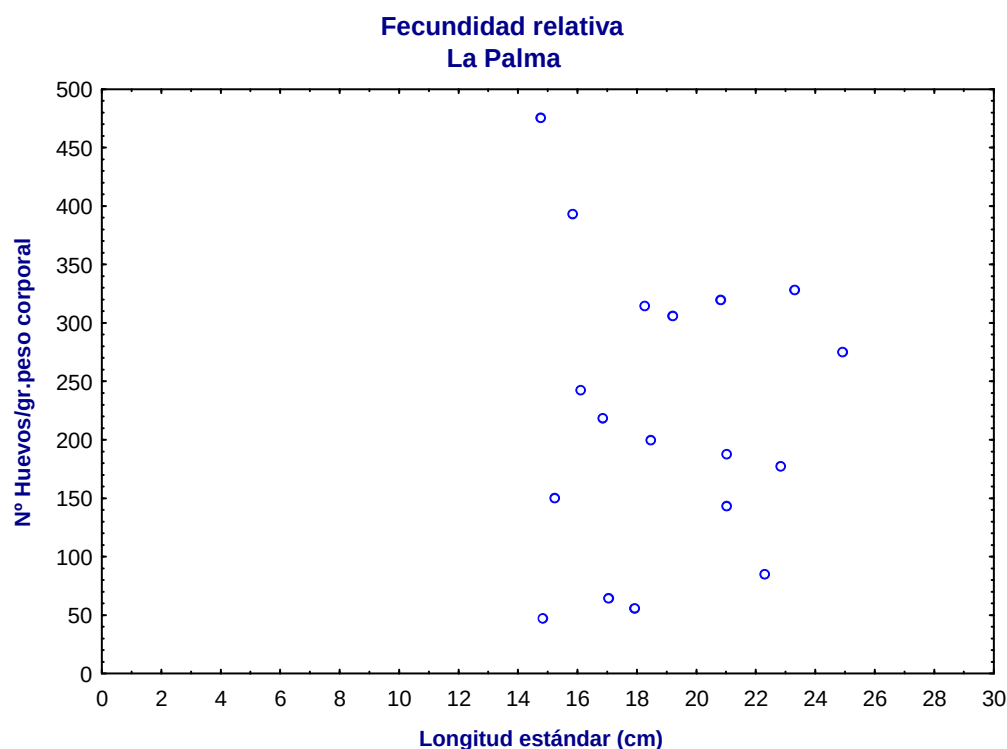


Figura 50 - Fecundidad relativa para *Diploodus sargus cadenati* con respecto a la talla para individuos procedentes de La Palma.

6.4. Discusión

La evolución de sistemas sexuales complejos es, sin duda, el resultado de la selección natural y de la existencia de ciertas características sexuales, que son afectadas por factores ambientales y que sirven para garantizar el éxito reproductivo de las especies. Aunque los primeros determinantes sexuales residan en el genoma del individuo, la expresión del genotipo del sexo en el fenotipo está condicionada por procesos bioquímicos susceptibles a variaciones ambientales. Hoy está claro que el desarrollo sexual de los peces, y de otros organismos, depende de factores genéticos (intrínsecos) y ambientales (extrínsecos) (Chan & Yeung, 1983). En relación a la influencia de los factores ambientales sobre la reproducción, se han descrito algunos mecanismos fisiológicos y se han realizado observaciones en especies de espáridos sometidas a cultivo. Se ha demostrado que en la dorada (*Sparus aurata*), especie hermafrodita proterándrica, la inversión sexual puede ser afectada por determinadas condiciones de cautividad (Zohar *et al.*, 1984). La

presencia de hembras adultas en los tanques de cultivo disminuye la proporción de inversiones sexuales en los machos jóvenes, y la presencia de estos incrementa la proporción de machos adultos que cambian de sexo. También parece ser que las elevadas temperaturas y la disponibilidad ilimitada de alimento aceleran el desarrollo gonadal y anticipan la inversión sexual (Zohar *et al.*, 1978). En poblaciones en cultivo de *Pagrus major* se han observado mayores porcentajes de individuos hermafroditas que en poblaciones salvajes, debido a la disponibilidad de alimento y a las altas temperaturas (Matsuyama *et al.*, 1988). Asimismo, se ha verificado que poblaciones en cultivo de *S. aurata* anticipan el período de puesta cuando están expuestas a temperaturas 1° C superior a la del ambiente (Scott & Pankhurst, 1992). Similarmente, en poblaciones en cultivo de *Ephinephelus microdon* (Serranidae) las desviaciones en la proporción de sexos pueden llevar a los individuos a cambiar de hembras a machos, o viceversa, para producir un ajuste en la relación de sexos aproximada al 1:1 (Debas *et al.*, 1989).

Las variaciones de los parámetros reproductivos, en respuesta a los cambios ambientales en cautividad, son solo una muestra de lo que se puede observar en el hábitat natural. En especies con amplia distribución geográfica, la temporalidad de la reproducción es una de las características donde se observa de manera evidente la influencia del medio (Castro & Santana, 2000a). El desarrollo de determinadas estrategias ha permitido, que estas especies, maximicen su éxito reproductivo y aprovechen los recursos locales disponibles (Torres-Villegas, 1997). En el caso de Canarias, donde existe una heterogeneidad ambiental relativamente amplia, con diferencias biogeográficas claras entre las islas más próximas al continente africano y las más oceánicas (Brito *et al.*, 1996), los parámetros reproductivos, a consecuencia de esta separación, pueden ser testigos de eso. Además, pueden servir como indicadores de la existencia de posibles aislamientos en poblaciones y/o stocks.

En este último sentido, en *Diplodus sargus cadenati* se han encontrado diferencias significativas a nivel reproductivo, que parecen indicar la existencia de stocks de circunscripción insular, al menos en lo que respecta a Gran Canaria y La Palma. Este aislamiento insular no ha llegado a generar una separación lo

suficientemente intensa como para considerar la existencia de dos poblaciones a nivel genético (Castro *et al.*, 2002 b; ver capítulo Genética).

Esta separación entre islas se refleja claramente en la longitud del periodo reproductivo, que tiene lugar entre enero y junio en aguas de Gran Canaria y entre febrero y mayo en la isla de La Palma. Los resultados obtenidos en Gran Canaria confirman los previamente observados para esta subespecie por Pajuelo & Lorenzo (2004), Santana *et al.* (1986) y Ojeda-Guerra (1983). Sin embargo, Lloris *et al.* (1977) señalan un período de freza más corto para el *Diplodus sargus* del Atlántico Oriental (procedentes de la plataforma nor-occidental africana). En algunas subespecies de *D. sargus* se verifica que el período reproductivo ocurre cuando la temperatura del agua se encuentra entre los 18° y 21°C, siendo este más prolongado en latitudes de aguas cálidas (Joubert, 1981). Sheaves (2006) también refiere la importancia de este párametro en el periodo de freza de los espáridos. Por ello, en ambas islas el período de reproducción es de duración temporal diferente, posiblemente debido a que los intervalos de temperatura idóneos para la reproducción son también diferentes y más largos en Gran Canaria como consecuencia de la proximidad del afloramiento norteafricano.

En este mismo sentido, la talla de madurez masiva es más baja para los sargos de aguas de La Palma que para Gran Canaria, al contrario de lo que ocurre con la fecundidad, ya que en La Palma, posiblemente por cuestiones metabólicas, tanto los individuos como los huevos maduran con anterioridad (Blaxter, 1969). Todo esto parece estar fuertemente relacionado con las diferencias térmicas que se verifican entre las islas más occidentales y orientales del Archipiélago. En La Palma la temperatura superficial del mar oscila entre 18 y 26°, siendo normalmente superior a los 21° C, mientras que para Gran Canaria estas fluctúan entre 17 y 24° C, con valores por lo general inferiores a 21° C (Dr. A.G. Ramos, ULPGC; *comm pers*). Dado que los peces son animales poiquilotérmicos y que su desarrollo embrionario se realiza completamente expuesto a condiciones ambientales externas, es lógico que éstos hayan desarrollado un amplio rango de tolerancias a los efectos de la temperatura, asegurando de esta forma la supervivencia de embriones viables (Devlin & Nagahama, 2002). Wootton (1990) refiere que la

temperatura es el factor ambiental que más influye en la reproducción de los peces, como se sugiere en algunos de los estudios realizados en el Archipiélago Canario con *Dentex gibbosus* (Pajuelo & Lorenzo, 1995b), *Pagrus pagrus* (Pajuelo & Lorenzo, 1996), *Pagellus erythrinus* (Pajuelo & Lorenzo, 1998), *Spondyllosoma cantharus* (Pajuelo & Lorenzo, 1999), *Pagellus acarne* (Pajuelo & Lorenzo, 2000) y *Sarpa salpa* (Méndez-Villamil *et al.*, 2002). Esto es principalmente debido al efecto directo de la temperatura sobre el metabolismo, ya que por cada 10 °C que aumente la temperatura la tasa metabólica de los animales se duplica o triplica (Ali, 1980). Entre las islas de Gran Canaria y La Palma, las diferencias de temperatura (hasta 5°C) son suficientes como para provocar diferencias metabólicas importantes, y consecuentemente ha de tener su reflejo en la reproducción (longitud de los periodos de freza, fecundidad relativa, etc.). Por ejemplo, en *Sparus aurata* se ha demostrado que el periodo de reproducción depende de la temperatura superficial del agua (e.g. Scott & Pankhurst, 1992; Kojima, 1981). Variaciones de 1 °C en la temperatura producen diferencias en el inicio de la época de puesta de poblaciones que se encuentran separadas entre si por 150 Km (Kojima, 1981). Asimismo, son conocidos los efectos de la temperatura sobre las tasas del metabolismo (Reynolds & Casterlin, 1980), maduración sexual (Mangold, 1987; Zolotnitskij & Monin, 1990; González *et al.*, 1992), diferenciación sexual (Conover & Kynard, 1981; Conover & Heins, 1987; Yamamoto, 1999; Luckenbach *et al.*, 2003) y crecimiento (Brett, 1979; Van Heukelen, 1979; Calderón, 1989). También es importante indicar que la respuesta a los cambios de temperatura está asociada a una componente genética, ya que se ha observado que la descendencia de diferentes hembras de *Menidia menidia* reaccionan de distinta manera a las influencias de la temperatura (Conover & Kynard, 1981).

Por otro lado, en lo que se refiere a la fecundidad, parece verificarse una relación inversa entre la producción y el tamaño de los huevos (Blaxter, 1969), hecho que coincide con los resultados obtenidos en ambas islas. Dentro de la variabilidad determinada por limitaciones genéticas, el tamaño de los huevos puede llegar a variar entre poblaciones de la misma especie (Beacham & Murray, 1985; 1987). Aunque el número de huevos producido es típico de una especie, se han descrito los efectos de la temperatura del agua, densidad, calidad y cantidad de

alimento sobre su tasa de producción (Tyler & Sumpter, 1996). Al igual que se ha verificado que las épocas de desove suelen coincidir con los períodos de mayor abundancia de alimento, ya que de esta forma se garantiza la supervivencia de las larvas (Gerking, 1979, Guerra-Sierra y Sánchez-Lizaso, 1998), no hay duda de que factores como el genotipo de un individuo y su status nutricional son determinantes en la fecundidad de la especie (Tyler & Sumpter, 1996).

La observación de las variaciones mensuales de los índices gonadosomático y hepático en las hembras de *Diplodus sargus cadenati* hacen suponer que el incremento de la actividad metabólica del hígado se produce antes del comienzo del periodo de puesta. En ambas islas se han observado valores de IH relativamente altos en los meses que anteceden a la época reproductiva. Se sabe que el hígado es el lugar donde se sintetiza la vitelogenina (Ng & Idler, 1983), y que en algunas especies normalmente ocurre un aumento del peso del hígado asociado con la actividad vitelogénica (Ng *et al.*, 1986). Además, las variaciones mensuales de los valores del índice hepatosomático y del factor de condición, para sargos de ambas islas, están relacionadas con la época de maduración y desove de los individuos, ya que en estos períodos los peces consumen gran parte de la energía acumulada durante la elaboración de los productos sexuales. Es indudable que la maduración sexual repercute sobre el estado fisiológico de los peces, pues esta se realiza en detrimento del crecimiento somático (Guerra-Sierra y Sánchez-Lizaso, 1998), y las diferencias observadas entre las islas son debidas al desfase en los que se verifican los respectivos períodos de reproducción.

En la mayoría de los peces teleósteos, la reproducción sigue el patrón normal de los vertebrados, es decir, los individuos poseen sexos separados, y el hermafroditismo es considerado “anormal” (Chan & Yeung, 1983). La presencia de ambos sexos en un individuo, sea de manera simultánea o secuencial, puede ser considerada como hermafroditismo funcional (Buxton & Garratt, 1990). Esta característica se ha observado en por lo menos 25 familias de peces, lo que indica que esta forma de diferenciación sexual está extendida entre teleósteos (Devlin & Nagahama, 2002).

Los criterios utilizados para definir el hermafroditismo no siempre han sido homogéneos. Por ejemplo, Sadovy & Shapiro (1987) sugieren una definición cuya aplicabilidad es a nivel de especies y no a individuos, en la que la presencia de tejido gonadal de un género junto a otro no funcional no implica el hermafroditismo. Además, de que en la familia Sparidae la expresión del hermafroditismo es un fenómeno complejo, algunos estudios han contribuido de forma significativa a añadir más dificultad a esta tarea al hacer uso de términos poco claros y de observaciones de carácter superficial. En este sentido, para *Diplodus sargus sargus* se han definido diferentes tipos de hermafroditismo: el proterándrico (e.g. D'Ancona, 1949; Bonnet, 1969; Micale *et al.*, 1987) y el rudimentario (e.g. Coetzee, 1986).

El hermafroditismo rudimentario se caracteriza por la presencia de individuos de tamaño medio similar en ambos sexos e individuos intersexuales pequeños y no funcionales. También se caracterizan por presentar valores de IGS equitativos entre los sexos (Buxton & Garrat, 1990). Características que no coinciden con las observadas para *D. sargus cadenati*, por lo que se ha descartado el hermafroditismo rudimentario como tipo de reproducción. Por ello, se sugiere la proterandria para el *Diplodus sargus cadenati*, tal y como ya lo sugiere Bauchot *et al.* (1981). Esta afirmación se basa en la distribución bimodal de frecuencias de tallas, con los machos mayoritariamente en las clases inferiores, al igual que observaron Sadovy & Shapiro (1987) y Mann & Buxton (1998). En ambas islas, se observa una proporción de sexos desviada hacia las hembras, con un mayor predominio de estas en las tallas superiores. La distribución mensual de sexos, donde los machos sólo son más abundantes que las hembras en la época de freza, no presenta diferencias entre islas. Por otro lado, la presencia de pocos hermafroditas en las tallas intermedias, sugiere que la fase de transición entre sexos es breve. Un esquema sexual similar ha sido descrito para otras subespecies de *D. sargus* (Abou-Seedo *et al.*, 1990; Martínez y Villegas, 1996; Mann & Buxton, 1998).

Otro aspecto a considerar es la diversidad de patrones de desarrollo del hermafroditismo, que parecen estar basados en mecanismos genéticos y fisiológicos responsables del control de la diferenciación sexual (Shapiro & Rasotto, 1993). En

algunas especies proterándricas se verifica la diginia, es decir, las hembras presentes en la población pueden desarrollarse directamente a partir de un estado larval/juvenil inmaduro, o de machos adultos por inversión sexual. De esta forma, en la población coexisten hembras primarias y secundarias, dependiendo de la forma de desarrollo adoptada (Buxton & Garratt, 1990). En general, este tipo de hermafroditismo exhibe una distribución bimodal de frecuencias de tallas/edad, siendo la estructura de la población determinada en función de la proporción de hembras primarias existente. Cuando la proporción de éstas es alta, la distribución es menos evidente, ya que las hembras primarias ocupan todos los rangos, incluyendo aquellos que estarían destinados a machos. Pero, cuando la proporción es baja se observan pocas alteraciones y la proporción de sexos tiende a estar desviada hacia los machos. Sin embargo, los resultados pueden ser enmascarados por el procedimiento de muestreo utilizado (Sadovoy & Shapiro, 1987). A nivel histológico, Micale & Perdichizzi (1994) sugieren que los ovocitos completamente hidratados y la puesta son parámetros útiles a la hora de determinar la presencia de hembras secundarias funcionales. Otros autores también consideran que la existencia de vesículas de lípidos en los ovocitos es un indicio de maduración ovárica (Bara, 1960; Barr, 1963, 1968), y según Reinboth (1970), esta tiene lugar en espáridos proterándricos después de la inversión sexual. En el caso de *Diplodus sargus cadenati*, el análisis del desarrollo ovárico en hembras de tallas superiores permitió observar la presencia de vesículas de lípidos en ovocitos tipo II y III, aunque no se registró la presencia de ovocitos hidratados, como en el caso de *Sarpa salpa*, para la misma área geográfica (Mendez-Villamil, 2001). Teniendo en cuenta lo anterior, es de suponer que también en esta especie las hembras son consideradas funcionales y que la diginia puede ser una forma de sucesión sexual presente en el *D. sargus cadenati* de las islas Canarias.

La presencia de células sexuales en distintos estados de desarrollo indica que el sargo realiza una puesta de tipo parcial, y que la maduración de los ovocitos es progresiva. Idéntico comportamiento ha sido observado en otros espáridos (Martínez-Villegas, 1996; Mann & Buxton, 1998; Méndez-Villamil, 2001), siendo frecuente en especies que habitan zonas de gran heterogeneidad ambiental. Esto significa que en el sargo, el ovario experimenta un desarrollo del tipo asíncrono. Es decir, los huevos son reclutados de una población de desarrollo ovocítico

heterogéneo, siendo posteriormente ovulados en diversas cantidades durante la época de reproducción. La clasificación del tipo de desarrollo ovárico (i.e. asíncrono o síncrono) está relacionada con los valores del índice gonadosomático. En general, los frezantes asíncronos presentan valores de IGS inferiores a los síncronos, con intervalos entre 8 y 10, y 18 y 25, respectivamente. También en los frezantes asíncronos el peso del ovario maduro es considerablemente menor, aunque el ovario presenta una periodicidad más regular y puede crecer repetidas veces durante el período reproductor (Tyler & Sumpter, 1996). Los valores de IGS obtenidos en ambas islas demostraron un carácter asíncrono. Además, la presencia de ovogonias, independientemente del estado de desarrollo gonadal, es otra evidencia de que el sargo puede realizar más de una puesta a lo largo de su vida (especie iterópara). Esta característica es común en la mayoría de los teleósteos, donde el número total de huevos producidos depende de la estación y de la longitud del periodo reproductivo. (Burton & Idler, 1987; Burton, 1991).

Por otro lado, se confirman las diferencias en el período de reproducción entre islas ya que, a nivel histológico, se ha observado que en los ejemplares de Gran Canaria el desarrollo de la gónada se produce más tarde en el tiempo. Una vez más se justifican estos resultados con base a las diferencias de temperatura, similarmente a lo indicado por Coetzee (1983) para *Cheimerus nufar* en aguas de Sudáfrica.

El sargo presentó una talla de primera madurez similar en ambas islas (18.7 cm LS), inferior a la talla mínima de captura establecida para Canarias, y análoga a la descrita para especies del género *Diplodus* en otras áreas geográficas: *D. sargus sargus* (Girardin, 1978; Micale *et al.*, 1987; Martínez-Villegas, 1996), *D. sargus kotschy* (Abou-Seedo *et al.*, 1990) y *D. sargus capensis* (Mann & Buxton, 1998). Sin embargo, se observaron diferencias para la talla de madurez masiva entre las islas, lo cual corrobora las apreciaciones de Munro (1990), sobre que en una misma especie la talla de maduración puede variar geográficamente a consecuencia de las condiciones ambientales. Los resultados obtenidos parecen no estar en concordancia con los observados en otros trabajos previos realizados en el Archipiélago. Por ejemplo, Santana *et al.* (1986) obtuvieron una talla de primera

madurez similar a la calculada en este estudio (18.9 cm LS), aunque diferente con respecto a talla de madurez masiva (22.6 cm LS). Sin embargo, la falta de coincidencia en este último aspecto radica en que estos autores trataron las muestras de Gran Canaria, La Palma, y Fuerteventura en conjunto, como pertenecientes a un mismo grupo. De esta forma, los valores medios de talla de primera madurez son coincidentes, al ser una característica general para toda el área geográfica de distribución de la especie, pero la talla media de madurez masiva será siempre mayor que el límite inferior del rango y menor que el límite superior. Por otro lado, Pajuelo & Lorenzo (2004) obtuvieron valores significativamente más bajos para la talla de primera madurez (15.4 cm LS) y madurez masiva (20.2 cm LS) en muestras de Gran Canaria, resultados que, a nuestro entender, generalizaron erróneamente para todo el Archipiélago.

7

Crecimiento

7.1. Introducción

Aunque los primeros estudios realizados sobre crecimiento se remontan a siglos anteriores, este sigue siendo un tema de sumo interés en la actualidad. De hecho se ha convertido en un procedimiento estándar en la investigación pesquera, ecológica e ictiológica. En el estudio de las poblaciones marinas es considerado un aspecto obligatorio, ya que constituye uno de los requisitos fundamentales para el conocimiento de la biología de las especies y la ordenación de los recursos pesqueros (Morales-Nin, 1987; Lorenzo 1992; Méndez-Villamil, 2001). La vasta literatura existente es un buen testimonio de su importancia.

Definir el crecimiento resulta una tarea compleja, y más en los peces, al ser considerado un proceso de carácter flexible e indeterminado (Casselman, 1987). Guerra-Sierra y Sánchez-Lisazo (1998) lo definen como el aumento de las dimensiones, en talla o peso, de un organismo con el tiempo y en el que factores abióticos como la temperatura y salinidad desempeñan un papel fundamental (Brett, 1979). Prueba de ello es la variabilidad estacional que experimentan algunos de los organismos marinos, sobre todo en las zonas templadas (Pannella, 1974).

La determinación de la edad en los peces permite dar a conocer parámetros como el crecimiento, índices de mortalidad, edades de reclutamiento y primera madurez, así como la composición por edades de los stocks, considerados todos ellos medidas importantes para la evaluación de la dinámica poblacional (ICSEAF,

1983; Morales-Nin, 1987; Piñeiro *et al.*, 1996). Esta se puede determinar mediante la interpretación sistemática de las estructuras de crecimiento observadas en los tejidos calcificados de los peces óseos. Los métodos empleados se basan en la interpretación de zonas o anillos de crecimiento observados en determinadas piezas óseas (escamas, otolitos, vértebras, etc.) y el recuento directo de estas zonas. Otros métodos menos frecuentes son la observación directa de animales criados en cautividad, los experimentos de marcado y recaptura y los análisis de frecuencias de tallas (Morales-Nin, 1987; Piñeiro *et al.*, 1996). Por lo general, varias de éstas técnicas son empleadas simultáneamente en cualquier estudio del crecimiento de poblaciones naturales de peces.

Hace tiempo que los otolitos se utilizan en la determinación de la edad de peces teleósteos (e.g. Hederström, 1759; Reibish, 1899). Sin embargo fue en el siglo pasado cuando estos estudios adquirieron mayor importancia, a partir de la observación de la presencia de micro-elementos en los otolitos de merluza por parte de Hickling (1931), confirmado posteriormente por Pannella (1971), que constató la formación de anillos diarios. Desde entonces se han utilizado los otolitos, fundamentalmente para la determinación de la edad y crecimiento de peces adultos. También se han utilizado, aunque en menor grado, para la diferenciación y clasificación de especies. Hoy en día sigue siendo una de las metodologías más empleadas, ya sea por su observación directa o a través de secciones. Su uso generalizado está relacionado con las innumerables ventajas que ofrecen. Destacan las propiedades físicas de los otolitos, que comprenden un carácter acelular y metabólicamente inerte, que dan a conocer la historia individual del pez, al permitir registrar los aspectos ambientales a que este está sujeto desde el período embrionario (Casselman, 1987; Campana, 1999; Campana *et al.*, 2000).

Los otolitos son estructuras policristalinas localizadas en el aparato vestibular del oído interno de los peces, y cuyas funciones son las de audición, equilibrio y detección de profundidad (Bone & Marshall, 1982; Hawkins, 1993; Popper *et al.*, 2005). Los peces teleósteos presentan tres pares de otolitos y cada uno de ellos se diferencia en su localización, función, tamaño, forma y ultraestructura. Estos son denominados *lapillus*, *asteriscus* y *saggitta*, siendo este último par el más utilizado a causa de su mayor tamaño y facilidad de manejo (Morales-Nin, 1987).

Apesar de las características comunes, la diversidad de formas y tamaños de los otolitos es un aspecto evidente entre los peces teleósteos. Además, y según Popper *et al.* (2005), es probable que estas variaciones afecten las diferentes funciones a las que está asociado el oído interno, un órgano que ha ido especializándose a lo largo del proceso evolutivo.

Los otolitos están constituidos por cristales de carbonato cálcico inorgánico (aragonito) incrustados en una matriz orgánica, que actúa como núcleo de cristalización. El constituyente orgánico presenta una estructura compleja consistente en capas concéntricas y fibras radiales. Mientras que el constituyente inorgánico comprende cristales en forma de aguja, segregados entre las fibras proteicas radiales y que atraviesan las capas concéntricas orgánicas, a partir del centro del otolito hacia la periferia (ICSEAF, 1987). Las variaciones cíclicas en las proporciones de estos materiales dan lugar a la formación de las estructuras de crecimiento, que se traducen en la alternación de zonas concéntricas opacas y hialinas en el otolito. Estas se corresponden con anillos de crecimiento rápido y crecimiento lento, cuya formación tiene lugar en dos períodos estacionales concretos. Durante los períodos favorables ocurre una mayor deposición de aragonito en la superficie del otolito, lo que lleva a la formación de las zonas opacas, mientras que en los períodos desfavorables sucede justo lo contrario. Normalmente, cada año se forma un anillo opaco y otro hialino que corresponden a las épocas de verano e invierno, respectivamente. Este ciclo estacional de formación de los dos anillos perdura durante la vida del pez, aunque las épocas de formación pueden cambiar con el envejecimiento del pez (ICSEAF, 1983; Morales-Nin, 1987; Piñeiro *et al.*, 1996).

Aunque el uso de los otolitos está muy extendido en los estudios de crecimiento de peces, poco se sabe sobre las causas que motivan la formación estacional de estos anillos, si bien parece existir una componente genética responsable del proceso. Asimismo, parecen estar relacionados con los períodos de madurez sexual y las variaciones estacionales del medio. Sin embargo, puede que todo el proceso sea controlado por un ritmo biológico innato, ya que se ha observado la formación de dichos anillos en individuos sexualmente inmaduros. Variaciones en la temperatura, enfermedades y períodos prolongados de ayuno

dejan notar su influencia, bien sea a través de la formación de anillos falsos o en la anchura de los anillos anuales (ICSEAF, 1983; Lorenzo, 1992). Es imprescindible, por tanto, conocer información relativa a la puesta, migración y hábitos alimenticios de las especies, así como los cambios en las características ambientales de su hábitat.

Es indudable la importancia de los otolitos como indicadores de la edad en los peces. Sin embargo, su aplicabilidad no se resume sólo a este aspecto, el creciente desarrollo tecnológico ha permitido su utilización en la identificación de stocks, determinación de patrones de migración, reconstrucción histórica de la temperatura y salinidad, detección de migraciones anádromas como marcadores naturales o marcadores químicos de masas de agua (Campana, 1999).

En este capítulo, se pretende determinar la edad y el crecimiento de *Diplodus sargus cadenati* para las islas de Gran Canaria y La Palma, mediante el recuento de anillos de crecimiento en los otolitos y constatar posibles diferencias en el mismo entre las unidades poblacionales correspondientes a cada isla.

7.2. Material y Métodos

Las colecciones de piezas duras (otolitos), utilizadas para determinar la edad, se obtuvieron de los muestreos biológicos realizados en el laboratorio. Los otolitos *saggitta* fueron extraídos de 1006 ejemplares recolectados entre los meses de enero de 2000 y marzo de 2001. El procedimiento de obtención de muestras se encuentra descrito en el capítulo de “Material y Métodos Generales” del presente trabajo.

Se realizaron lecturas directas a un total de 1006 otolitos a fin de establecer la edad correspondiente a cada uno de los ejemplares. En la lectura de los otolitos, se siguieron las directrices básicas propuestas por otros autores para la misma especie, de forma que se pudieran obtener resultados susceptibles de comparación (Pajuelo & Lorenzo, 2002, 2004; Pajuelo *et al.*, 2001). Previa observación, cada

otolito fue sumergido en agua en una placa de Petri y luego examinado con una lupa binocular (Olympus SZ60 - 12x), utilizando la luz reflejada sobre un fondo negro. Se procuró observar para cada ejemplar ambos otolitos en simultáneo. La lectura se realizó con el otolito entero por su cara cóncava y en diversas direcciones sobre su superficie, aunque en los ejemplares de más edad los mejores resultados se obtuvieron a lo largo del eje mayor. Siempre que fue posible se procuró realizar lecturas rápidas, ya que la claridad del otolito puede quedar deteriorada si este está sumergido durante demasiado tiempo (ICSEAF, 1983). La asignación de la edad se efectuó mediante el recuento de los anillos de crecimiento anuales, considerando que cada uno estaba formado por un anillo de crecimiento rápido y otro lento. En todas las observaciones se consideraron como anillos anuales verdaderos aquellos que eran visibles alrededor de una parte sustancial del otolito (Lorenzo, 1992).

Sobre cada otolito se realizaron tres lecturas y sólo se aceptaron como válidas aquellas que presentaban al menos dos coincidentes. Todos los demás fueron desechados y considerados ilegibles. Las observaciones se efectuaron siempre por el mismo sujeto y las repeticiones fueron espaciadas en el tiempo, evitándose así interpretaciones de carácter subjetivo. Igualmente, en el momento de realizar las lecturas se desconocían los detalles relativos a las medidas de los ejemplares. La terminología utilizada corresponde a la propuesta por Morales-Nin (1987). Además, se calculó el índice de porcentaje medio de error (APE) (Beamish & Fournier, 1981) y el coeficiente de variación (CV) (Chang, 1982) para verificar la precisión en la determinación de las edades. Estos índices pueden ser usados en el cálculo de la determinación de la edad por un solo sujeto o por varios, y sirven para confirmar la consistencia en la interpretación de la edad (Morales-Nin & Panfili, 2002). Aunque no exista un valor límite para aceptar o rechazar las lecturas, se asume que valores bajos de APE y CV indican una buena precisión en la estimación de las edades (e.g. Campana, 2001).

Una vez establecida la edad, se clasificó cada ejemplar en función de la clase de edad con referencia a una fecha de nacimiento designada. Esta fecha de nacimiento no tiene por que coincidir con el momento biológico del nacimiento. Para mayor comodidad hay una convención para usar el 1 de enero para casi todas las especies del Atlántico, aun cuando el desove de algunos miembros de una

especie haya sido en diciembre del año anterior y otros puedan no terminar la puesta hasta mayo (Holden & Raitt, 1975). Así, se admitió el 1 de enero como la fecha de nacimiento del pez y se consideraron la fecha de captura y el período de formación de los anillos. Los criterios utilizados son acordes con los referidos en ICSEAF (1983).

Con posterioridad, se elaboraron claves de talla-edad para los ejemplares procedentes de cada una de las islas (Gran Canaria y La Palma). Estas se construyeron ordenando los resultados en una tabla de doble entrada donde se presentaron las tallas agrupadas en intervalos (1 cm) y las clases de edad. Posteriormente se ajustaron estos datos a la ecuación de crecimiento de von Bertalanffy (Beverton & Holt, 1957), cuya expresión matemática viene dada por:

$$L_t = L_{\infty}(1 - e^{-k(t-t_0)})$$

donde L_t es la longitud del individuo en cualquier instante t , L_{∞} la longitud asintótica, k es la constante de crecimiento que indica la tasa a la cual el incremento en longitud disminuye con la edad, y t_0 es un parámetro de ajuste de la ecuación sin interpretación biológica, aunque algunos autores la interpretan como la edad a la cual la longitud del individuo es 0. Los parámetros fueron calculados mediante un análisis de regresión no lineal iterativo, utilizando el algoritmo de Madquart (Saila *et al.*, 1988).

Se estimaron los parámetros de la ecuación de von Bertalanffy a partir de dos procedimientos: el cálculo de las tallas medias de cada cohorte mediante la de descomposición de las distribuciones de frecuencias de tallas a través de los métodos de Bhattacharya (Bhattacharya, 1967) y NORMSEP (Hasselblad, 1966; Pauli & Caddy, 1985) y el análisis de las relaciones talla-edad utilizando el programa ELEFAN, ambos incluidos en el programa de la FAO para la gestión de stocks pesqueros denominado FiSAT II (Gayanilo *et al.*, 2002).

7.3. Resultados

7.3.1. Descripción del otolito

El otolito *saggitta* de la subespecie *Diplodus sargus cadenati* es ovalado y ligeramente alargado. El borde anterior esta formado por un rostrum saliente y un antirrostrum reducido, por veces ausente, como sucede en la mayor parte de las especies del género *Diplodus* (Bauzá-Rullan, 1971) (Fig. 51).

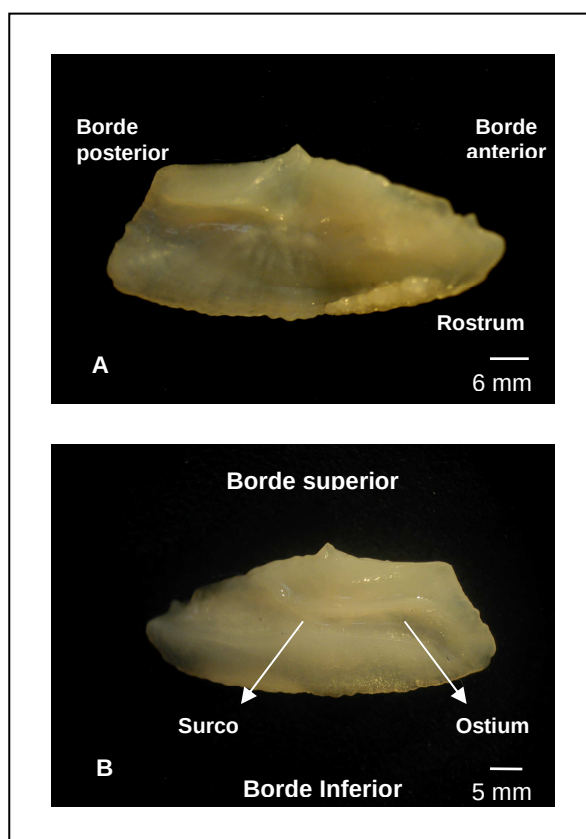


Figura 51 - Otolito *saggitta* de *Diplodus sargus cadenati* (A: cara externa; B: cara interna).

El borde dorsal (superior) presenta suaves ondulaciones y el ventral (inferior) dibuja una larga curvatura. Ambos son lisos. Además, el área ventral es lisa, alta en su mitad y descendente hacia las extremidades. La cara interna es convexa y la externa cóncava y de superficie ligeramente irregular. En la primera se encuentra definido un surco acústico profundo, formado por un amplio *ostium*. La cauda es

estrecha y de forma redondeada en su final. La región terminal es lisa, aunque en peces grandes suele presentarse con aspecto denticulado (Fig. 51).

7.3.2. Determinación de la edad y el crecimiento mediante lectura directa de otolitos

Los otolitos *sagitta* de la subespecie *Diplodus sargus cadenati* han probado ser de gran utilidad en la determinación de la edad y crecimiento, al estar claramente definidos por anillos de crecimiento lento (hialinos) que alternan con los de crecimiento rápido (opacos), alrededor de un núcleo blanco y opaco (Fig. 52).

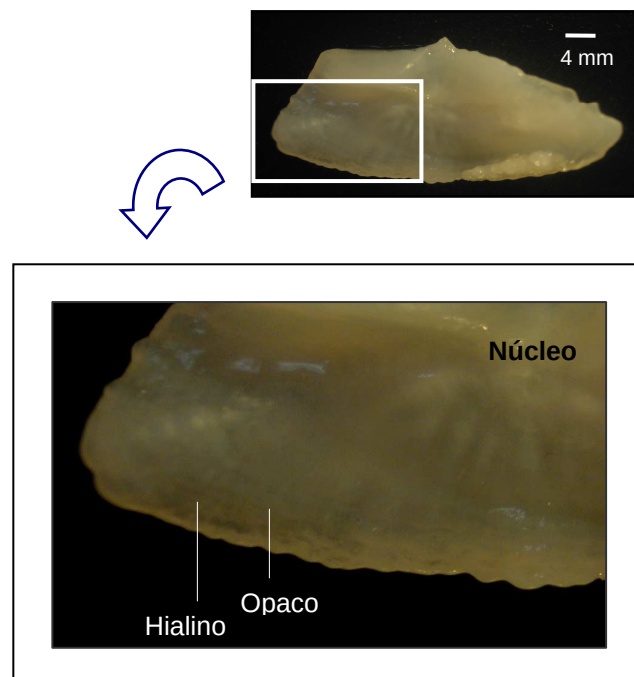


Figura 52 – Anillos en el otolito *sagitta* de *Diplodus sargus cadenati*

La lectura se realizó mediante el recuento de estos anillos, presentándose los hialinos con un color oscuro y los opacos de aspecto blanquecino. La inmersión de los otolitos en agua, por períodos cortos, resultó beneficiosa para la interpretación de los mismos. Sin embargo, cabe señalar que la identificación del primer anillo de crecimiento no siempre resultó una tarea sencilla, ya que la opacidad del núcleo

dificultaba su identificación. Asimismo, en los ejemplares de mayor edad, la proximidad de los anillos más recientes hizo que la interpretación fuera más costosa.

De los 1006 otolitos considerados para el análisis de la edad, 629 correspondieron a individuos procedentes de la isla de Gran Canaria y 377 a la isla de La Palma. Del total analizados para la isla de Gran Canaria, 68 (10,81%) fueron considerados ilegibles. De éstos, 38 se encontraban fracturados y 30 no poseían zonas de crecimiento definidas, por lo que no se pudieron estimar las edades respectivas. De los restantes 561 otolitos, 526 (93,7%) lecturas fueron coincidentes, mientras 35 (6,23%) no presentaban concordancia y fueron excluidas del análisis. Para la isla de La Palma, se observaron 38 (10,07%) otolitos ilegibles, presentándose 21 fracturados y 17 con zonas de crecimiento indefinidas. De los 339 otolitos considerados, 319 (94,10%) fueron lecturas coincidentes, mientras que 20 (5,89%) no exhibían tal condición. Los valores obtenidos para el índice de porcentaje medio de error (APE) y el coeficiente de variación (CV) fueron 3,6 y 5,3, respectivamente. Estos sugieren que los niveles de precisión obtenidos están de acuerdo con los valores de referencia indicados por Campana (2001).

La variación mensual en la frecuencia de los anillos de crecimiento fue considerada para las islas de Gran Canaria y La Palma, entre los meses de enero de 2000 y marzo de 2001. En ambas islas, se ha verificado una clara variación estacional en la formación de los anillos. Los márgenes opacos y hialinos del otolito fueron observados durante todos los meses, a distintas frecuencias (Figs. 53 y 54). El patrón observado indica que la formación de los anillos de crecimiento rápido y lento ocurre durante un año. En ambas islas, la mayor frecuencia de anillos opacos se ha observado en los meses de primavera-verano. En el caso de Gran Canaria, la formación del anillo opaco parece observarse entre los meses de mayo y septiembre, pero sobretodo de julio a septiembre. Unos rangos temporales similares se han verificado para la isla de La Palma. Cabe referir que el valor de mayor frecuencia se ha observado para el mes de agosto en la isla de Gran Canaria, y en septiembre para la isla de La Palma. La formación del anillo de crecimiento hialino tiene lugar durante los meses restantes.

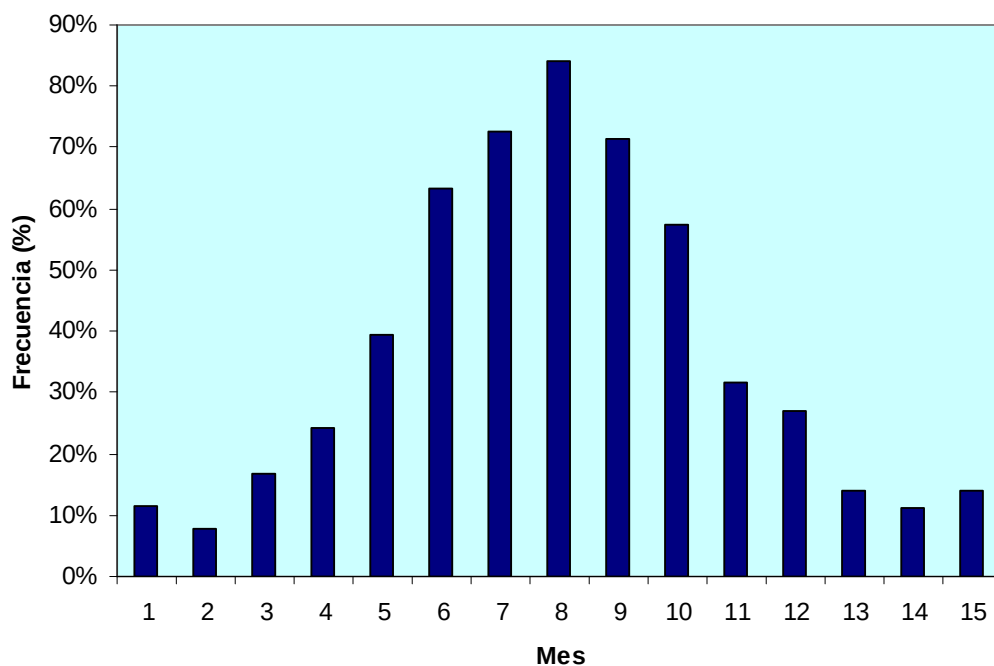


Figura 53 - Variación mensual de la frecuencia del anillo de crecimiento opaco en el margen del otolito de *Diplodus sargus cadenati* en Gran Canaria

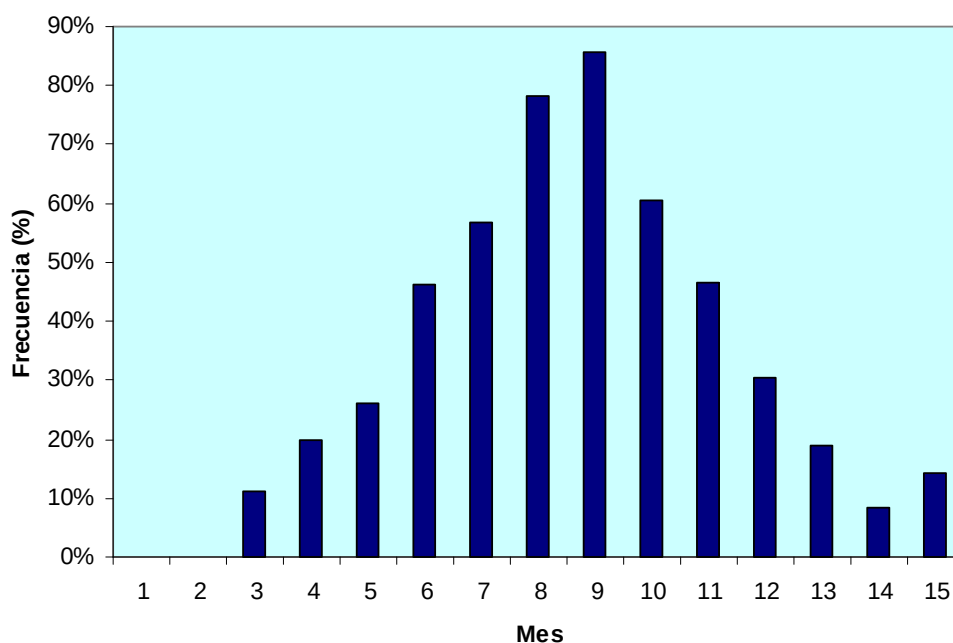


Figura 54 - Variación mensual de de la frecuencia del anillo de crecimiento opaco en el margen del otolito de *Diplodus sargus cadenati* en La Palma.

En las Tablas 22 y 23 se presentan las claves talla edad para los ejemplares pertenecientes a ambas islas, donde se puede apreciar la distribución de los individuos por clase de talla en cada grupo de edad. Los ejemplares analizados presentaron edades comprendidas entre 0 y VIII años para la isla de Gran Canaria, y entre 0 y VI años para la isla de La Palma.

Tabla 22 – Clave talla-edad para ejemplares de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de Gran Canaria.

LS (cm)	Clase de edad (años)								
	0	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
10	2								
11		5							
12		19	7						
13		29	36						
14		23	59	5					
15		7	60	14					
16		1	34	36					
17			14	44	4				
18			9	26	9				
19				10	17				
20				1	14	1			
21					5	3			
22					4	10			
23					1	4	1		
24						4	1		
25						1	1		
26							1	1	
27							-	-	
28							-	-	
29								1	1
30									1
31									
N	2	84	219	136	54	23	4	2	2
X	10,45	13,56	15,13	17,20	19,94	22,86	24,75	27,70	29,55
SD	0,21	1,00	1,35	1,17	1,30	1,15	1,04	1,83	0,63

Tabla 23 - Clave talla-edad para ejemplares de *Diplodus sargus cadenati* capturados en la isla de La Palma.

LS (cm)	Clase de edad (años)						
	0	I	II	III	IV	V	VI
9	2						
10	1	11					
11	1	15	1				
12		29	16				
13		7	42				
14		3	32	2			
15			27	10			
16			15	27			
17			2	23	1		
18				4	15		
19				2	10		
20					5		
21					2	1	
22						7	
23						1	
24						2	1
25							2
N	4	55	135	68	33	11	3
X	10,25	12,09	14,34	16,77	19,18	22,88	25,53
SD	0,85	1,03	1,26	1,03	0,96	0,94	0,55

Se observó una desproporción en el número de individuos que constituían cada clase de edad, siendo los grupos de II y III años los mejor representados en ambas islas. Sin embargo, se observó que los individuos de edad mayores eran poco frecuentes, en especial para la isla de La Palma, donde sólo se encontraron individuos con una edad máxima de VI años. Por otro lado, la clase de edad 0 se mostró poco abundante y, por lo tanto, con escasa representatividad en las capturas de ambas islas. La distribución de las tallas en cada grupo de edad fue relativamente normal. Los valores de dispersión respecto a la talla media fueron bajos para las dos islas, excepto para los grupos de edad mejor representados, en cuyo caso se observaron valores más altos.

Los intervalos de tallas para cada clase de edad observadas no fueron muy diferentes en ambas islas, aunque se verificaron tallas medias más elevadas para las clases más jóvenes de la isla de Gran Canaria. Cabe señalar que estos valores tendieron a converger hacia las clases de mayor edad, e incluso se mostraron ligeramente más altos en los ejemplares procedentes de La Palma. Además, los valores de las tallas medias obtenidos para ambas islas parecen indicar que esta especie alcanza el 50% de su longitud máxima durante aproximadamente el segundo año de vida (Tablas 22 y 23).

7.3.3. Análisis de las Frecuencias de Talla

La distribución mensual de las frecuencias de talla halladas para la subespecie *Diplodus sargus cadenati* se encuentran representadas en las figuras 55 y 56.

Con los métodos de Análisis de Progresión Modal de Bhattacharya y NORMSEP se identificaron las tallas medias de cada cohorte, a partir del análisis de la descomposición de las distribuciones de frecuencias de longitudes. Los resultados obtenidos (Tabla 24) indican que en la isla de Gran Canaria el valor de la longitud asintótica del sargo es ligeramente superior a la obtenida para la isla de La Palma. Igualmente, se observó un coherente valor ligeramente superior para la constante de crecimiento de la isla de La Palma, y una estacionalidad menos marcada. El punto de menor crecimiento también se verificó ligeramente diferente para ambas islas, siendo en el mes de abril para La Palma y en junio para Gran Canaria.

Al aplicar el análisis de frecuencia de edades se observaron algunas diferencias importantes en los parámetros de la ecuación de crecimiento estacional de von Bertalaffy (Tabla 25).

En este último caso se observó un valor de longitud asintótica superior al calculado con los métodos anteriores, aunque se verificó una mayor similitud en las

constantes de crecimiento obtenidas para las unidades poblacionales de ambas islas. No obstante, los coeficientes de estacionalidad del crecimiento se mostraron diferentes, pareciendo observarse una mayor estacionalidad en el crecimiento de los individuos procedentes de La Palma. Con este método, los períodos de menor crecimiento se apreciaron a finales del mes de abril para la isla de Gran Canaria y en diciembre para La Palma. Por otro lado, el parámetro Z, mortalidad total, presentó valores similares en ambas islas, lo que parece más coherente con la realidad pesquera.

Tabla 24 - Parámetros de la ecuación de von Bertalanffy para *Diplodus sargus cadenati* obtenidos a partir del análisis de progresión modal de Bhattacharya y NORMSEP para las islas de Gran Canaria y La Palma.

	Gran Canaria	La Palma
V.T.E.L.S	33,9	32,3
L_{∞}	32,0	26,1
K	0,40	0,60
C	1,00	0,69
WP	0,48	0,38
Rn	0,15	0,16
Z	1,07	0,78
M	0,82	0,53

Tabla 25 - Parámetros de la ecuación de von Bertalanffy para *Diplodus sargus cadenati* obtenidos a partir del análisis de frecuencia de edades para las islas de Gran Canaria y La Palma.

	Gran Canaria	La Palma
L_{α}	45,0	38,7
K	0,08	0,1
C	0,19	1,0
WP	0,39	1,0
t_0	-3,21	-2,63
Z	0,89	0,75
M	0,26	0,31

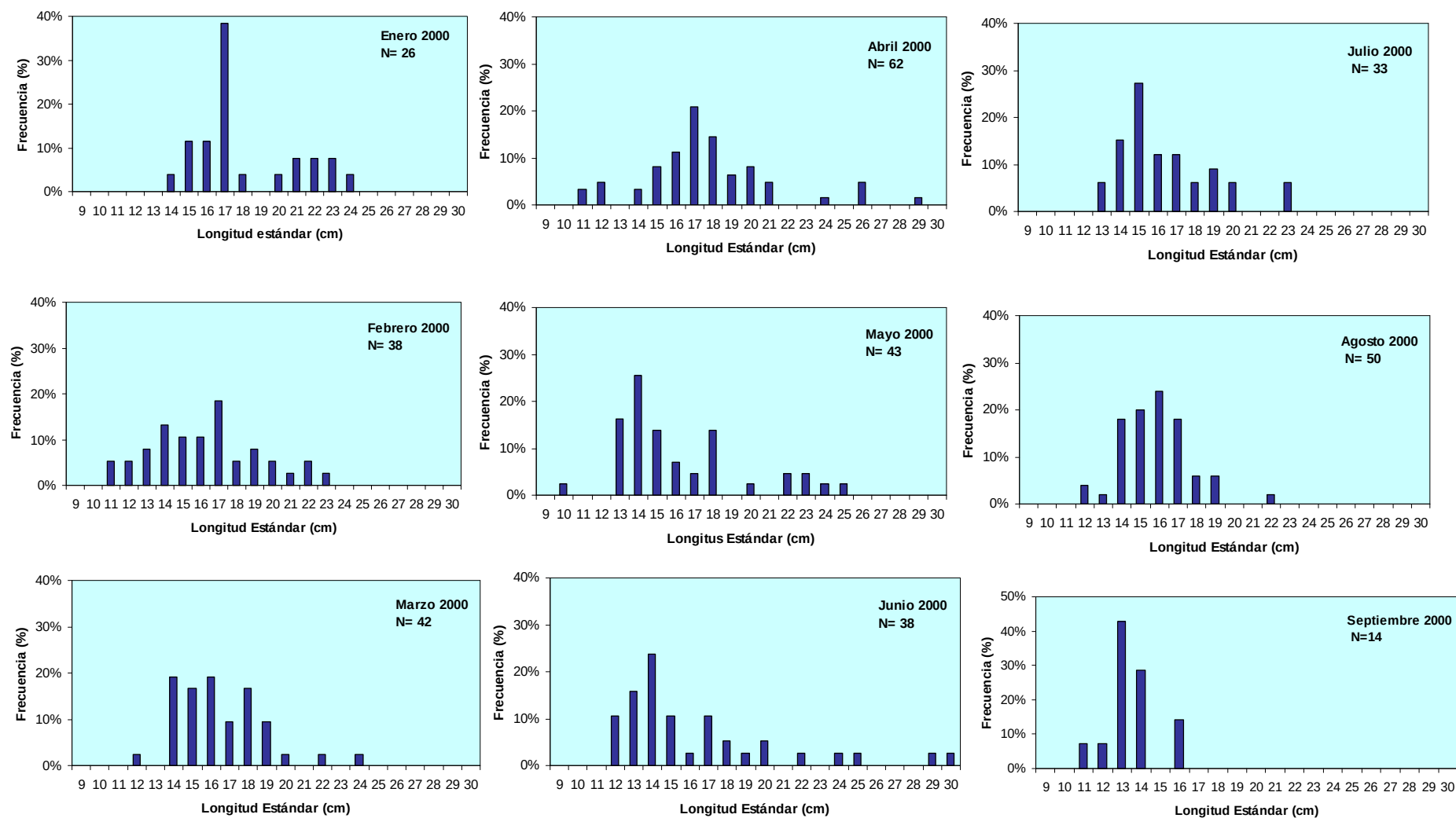


Figura 55 - Variación mensual de la distribución de frecuencias de tallas de *Diplodus sargus cadenati* en Gran Canaria (enero 2000-marzo 2001).

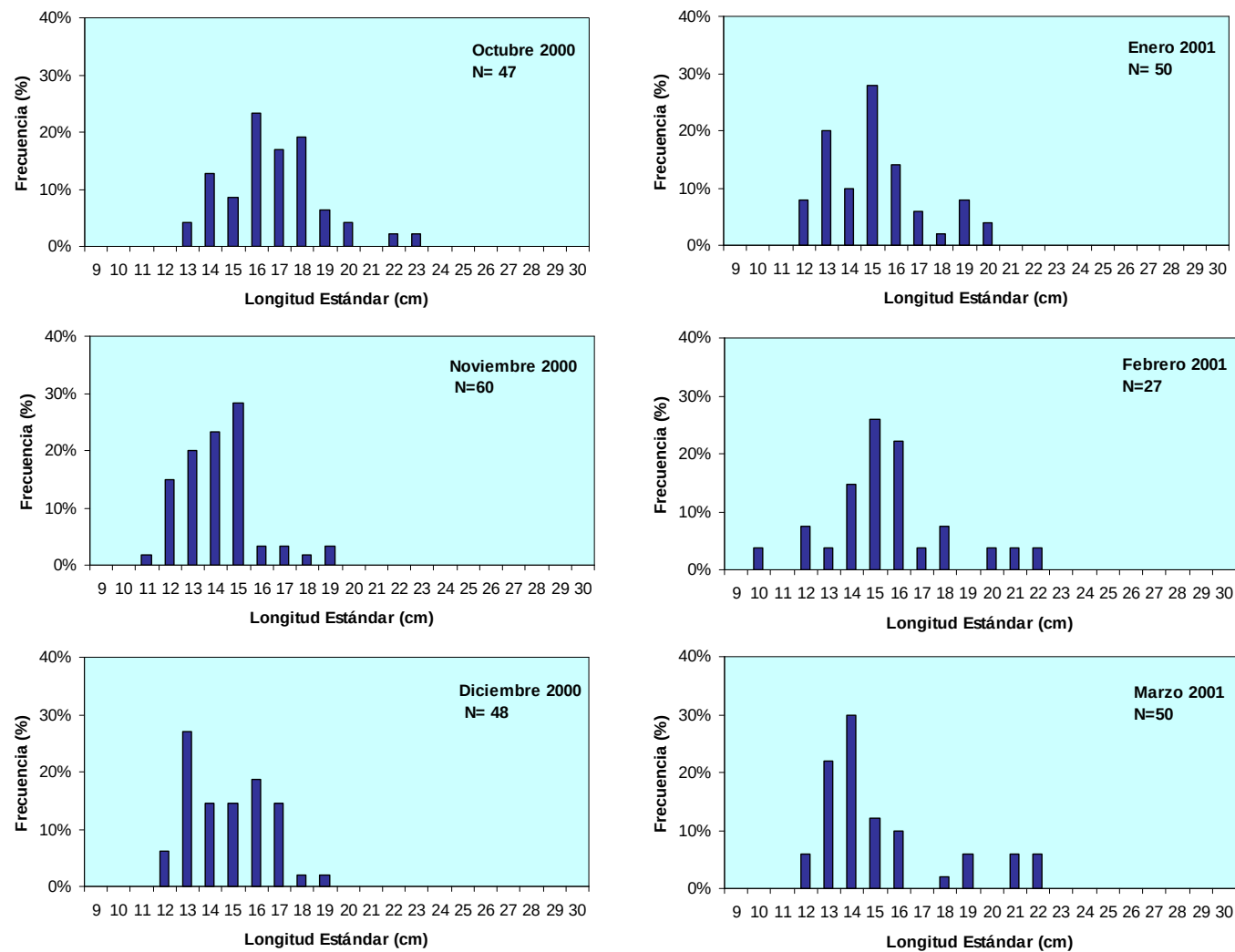


Figura 55 (continuación) - Variación mensual de la distribución de frecuencias de tallas de *Diplodus sargus cadenati* en Gran Canaria (enero 2000 - marzo 2001).

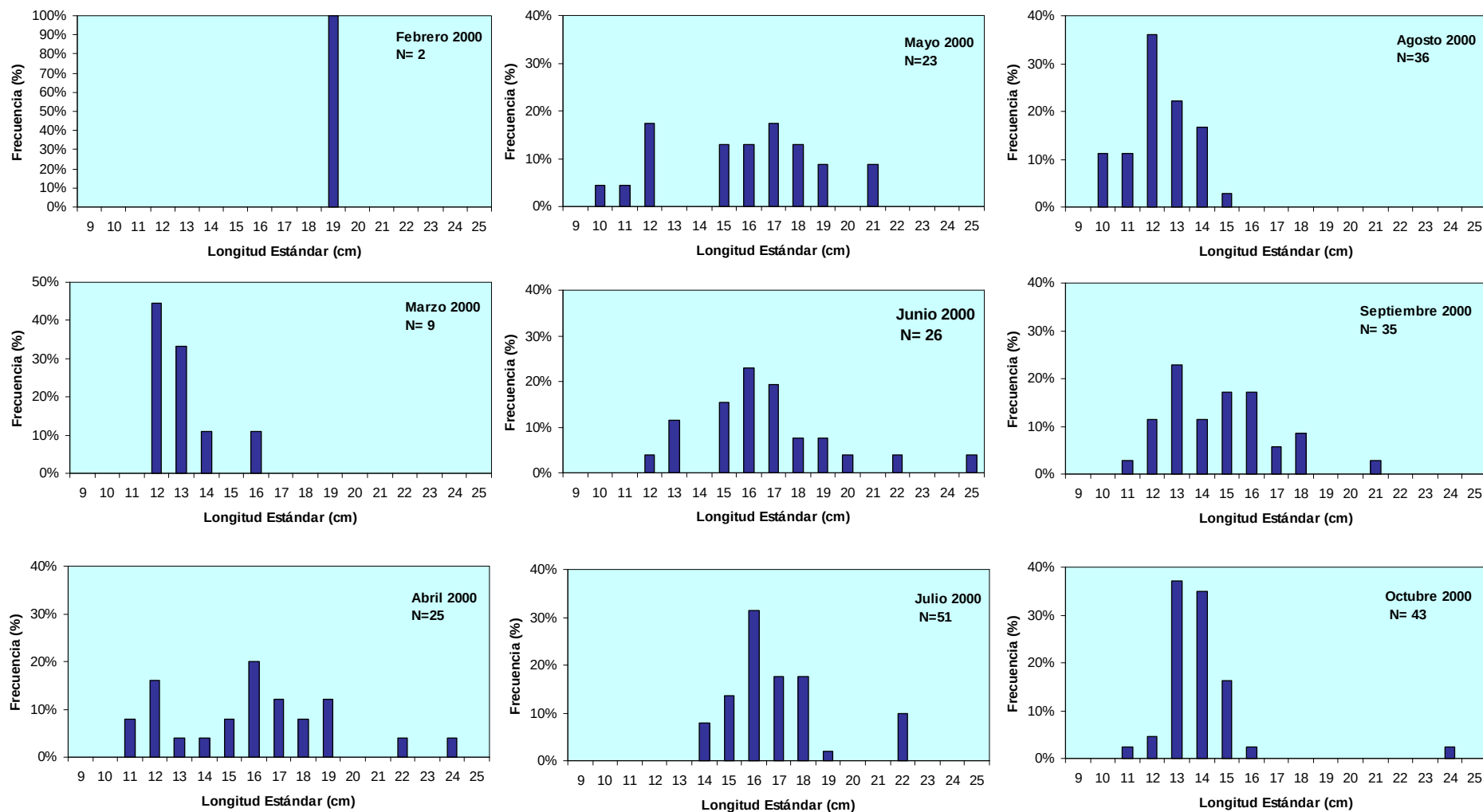


Figura 56 - Variación mensual de la distribución de frecuencias de tallas de *Diplodus sargus cadenati* en La Palma (enero 2000 - marzo 2001).

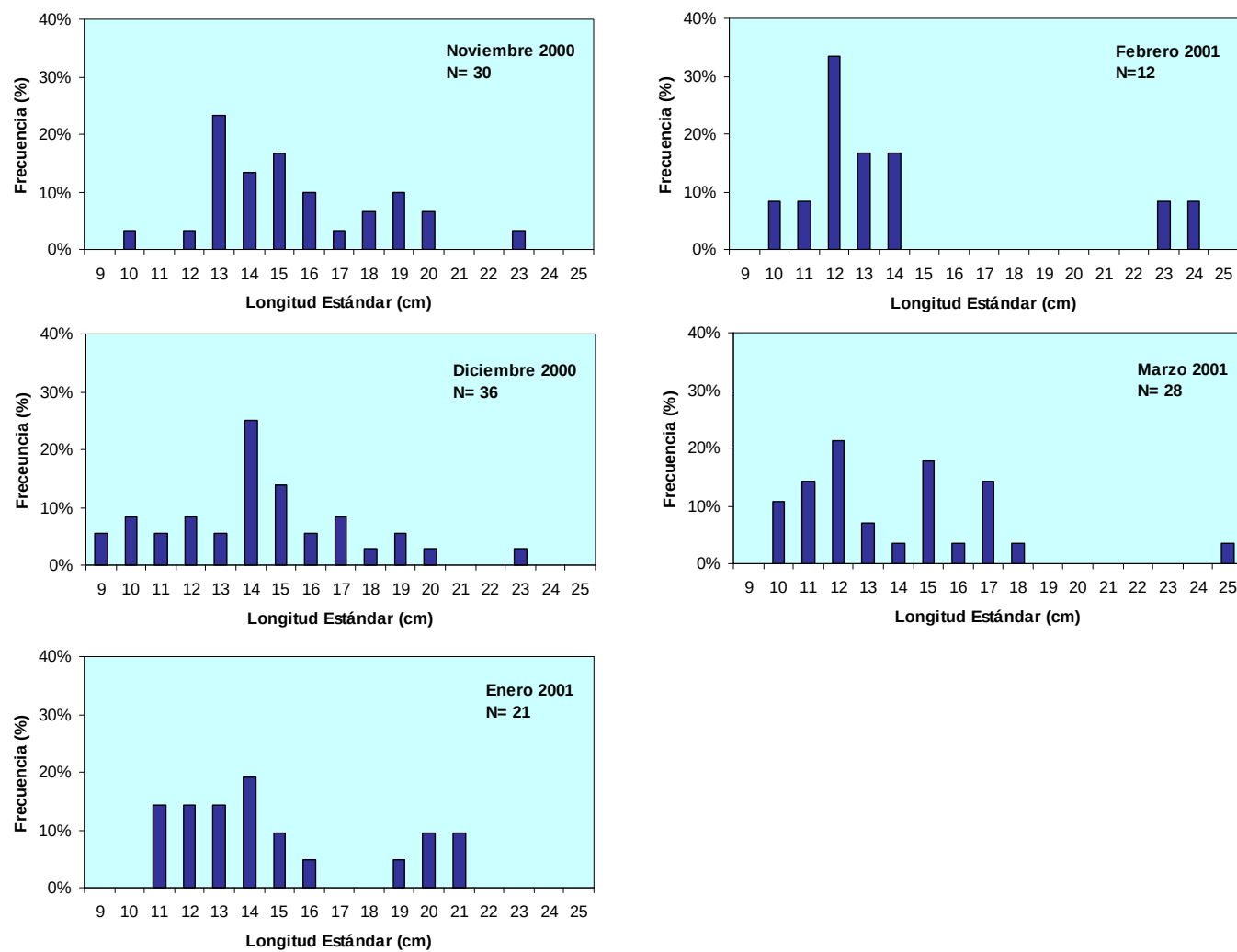


Figura 56 (continuación) - Variación mensual de la distribución de frecuencias de tallas de *Diplodus sargus cadenati* en La Palma (enero 2000 -marzo 2001).

7.4. Discusión

Son innumerables las referencias bibliográficas existentes sobre el crecimiento de especies de la familia Sparidae. De hecho, muchas de ellas están realizadas sobre el género *Diplodus* (e.g. Man-Wai & Quignard, 1982; Lang & Buxton, 1993; Martínez y Villegas, 1996; Vigliola, 1997; Gordoia & Moli, 1997; Gonçalves *et al.*, 2003; entre otros). En estas especies, los otolitos presentan un patrón característico a la mayoría de los peces teleósteos que habitan en aguas templadas. Cada año se observa la formación de un anillo opaco y otro hialino, que corresponden a los períodos de crecimiento rápido y lento, respectivamente. La formación estacional de estos anillos parece estar asociada con cambios fisiológicos producidos por factores ambientales externos (Morales-Nin, 1989). Numerosos autores han comprobado que la variación de las condiciones del medio (temperatura, disponibilidad de alimento, fotoperiodo, etc.), así como los cambios ontogénicos durante las primeras fases de desarrollo, son responsables de modificaciones estructurales en el otolito (e.g. Morales-Nin & Ralston, 1990).

En *Diplodus sargus cadenati* la edad también se puede determinar a través de la interpretación de los anillos que se observan en los otolitos. La formación periódica y estacional de estos anillos anuales confirma la validez del método empleado. En ambas islas se observó la formación de los anillos opaco e hialino durante los meses de primavera-verano y otoño-invierno, respectivamente. Unos resultados similares a los ya observados para esta subespecie (Pajuelo & Lorenzo, 2004; 2002) y otros espáridos presentes en el Archipiélago (Pajuelo & Lorenzo, 1995b, 1996, 1998, 1999, 2000; 2001; Pajuelo *et al.*, 2003a; 2003b; Pajuelo 1997; Dominguez-Seoane *et al.*, 2006), y que parecen estar relacionados con las diferencias estacionales en la temperatura superficial del agua, fotoperiodo, alimentación y reproducción (Manickchand-Heileman & Phillip, 2000). De hecho, Newman *et al.* (2000) refiere que variaciones de temperatura del orden de los 6° C son suficientes como para provocar la formación de anillos con diferencias significativas en las concentraciones relativas de otolina y aragonito.

En las Islas Canarias, la temperatura del agua ronda los 18° C en invierno y los 24° C en verano, una diferencia que puede provocar modificaciones metabólicas importantes, y consecuentemente dar lugar a la deposición de la zona opaca (Dominguez-Seoane *et al.*, 2006). Sin embargo, cabe señalar que todos los estudios realizados con espáridos en esta área geográfica se han basado exclusivamente en muestras procedentes de aguas de la isla de Gran Canaria, y hacen extensibles los resultados obtenidos a las demás islas y, por lo tanto, no contemplando posibles diferencias de crecimiento asociadas a variaciones de carácter insular.

En lo que se refiere a la estructura de edades, se observó que los ejemplares procedentes de Gran Canaria pertenecían a grupos de edad comprendidos entre 0 y VIII años, mientras que en aguas de La Palma el rango de edades osciló entre 0 y VI años. Aunque en ambas islas los grupos de edad más frecuentes fueron los de II y III años, y los menos frecuentes en las capturas correspondieron a la clase de edad 0. Una tendencia similar también se observó hacia los grupos de mayor edad, en especial los de la clase VI. Destacar que sólo se obtuvieron dos individuos de la clase de edad VIII en la isla de Gran Canaria. Aunque Pajuelo & Lorenzo (2002, 2004) han constatado la existencia de ejemplares de *Diplodus sargus cadenati* con edad máxima de 12 años, en este estudio esta clase de edad no se observó. Esta notable diferencia puede estar relacionada con la estrategia utilizada para la obtención de las muestras que, al ser de carácter no dirigido, no abarcó todos los rangos de talla posibles. No obstante, la gran longevidad parece ser una característica común a las especies del género *Diplodus*, ya que en *D. sargus sargus* se observaron individuos con edades comprendidas entre los 10 y los 12 años (Gordoa & Moli, 1997; Martinez y Villegas, 1996) y en *D. sargus capensis* se encontraron ejemplares de hasta 21 años (Mann & Buxton, 1998).

Por otro lado, los valores de las tallas medias obtenidos para el sargo en ambas islas fueron similares, presentando los ejemplares procedentes de Gran Canaria valores ligeramente superiores en las clases de edad más jóvenes. Estos resultados parecen indicar que el *Diplodus sargus cadenati* exhibe un patrón de crecimiento similar en ambas islas, observándose un rápido crecimiento durante el primer año de vida, y que posteriormente se ralentiza y tiende a mantenerse

constante a medida que envejecen. De hecho, los individuos alcanzan casi la mitad de su longitud máxima en su segundo año, edad a la que se verifica la madurez sexual (véase capítulo de reproducción). Esto sugiere que durante los primeros años de vida la especie invierte la mayor parte de su energía en el crecimiento somático, y posteriormente en el desarrollo de las gónadas cuando llega el período de maduración sexual (Guerra-Sierra y Sánchez-Lizaso, 1998), comportamiento característico en otros espáridos pertenecientes a la misma región geográfica (e.g. Méndez-Villamil *et al*, 2002.; Pajuelo & Lorenzo, 1995b, 1996, 1998, 1999, 2000).

El modelo de von Bertalanffy no constituye una buena representación del crecimiento en las primeras fases de desarrollo de *Diplodus sargus cadenati* en aguas del Archipiélago, ya que el parámetro t_0 presentó valores negativos en las unidades poblacionales procedentes de las dos islas estudiadas. Pajuelo & Lorenzo (2002, 2004) también encontraron valores de t_0 negativos para esta especie, lo que parece común a otras subespecies de *D. sargus*. Estos valores son frecuentes entre especies con un rápido crecimiento durante el primer año y que reducen las tasas de crecimiento en los años siguientes (Craig. *et al*, 1997). Por ello, Gordo & Moli (1997) y Planes *et al*. (1999) sugieren un modelo de crecimiento lineal para las primeras fases de vida, más acorde con su realidad biológica.

Los valores de los parámetros de la ecuación de crecimiento de von Bertalanffy obtenidos fueron comparados con los trabajos de Pajuelo *et al*. (2001) y Pajuelo & Lorenzo (2002, 2004), dado que son las únicas referencias bibliográficas que existen para esta subespecie en el Archipiélago. Para el análisis del crecimiento de *Diplodus sargus cadenati* se utilizaron dos métodos, cuyos resultados presentaron algunas diferencias. Cabe señalar que los valores obtenidos para la longitud máxima teórica fueron algo superiores a la observada para el conjunto de ejemplares en ambas islas (29,1 cm de LS en Gran Canaria; 25,8 cm de LS en La Palma). Sin embargo, en ambos casos estos fueron muy inferiores a los observados por Pajuelo & Lorenzo (2002, 2004) en ejemplares de la misma especie para la isla de Gran Canaria (L_{∞} =46,7 cm; L_{∞} =47,3 cm). También su estimación es similar a la obtenida para *D. sargus sargus* en aguas asturianas (L_{∞} =48,48 cm) (Martínez y Villegas, 1996), lo cual es susceptible de discusión ya que se tratan de dos subespecies bien diferenciadas que habitan en condiciones ambientales muy

diferentes. Es también importante hacer referencia a que la talla máxima descrita por la FAO para esta especie es de 46,5 cm de longitud estándar, tratándose por lo tanto de un valor superior a los de longitud asintótica estimados hasta el momento.

Las diferencias en las estimaciones obtenidas pueden estar relacionadas con diferencias metodológicas, dado que en el presente estudio pocos fueron los ejemplares longevos utilizados, a lo que hay que añadir la presencia de individuos de menor talla que los utilizados en el trabajo Pajuelo *et al.* (2001). No obstante, los valores obtenidos con los métodos de Análisis de Progresión Modal de Bhattacharya y NORMSEP parecen ser más razonables, y relativamente más próximos a los obtenidos en este trabajo. Con ambos métodos se observaron valores más altos de longitud máxima, presentando siempre la isla de Gran Canaria los valores más elevados. Además, los valores del coeficiente de crecimiento calculados para ambas islas se mostraron similares, indicando una tendencia relativamente lenta hacia la longitud máxima ($K=0,08 \text{ año}^{-1}$ para Gran Canaria y $K=0,1 \text{ año}^{-1}$ para La Palma). Las sutiles diferencias encontradas entre islas fueron ligeramente inferiores a los valores observados para la misma especie ($K= 0,143 \text{ año}^{-1}$) por Pajuelo *et al.* (2001), y para *Diplodus sargus sargus* ($K= 0,18 \text{ año}^{-1}$) en aguas del Cantábrico (Martínez y Villegas, 1996), pero aún así se incluyen dentro del rango de datos observados. Estos resultados parecen indicar que la subespecie *D. sargus cadenati* se caracteriza por una baja tasa de crecimiento.

Por otro lado, el parámetro de mortalidad total (M) presentó ligeras diferencias entre islas, observándose los valores de 0,31 y 0,26 años^{-1} para las islas de La Palma y Gran Canaria, respectivamente. Los resultados obtenidos con el método Análisis de Progresión Modal de Bhattacharya y NORMSEP también señalaron diferencias entre islas, aunque los valores se mostraron poco reales desde el punto de vista pesquero. En ambos casos, se observaron valores superiores para la isla de La Palma (teóricamente los recursos pesqueros en Gran Canaria están sometidos a una mayor presión pesquera, pero posiblemente la más baja capacidad de carga de la isla de La Palma maximice aún más el impacto del menor poder de pesca de la flota artesanal de esta última isla). Una revisión realizada en diez especies de espáridos presentes en el Mediterráneo y Atlántico Noroccidental

mostró que el valor estimado para la mortalidad natural estaba acotado entre 0,19 y 0,66, presentando una media de 0,36 (Gonçalves *et al.*, 2003 in Erzini *et al.*, 2001). Los valores de la tasa instantánea de mortalidad natural descritos para *Diplodus sargus cadenati* en las Islas Canarias están comprendidos entre los 0,25 y 0,37 años⁻¹ (Pajuelo *et al.*, 2001). En el presente estudio, se observaron unos resultados similares a los ya obtenidos para diferentes especies de espáridos presentes en este Archipiélago (e.g. Pajuelo & Lorenzo, 1995b, 1996, 1998, 1999, 2000).

En general, los parámetros de longitud asintótica, coeficiente de crecimiento y mortalidad total, obtenidos para ambas islas, mostraron coherencia entre sí. En este sentido, Morales Nin (1987) refiere la utilidad de los métodos de análisis de frecuencias de talla en el estudio de especies de crecimiento rápido y con una época de nacimiento abarcando un período corto. Los resultados obtenidos se han mostrado razonables, indicando valores de L_{∞} superiores a los hallados para la longitud total en los ejemplares muestreados, y bajos para el coeficiente de crecimiento (i.e. frecuencia de edades). Estos parámetros parecen indicar que el *Diplodus sargus cadenati* presenta un ciclo de vida largo, tal y como observaron Pajuelo & Lorenzo (2002, 2004) y al igual que otras especies del género *Diplodus* (Dominguez-Seoane *et al.*, 2006). En este sentido, los métodos de análisis de tallas parecen validar los resultados obtenidos a través de la lectura de los otolitos, ya que las diferencias encontradas pueden ser debidas a la poca precisión de estos métodos. Es sabido que para su cumplimiento, se deben aceptar una serie de hipótesis que muchas veces se alejan de la realidad. Incluso, diferentes métodos pueden dar lugar a resultados que requieran de una homogeneización posterior de los datos. De hecho, en este estudio los resultados obtenidos con ambos métodos han mostrado algunas diferencias. Sin embargo, también es cierto que el modelo de Von Bertalanffy ha sido criticado por sus limitaciones, al no describir de manera adecuada las primeras fases de crecimiento de los espáridos (Gorda & Moli, 1997; Vigliola *et al.*, 1998). Además, considera parámetros con poco significado biológico (Schnute, 1981) y no contempla otros que reflejen las variaciones estacionales en la tasa de crecimiento (Moreau, 1987). A pesar de ello, este modelo ofrece resultados razonables y próximos a los observados en la bibliografía publicada hasta el momento para esta subespecie.

Los diferentes resultados observados entre las islas de Gran Canaria y La Palma, aunque son de explicación difícil dada la cantidad de factores que pueden influir sobre el crecimiento, pueden estar muy condicionados por factores ambientales. Es sabido que la temperatura es uno de los factores que más afecta al crecimiento, y de hecho se ha observado que el crecimiento de muchos organismos marinos experimenta una gran variabilidad estacional, sobretudo en las zonas templadas, donde este suele ser más lento en invierno que en verano (Pannela, 1971). Las diferencias térmicas que los organismos sufren quedan reflejadas permanentemente en los otolitos y son susceptibles de ser identificados, de ahí que se utilicen a menudo estas estructuras en los estudios de crecimiento. En *Diplodus sargus cadenati* estas variaciones también fueron notorias. Las diferencias en la temperatura superficial del agua de las islas occidentales y orientales son una realidad en este Archipiélago y pueden dar lugar a variaciones biológicas importantes en las especies aquí presentes. Aunque entre ambas islas se observen oscilaciones térmicas de carácter estacional, es cierto que el rango de temperatura entre éstas presenta algunas diferencias, verificándose casi siempre la existencia de aguas algo más frías (de 2° a 4 °C menos) en el entorno de la isla de Gran Canaria. Se ha comprobado que a temperaturas elevadas los procesos metabólicos se incrementan, por lo que los organismos aumentan su ritmo de crecimiento y tienden a anticipar la talla de primera madurez. Tampoco es de extrañar que una misma especie presente tallas mayores en sus límites geográficos más fríos, como refiere Ricker (1979). Todo lo anterior se puede también aplicar al presente estudio, y así justificar los valores obtenidos para los parámetros de longitud asintótica y coeficiente de crecimiento. Es decir, estos no serían más que el reflejo de distintas respuestas hacia las diferencias ambientales (i.e. temperatura) halladas a nivel local.

Aunque las diferencias térmicas entre islas puedan parecer irrisorias, en un análisis objetivo del conjunto no lo son, sobretudo si se tiene en cuenta la poca distancia entre las mismas. Íntimamente relacionado con estos parámetros está también el de mortalidad natural. Se ha constatado que un aumento en la temperatura puede disminuir la longevidad de los organismos, lo que explicaría el mayor valor de mortalidad obtenido para la isla de La Palma. Así, al ser la temperatura más elevada para esta isla, los organismos pueden aumentar su ritmo

de crecimiento, alcanzar una talla final más pequeña, reproducirse antes y ser menos longevos. Un fenómeno contrario sucedería para la isla de Gran Canaria.

De forma similar a una “huella dactilar”, los otolitos pueden ser utilizados para separar poblaciones de peces, u otras subunidades poblacionales, que experimentan condiciones ambientales muy diferentes. Se ha observado que otolitos de peces de la misma especie que habitan diferentes áreas exhiben variaciones en la estructura de los anillos, con patrones de crecimiento propios de stocks separados. En el presente estudio, los parámetros de crecimiento obtenidos sugieren la existencia de stocks de *Diplodus sargus cadenati* de circunscripción insular. Son diversos los trabajos que han utilizado los otolitos como indicadores de stocks (e.g. Edmonds *et al.*, 1989, Thresher *et al.*, 1994; Campana *et al.*, 2000). De hecho, muchos de ellos se han realizado en especies de interés comercial, como es el caso del bacalao (e.g. Campana & Casselman, 1993; Campana & Gagné, 1995; Cardinale *et al.*, 2004; Berg *et al.*, 2005, Petursdottir *et al.*, 2006), la caballa (e.g. DeVries *et al.*, 2002), el salmón (e.g. Friedland & Reddin, 1994) el arenque (e.g. Husebo *et al.*, 2005) y el fletán (e.g. Begg & Brown, 2000). Otra de las aplicaciones de los otolitos ha sido la de la reconstrucción de patrones de movimientos de peces y de los cambios de hábitat que éstos sufren a lo largo de la vida, al ser estos elementos de gran utilidad a la hora de identificar la estructura de los stocks y la relación existente entre poblaciones (e.g. Begg *et al.*, 2001; Dorval *et al.*, 2005; Fowler *et al.*, 2005; Strasnsky *et al.*, 2005). Sin embargo, y al igual que otros parámetros, el uso de los otolitos para inferir la identidad de stocks no permite distinguir entre diferencias ambientales y genéticas. Mientras estas diferencias existan, los otolitos variarán entre poblaciones que se mantengan segregadas durante parte de su vida (Campana & Gagné, 1995).

Actualmente el campo de investigación sobre la forma, microestructura y composición elemental de los otolitos está en pleno desarrollo, con una gran aplicación en los estudios sobre los procesos biológicos que afectan a las pesquerías. La realización de estudios más detallados permitirán dar a conocer otros aspectos sobre el crecimiento del *Diplodus sargus cadenati*, y que a la vez pueden ser de gran utilidad para la gestión pesquera de esta subespecie en el Archipiélago.

8

Genética

8.1. Introducción

Desde que se empezó a utilizar, la técnica de la electroforesis ha probado ser una herramienta de gran utilidad en una variedad de situaciones biológicas y médicas (Richardson *et al.*, 1986). De hecho, esta supuso una auténtica revolución en los estudios de biología evolutiva, debido a que el estudio de las variaciones isoenzimáticas ha demostrado ser una herramienta muy útil en la detección y análisis de la diversidad genética intra y interespecifica. Su utilización en el campo de la genética de poblaciones ha servido para analizar la estructura poblacional de muchas especies de animales y plantas. Algunos de los estudios fueron realizados con el objetivo de testar ciertas hipótesis taxonómicas, ecológicas o genéticas, mientras que otros se interesaron, esencialmente, en estimar el grado de diferenciación entre subpoblaciones, atribuyendo poca importancia al significado evolutivo de esas diferencias (Ward *et al.*, 1994).

Los principios de la electroforesis fueron aplicados por vez primera en 1960, a estudios de genética poblacional de *Drosophila melanogaster* (Lewontin & Hubby, 1966), y humanos (Harris, 1966). Una década más tarde, esta se amplió a estudios en peces (Avise, 1974; Utter *et al.*, 1974), encontrando su máximo auge en la década de 1980 (Ryman & Stahl, 1981; Allendorf *et al.*, 1987; Utter *et al.*, 1987; Utter, 1991). Actualmente, la electroforesis, en conjunto con otras técnicas moleculares, es la base para el entendimiento de la estructura genética en peces.

La electroforesis es una técnica de separación que se basa en la migración diferencial de partículas, a través de un soporte semisólido, cuando se les somete a la acción de un campo eléctrico. La velocidad de migración de las partículas es proporcional a la magnitud de su carga neta (a un pH dado) y depende del tamaño y de la forma de la molécula (Aebersold *et al.*, 1987). Las proteínas son moléculas cargadas susceptibles de ser separadas por electroforesis. Es muy versátil y constituye una de las técnicas más usadas en la separación de polímeros moleculares, junto con la cromatografía líquida de alta presión y la ultracentrifugación (Gordon *et al.*, 1988).

La electroforesis es diversa, sin que exista una única manera de realizar la técnica (e.g. Aebersold *et al.*, 1987). Las diferencias metodológicas existentes son debidas, esencialmente, a las innumerables variables que intervienen en los procesos de preparación, separación y resolución electroforética. A lo que hay también que añadir las preferencias personales de cada autor o laboratorio (Leary & Booke, 1990).

El uso generalizado de la técnica de la electroforesis está relacionado con las ventajas a ella asociadas (e.g. González, 2001):

- Permite detectar la variabilidad genética en loci proteicos individuales infiriéndola a partir del análisis de los productos proteicos codificados por los mismos. Cualquier variación que se produzca en la secuencia de bases del ADN y que comporten cambios de aminoácidos (i.e sustitución, delección o adición), se reflejarán en variaciones en la estructura primaria del polipéptido codificado por el gen. Esta técnica se basa en el principio de la colinealidad, “un gen – una proteína”. Se puede decir que las variantes proteicas son una medida indirecta de las variantes genéticas o alelos existentes en un locus dado (Zapata, 1987).
- Evita los “enmascaramientos” de genes por dominancia o recesividad, ya que las isoenzimas son codificadas por genes codominantes.

- Proporciona un análisis genético inmediato, sin necesidad de realizar cruzamientos y esperar a analizar las descendencias.
- Permite la comparación de enzimas entre lugares diferentes, dado que estas no están influenciadas por el ambiente externo. Es de gran utilidad en los estudios de relaciones evolutivas entre diferentes poblaciones y especies.
- Permite identificar genes isoenzimáticos exclusivos de cada especie o población (*genes diagnóstico*) en un corto espacio de tiempo (periodo de duración de la electroforesis).
- Requiere de una pequeña muestra de material biológico, siendo posible la comparación simultánea de varios individuos.
- Permite datar los tiempos de divergencia entre especies y/o poblaciones, ya que la tasa de evolución de los caracteres moleculares (isoenzimas) es más constante que la de los caracteres morfológicos.
- Permite calcular la variabilidad genética intraespecífica.
- Permite cuantificar la divergencia genética entre poblaciones y especies a través de estadísticos específicos (e.g. Distancia Genética de Nei, 1972).
- Contribuye para el desarrollo estadístico y de software de análisis de datos genéticos, necesarios para el estudio de la diversidad genética dentro de las especies y poblaciones.
- Facilidad de utilización y bajo coste económico.

Sin embargo, la técnica de la electroforesis tampoco esta exenta de limitaciones y no es totalmente precisa. Se destacan las siguientes desventajas:

- Sólo permite detectar parte de las sustituciones nucleotídicas porque muchas de ellas no alteran la secuencia de aminoácidos en las proteínas o de alterarla no cambian la carga eléctrica neta de las proteínas que codifican. Se puede decir que subestima la variabilidad proteica, cuantificando aproximadamente entre el 20–30% de dicha variabilidad (Fontdevila, 1987). Además, apenas el 10% del genoma codifica las proteínas, lo que significa que las variaciones detectadas en un loci pueden no ser representativas de la totalidad del genoma y que algunas especies pueden carecer de polimorfismo aloenzimático (Planes, 2000).
- Difícil de interpretar cuando el patrón de bandas obtenido es el resultado de la acción de varios genes, o de enzimas secundarias, siendo necesario la realización de cruces y análisis de la descendencia para entender la estructura genética del organismo.
- No indica el número de sustituciones nucleotídicas existentes entre dos alelos o genes.
- Sólo permite detectar genes estructurales que codifican para enzimas solubles, aproximadamente el 30% de las proteínas (Weir, 1996).
- Aplicabilidad exclusiva al estudio de la divergencia entre taxones muy próximos.
- Limitada a la hora de distinguir o confirmar especies.

A pesar de las limitaciones, la electroforesis sigue siendo una técnica “poderosa” para exhibir la variación genética (Smith *et al.*, 1990).

El análisis genético es útil para describir el patrón evolutivo de la estructura poblacional de los peces, y puede ser utilizado en la redefinición de los conceptos de stock basados en datos morfológicos (Utter, 1991; Kinsey *et al.*, 1994). La utilización conjunta de la electroforesis con otras técnicas moleculares ha

conducido a una nueva era del entendimiento de la estructura genética de una variedad de especies marinas. Todas estas técnicas han abierto nuevas fronteras en la investigación relacionada con las cuestiones sobre stocks, en particular la identificación y la separación espacial de los mismos. En este contexto, las definiciones aplicadas a las pesquerías de poblaciones de peces que mantienen su integridad genética a lo largo del tiempo están generalmente mejor determinados por marcadores genéticos y fenotípicos, al tener estos la particularidad de ser repetitivos y estables (Salini *et al.*, 2004).

En los últimos años, la mayoría de estos estudios han sido dirigidos a especies de interés comercial, como es el caso de los salmónidos (e.g. Shakelee *et al.*, 1999; Beacham *et al.*, 2004; Winans *et al.*, 2004, Schreiber & Diefenbach, 2005), anchoas (e.g. Tudela *et al.*, 1999; Jawad & Smith, 2002; Magoulas *et al.*, 2003) y gádidos (e.g. Brutto *et al.*, 1998; Mattiangeli *et al.*, 2000, 2003; Levi *et al.*, 2004). En el caso de la familia *Sparidae* es escasa la información sobre la valoración de la productividad potencial y estructura genética. Los estudios de variación de aloenzimas se han volcado esencialmente en la búsqueda de marcadores isoenzimáticos específicos de cada especie (e.g. Alarcón & Álvarez, 1999; Reina *et al.*, 1994; Basaglia, 1991), y muy pocos se han dedicado al análisis de la variación genética intraespecífica e identificación de stocks (e.g. Planes & Lenfant, 2002; Arculeo *et al.*, 2003).

El presente capítulo tiene como objeto analizar la diversidad genética de *Diplodus sargus cadenati* en el Archipiélago Canario.

8.2. Material y Métodos

8.2.1. Muestreo

Diversos autores (Lewontin, 1972; Brown, 1978; Weir, 1996; Baverstock & Moritz, 1996) consideran que una estima razonable de la variabilidad genética en poblaciones naturales, usando la electroforesis isoenzimática, depende de las siguientes condiciones:

Un tamaño muestral adecuado, de preferencia entre 50 y 100 individuos por localidad de muestreo. De igual relevancia es la aleatoriedad del muestreo, que se puede conseguir al considerar diferentes zonas geográficas con características ecológicas distintas. Chakraborty (1992) estima que es necesaria una muestra constituida por 50 individuos para poder detectar alelos de frecuencia inferior a 0,05 ($p > 0,05$) en un loci hipervariable con una probabilidad del 95%. Normalmente, grandes tamaños muestrales son necesarios cuando los datos electroforéticos son usados para evaluar la diferenciación genética entre poblaciones de la misma especie. Es decir, en especies que presentan poca divergencia, o pequeñas variaciones genéticas, dentro de una población a lo largo del tiempo (Chakraborty & Leimar, 1987).

Por otro lado, debe analizarse un gran número de loci. Este aspecto es considerado de gran importancia, ya que se ha demostrado que la estimación de la distancia genética se ve más afectada por el número de loci analizados que por el número de individuos muestreados (Gorman & Renzi, 1979; Nei, 1978). En general, inferencias sobre diferenciación genética deben basarse en el análisis de 15 a 20 loci, como mínimo (Cheney, 1985). Para realizar un estudio adecuado ha de considerarse un conjunto de loci diversificados elegidos al azar.

Por todo ello, en este estudio se seleccionaron un total de 165 individuos del total obtenido durante el año 2000. El área de estudio considerada fueron las islas de Gran Canaria, La Palma, Lanzarote y Tenerife. La Tabla 26 resume el tamaño de la muestra para cada una de las islas, y los puertos donde estas fueron recogidas.

Tabla 26 - Resumen del tamaño y localización de las muestras.

Tamaño muestra		Puerto
Gran Canaria	50	Mógan, Arinaga
La Palma	50	Tazacorte, Sta. Cruz de La Palma
Tenerife	15	Los Cristianos
Lanzarote	50	Arrecife, Orzola

La selección de las distintas islas se realizó atendiendo a dos criterios: 1) facilidad en la obtención de muestras cuyo origen fuera conocido. Esto ha supuesto una cierta dificultad en algunos casos, dado que existen varias embarcaciones que pescan en distintas islas pertenecientes al Archipiélago. En caso de duda se descartaron dichas muestras. 2) la distancia geográfica entre cada una de las islas. Se consideraron muestras de cuatro islas, de forma que gran parte del Archipiélago estuviera representado. La mayor distancia se observa entre las islas de Lanzarote y La Palma, separadas entre si aproximadamente por 500 Km.

8.2.2. Tratamiento de las muestras

El muestreo de los individuos consistió en la recolección del material biológico necesario para la realización del estudio. Se seleccionaron individuos adultos al azar. Se procuró que todo el proceso fuera realizado con los ejemplares en fresco, ya que los mecanismos de degradación enzimática son casi inmediatos a la muerte del animal (Aebersold *et al.*, 1987). Sin embargo debido a la lejanía entre los diferentes puntos de muestreo, en algunos casos, los individuos fueron congelados a -20 °C inmediatamente después de su captura, manteniéndose así hasta su tratamiento en laboratorio. De cada individuo se recogieron tejidos del hígado, músculo esquelético, ojos y corazón, aunque cualquier órgano es susceptible de análisis (Pla & Pujolar, 1999). Posteriormente, se envolvían los tejidos en papel de aluminio, y los correspondientes al mismo ejemplar fueron introducidos en una bolsa etiquetada y nuevamente congelados (se procuró que aquellos individuos que estuvieron previamente congelados no sufrieran una descongelación total durante el muestreo). Es sabido que la congelación reduce el proceso de degradación, y que los tejidos conservan la actividad enzimática prácticamente intacta por periodos de tiempo prolongados (Aebersold *et al.*, 1987).

8.2.2.1. Almacenamiento de las muestras

Los tejidos extraídos fueron almacenados en un congelador a -20° C. Temperatura considerada adecuada para periodos de almacenamiento de aproximadamente 2 meses. Sin embargo, no se observó pérdida en la actividad

enzimática en aquellos casos en que fue necesario conservar las muestras por un período de tiempo superior.

8.2.2.2. Extracción de proteínas

En el proceso de extracción se prepararon los extractos enzimáticos de cada uno de los tejidos pertenecientes al mismo ejemplar. Todo el proceso se realizó sobre una bandeja en frío, y utilizando diferentes morteros para cada uno de los tejidos, minimizándose así el riesgo de contaminación entre muestras.

Se tomó aproximadamente 0,5 g de cada tejido congelado (-20° C) para la extracción de proteínas. Con ayuda de un mortero y un brazo de porcelana se procedió a la trituration de los tejidos. También se suele utilizar nitrógeno líquido para facilitar la ruptura del tejido y conservar la actividad de las enzimas, aunque en este caso no se hizo uso de dicho procedimiento. A continuación se añadió tampón de extracción PTP (0,05M PIPES, 0,05% Triton X-100, 0,2mM pyridoxal-5-fosfato; Aebersold *et al.*, 1987), el cual fue repartido por toda la muestra con el brazo de porcelana. El volumen de tampón necesario depende del número de geles que se pretenden realizar y del tipo de tejido. Se utilizó aproximadamente 0,3 ml para los tejidos de hígado y ojo. Sin embargo, para el tejido muscular se añadió un volumen superior, ya que este tiende a absorber el tampón. Una vez líquido, el extracto crudo fue embebido en papel Whatman N° 3 (1 × 0,5 cm).

8.2.2.3. Tampones de extracción

La naturaleza del tampón de extracción depende del tipo de tejido y de la especie que se pretendan analizar. En este trabajo se ensayaron los siguientes tampones de extracción:

- 1) Agua destilada (Leary & Booke, 1990; Sosa-Henríquez, 1991).
- 2) 2,72 imidazol, 0,61 g cloruro magnésico, 0,50 EDTA ajustado a pH 7,5 con ácido 7 N-hidroclicóric (Leary & Book, 1990).

8.2.2.4. Almacenamiento de los extractos

Las tiras de papel Whatman conteniendo el extracto de cada uno de los tejidos fueron colocadas individualmente en tubos Eppendorf, y almacenadas en bolsas individuales en ultracongelación (-80°C) hasta su aplicación en la electroforesis.

8.2.3. Sistemas de Tampones de Electroforesis

La preparación de los geles de almidón consiste en la hidrólisis de almidón de papa (patata) disuelto en una solución “buffer”. En realidad se utilizan dos soluciones “buffer”, una para la elaboración del gel y la otra que sirve para realizar la conexión entre los electrodos y el gel durante la migración electroforética. También existen sistemas en los que el gel es una dilución de la solución “buffer”. Sin embargo, no existe un sistema de tampones universal para todas las especies. En cada organismo y tejido se pueden probar distintos tampones, con objeto de obtener el sistema donde mejor movilidad, resolución y actividad se observe para cada enzima dada. La variedad de sistemas de separación electroforética descrita es grande, tanto a nivel de composición, de concentración, como de pHs. Definir el tipo de sistema tampón a utilizar es importante porque el pH y la composición pueden afectar a la carga neta y la actividad de la enzima, de tal forma que en determinados sistemas una enzima puede no tener actividad o encontrarse desnaturalizada, observándose una baja resolución (Leary & Book, 1990). Normalmente, si un tampón funciona bien para una especie suele mantener dicha característica en especies próximas o emparentadas. Nevo (1978) y Nevo *et al.*, (1984) han realizado un compendio de la bibliografía existente sobre sistemas de tampones de electroforesis. Por ello, en este trabajo se ensayaron diferentes tipos de tampones, de los cuales la composición del gel y del electrodo se describen a continuación (Tabla 27):

Tabla 27 - Tampones de electroforesis utilizados.

Tampón	Gel	Electrodo
Continuo AC (modificado por Clayton & Tretiak, 1972)	Ácido cítrico 0,04 M, ajustando a pH 6,5-7,1 con N-(3-aminopropil)-morfolina	Dilución del tampón electrodo al 1:20
TC/BL (Ridgway et al., 1970)	Bórico 0,3M, hidróxido de litio 0,06M	Tris ¹ 0,03M, ácido cítrico 0,005M, ácido bórico 0,003M, hidróxido de litio 0,0006M
TBE+NAD ⁺ (modificado por Market & Faulhaber, 1965)	Tris 0,18M, ácido bórico 0,1M, EDTA 0,004M.	Dilución del tampón electrodo al 1:4. Añadir NAD ⁺ antes de desgasificación.
Poulik (Poulik, 1957)	Bórico 0,3M, hidróxido de sodio 0,05M	Tris 0,076M, ácido cítrico 0,005M
CTC ² (Whitt, 1970)	Tris 0,25M, ácido cítrico 0,075M	Dilución del electrodo al 1:25
Histidina Citrato (Harris & Hopkinson, 1976;)	Ácido cítrico anhidro 0,05M, Tris 0,15M ajustando a pH 7,0 con Tris 0,1M	L-histidina 0,07M ajustado a pH 5,7 con ácido cítrico

¹ Hidroximetil aminometano² Tris Citrato

8.2.4. Sistemas enzimáticos ensayados.

La identificación de las enzimas se realizó a partir de tinciones específicas. Las tinciones ensayadas encuentran resumidas en la Tabla 28.

Tabla 28 - Sistemas enzimáticos ensayados. Entre paréntesis se indica la clasificación de la *International Union of Biochemistry*, I.U.B. 1979

Enzima	Abreviación	Clasificación I.U.B
Aconitasa hidratada	AH	(E.C. 4.2.1.2)
Adenilato Quinasa	AK	(E.C. 2.7.4.3)
Alcohol deshidrogenasa	ADH	(E.C. 1.1.1.1)
Aspartato aminotransferasa	AAT	(E.C. 2.6.1.1)
Catalasa	CAT	(E.C. 1.11.1.6)
Diaforasa	DIA	(E.C. 1.6.4.3)
Enzima málica NADP ⁺	MEP	(E.C. 1.1.1.40)
Esterasa	EST	(E.C. 3.1.1.1)
Fosfatasa ácida	ACP	(E.C. 3.1.3.2)
Fosfatasa alcalina	ALP	(E.C. 3.1.3.1)
Fosfoglucomutasa	PGM	(E.C. 5.4.2.2)
Fosfoglucónico deshidrogenasa	PGDH	(E.C. 1.1.1.44)
Fumarato hidratasa	FH	(E.C. 4.2.1.2)
Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	GAPDH	(E.C. 1.2.1.12)
Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa	G3PDH	(E.C. 1.1.18)
Fosfoglucoisomerasa	PGI	(E.C. 5.3.1.9)
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	G6PDH	(E.C. 1.1.1.49)
Glutamato deshidrogenasa	GDH	(E.C. 1.4.1.2)
Hexoquinasa	HK	(E.C. 2.7.1.1)
Hexosa-6-fosfato deshidrogenasa	H6PDH	(E.C. 1.1.1.47)
Isocitrato deshidrogenasa	IDHP	(E.C. 1.1.1.42)
L-Lactato deshidrogenasa	LDH	(E.C. 1.1.1.27)
Málico deshidrogenasa	MDH	(E.C. 1.1.1.37)
Octanol deshidrogenasa	ODH	(E.C.1.1.1.73)
Peptidasa-s (leu-tyr)	PEP	(E.C. 3.4.-.-)
Peroxidasa	PRX	(E.C. 1.11.1.7)
Piruvato quinasa	PK	(E.C. 2.7.1.40)
Sorbitol deshidrogenasa	IDDH	(E.C. 1.1.1.14)
Superoxido dismutasa	SOD	(E.C. 1.15.1.1)
Xantina deshidrogenasa	XDH	(E.C. 1.1.1.204)

8.2.5. Electroforesis.

8.2.5.1. Preparación de los geles y tampones

La metodología adoptada fue la descrita por Aebersold *et al.* (1987). Se prepararon los tampones de gel y electrodo del sistema en simultaneo. En general, se utilizaron geles de almidón al 12% para un volumen total de 250 ml. Del volumen total del tampón de gel preparado (250 ml) se separó 1/3 (86 ml), mientras que el restante se calentó en un matraz aforado de 500 ml de capacidad. Antes de que el tampón empezara a hervir, se disolvió el almidón (30 g) con el tercio restante en un quitasato, agitándolo continuamente hasta quedar bien disuelto. A continuación, se vertió el tampón hirviendo sobre el almidón previamente disuelto, agitándose siempre para evitar la formación de grumos, y a la vez calentándose hasta ebullición. Antes de empezar a hervir, el gel presentó un aspecto blanquecino y viscoso pero a medida que este se fue calentando su aspecto cambió a traslucido y líquido, presentando numerosas burbujas pequeñas suspendidas. Llegado este momento fue retirado de la placa calentadora y se procedió inmediatamente a la desgasificación con una bomba de vacío por un período de 30 a 60 segundos. Este último proceso fue acompañado por la agitación continua del gel, con objeto de eliminar las burbujas de aire y homogeneizar el mismo. Por último, se vertió el gel sobre un molde rectangular ($23,2 \times 2,5 \times 0,6$ cm.) de metacrilato, dejándose enfriar a temperatura ambiente. Después de solidificado, este fue cubierto con un cristal para evitar el desecamiento, y colocado en la nevera hasta el día siguiente. Este procedimiento fue realizado diariamente para cuatro geles.

8.2.5.2. Carga de las muestras en el gel

Antes de realizar la electroforesis, se separaron los extremos del gel de las paredes del molde con un bisturí. Este procedimiento suele impedir la contracción del gel, debida al enfriamiento, y evitar diferentes condiciones de corrido entre el borde y el centro del mismo.

A continuación se realizó un corte a 4 cm aproximadamente del extremo inferior del gel, donde se colocaron una a una las muestras consideradas. Cada gel tenía la capacidad de acomodar hasta 25 muestras como máximo. Previamente se organizó el orden de disposición de los individuos en el gel. Se optó por colocar muestras de diferentes islas en el mismo gel, ya que esto podría facilitar la futura interpretación de los alelos. Así, en el primer gel se colocaron individuos de Gran Canaria y La Palma, en el segundo de Gran Canaria, La Palma y Lanzarote, en el tercero de La Palma, Lanzarote y Tenerife, y el cuarto de Lanzarote y Tenerife. Durante todo este proceso se mantuvieron las muestras en una bandeja en frío, y se evitó la contaminación entre las mismas.

8.2.5.3. Condiciones de la electroforesis

En la separación electroforética se utilizó una fuente de alimentación (Pharmacia Biotech EPS 600) como suministro de corriente. Esta se conectó a unas cubetas plásticas que contenían a su vez el tampón de electrodo. La conexión entre el tampón y el gel se realizó a través de unas esponjas absorbentes que hicieron la función de puente salino entre éstos. Al circular la corriente eléctrica las proteínas contenidas en los extractos de las muestras, o sea el papel whatman, pasaron al gel. En este proceso se aplicó un voltaje inicial de 150V, 60mA y 17W durante 15 minutos.

Una vez transcurrido este período de tiempo se detuvo la electroforesis y se retiraron los papeles impregnados de tejido, sometiéndose de nuevo el gel a un voltaje de 250V, 60 mA y 17W durante entre 3 horas. Este tiempo fue de duración relativa, ya que depende de factores como el sistema de tampón utilizado, la concentración de almidón o el voltaje aplicado (Leary & Book, 1990). Además, la utilización de marcadores (azul bromofenol) permitió seguir la migración de las proteínas en el gel. El término de la electroforesis se determinó a través de la localización de estos marcadores en la zona anódica.

La electroforesis se realizó en el interior de una cámara frigorífica (4 °C) para evitar la desnaturalización de las proteínas como consecuencia del calor generado por el paso de la corriente eléctrica. También se utilizó una pieza de hielo seco colocada sobre el gel con el mismo objetivo. De esta forma quedó asegurada la refrigeración de todo el sistema.

8.2.5.4. Preparación del gel para la tinción

Concluida la electroforesis, se procedió a la tinción específica para revelar la posición e identidad de las proteínas. Para ello se cortaron lonchas horizontales de 3 mm de grosor con una cuerda de acero de 0.5 mm de diámetro. Se realizó una marca en el extremo superior izquierdo del gel, que fue utilizada como referencia para poder identificar el orden de los individuos. El número de lonchas cortadas dependió del número de enzimas que se pretendieron ensayar. En general, se obtuvieron de 5 a 7 lonchas, aunque se descartaron por sistema la primera y última. Normalmente, estas se excluyen porque presentan irregularidades en el desplazamiento a causa del contacto directo con el molde.

8.2.6. Tinción Específica de Enzimas

La visualización de las posiciones de las proteínas en el gel se obtiene mediante diversos procedimientos de tinción. Esta consiste en la precipitación, en forma de bandas, de un sustrato que reacciona específicamente con una enzima o con el producto químico generado por la reacción enzimática. Dado que las enzimas son buenos catalizadores, los colorantes histoquímicos pueden revelar fácilmente concentraciones reducidas de éstas. Cada colorante histoquímico tiene una composición precisa y, en general, son soluciones tamponadas para mantener un pH que permita una buena actividad enzimática (Leary & Book, 1990).

Los geles fueron sumergidos en una solución de tinción específica para cada enzima. A continuación se colocaron en la oscuridad y a una temperatura de 37 °C

(temperaturas superiores a 45° C deben ser evitadas porque pueden provocar la desnaturalización de las proteínas). Estas condiciones no siempre fueron adoptadas para la tinción de algunas enzimas, al ser consideradas prescindibles o perjudiciales. Cada una de las tinciones enzimáticas se ensayó para todos los tejidos en los tampones anteriormente descritos, de forma que fue posible conocer el tejido y el tampón donde se obtuvo la mejor resolución de los loci detectados. A continuación se describe la composición química de las soluciones de tinción para cada enzima ensayada (e.g. Sosa-Henríquez, 1991; González, 2001).

8.2.6.1. Adenilato quinasa (AK. E.C. 2.7.4.3)

Reacción: $ATP + AMP \rightarrow ADP + ADP$

$Glucosa + ATP \rightarrow Glucosa\text{-}6\text{-fosfato} + ADP$

$Glucosa\text{-}6\text{-fosfato} + NADP^+ \rightarrow 6\text{-fosfato-Gluconolactone} + ADPH$

Reactivos:

Tris-HCl 0,2M pH 8,0	30 ml
Hexoquinasa	3 mg
PMS 5 mg/ml.....	1 ml
G6PDH	12 U
MgCl ₂ 10 %	1 ml
NADP ⁺ 10 mg/ml	1 ml
ADP.....	28 mg
MTT 10 mg/ml	1 ml

Capa de tinción: primera

Condiciones de Revelado: 37 ° C y oscuridad

Otras condiciones ensayadas:

- Se ensayó la 3° capa de tinción

8.2.6.2. Aconitasa (AH. E.C. 4.2.1.2)

Reacción: $Cis\text{-Aconítico} + H_2O \rightarrow Cítrico$

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	50 ml
Ácido Cis-Aconítico	50 mg
MgCl ₂ 10 %.....	4 ml

NADP ⁺ 10 mg/ml.....	1 ml
Isocítrico deshidrogenasa.....	5 mg
MTT 10 mg/ml.....	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: primera

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad

Otras condiciones ensayadas:

- Se varió la concentración de Ácido Cis-Aconítico de 50 a 100 mg.
- Se ensayó con 2 ml de MgCl₂.

8.2.6.3. Alcohol deshidrogenasa (ADH. E.C. 1.1.1.1).

Reacción: Alcohol + NAD⁺ → Aldehído o cetona + NADH

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	50 ml
Etanol absoluto	3 ml
NAD ⁺ 20 mg/ml.....	1 ml
MTT 10 mg/ml.....	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: independiente

Condiciones de Revelado:

- Temperatura ambiente y oscuridad.
- Debe estar tapada para evitar la evaporación del alcohol y aislada del resto de las tinciones.

Otras condiciones ensayadas:

- Se aumentó la concentración de etanol absoluto hasta 5 ml.

8.2.6.4. Aspartato aminotransferasa (AAT. E.C. 2.6.1.1).

Reacción: L-Aspártico + 2-Cetoglutarico → Oxalacético + L-Glutámico

Reactivos:

AAT Stock solution**	50 ml
Ácido Aspártico	100 mg
Ácido 2-Cetoglutarico	50 mg
Piridoxal-5-Fosfato.....	5 mg
Fast Blue BB Salt	150 mg

** TRIS 12,0 g, Ácido Aspártico 4,0 g, Ácido Cetoglutarico 2,2 g, 1 litro de H₂O, ajustar a pH 8,0 con HCL 1M.

Capa de tinción: independiente

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se varió la concentración del Piridoxal-5-Fosfato de 5 a 25 mg.
- Se aumentó la concentración de Ácido Cetoglutarico a 110 mg.
- Se aumentó la concentración de Fast Blue BB SALT a 250 mg.

8.2.6.5. Catalasa (CAT. E.C. 1.11.1.6)

Reacción: Peróxido de Hidrogeno → H₂O + Oxígeno

Reactivos:

SOLUCIÓN A

Tampón Fosfato 0,01M pH 7,0	50 ml
Na ₂ S ₂ O ₃	750 mg
H ₂ O ₂ 3 %	2,5 ml

SOLUCIÓN B

H ₂ O	50 ml
KI 0,1 M	750 mg

Capa de tinción: primera

Condiciones de Revelado: Se deja la capa de tinción en la Solución A a temperatura ambiente durante 5 minutos. Seguidamente se elimina esta solución y se lava con agua. Finalmente se añade la solución B. Se deja incubar a 37 °C y oscuridad, hasta que aparezcan bandas blancas.

Otras condiciones ensayadas:

- Se probó con 50 ml de solución de KI a 0,09 M.

8.2.6.6. Diaforasa (DIA. E.C. 1.6.4.3).

Reacción: Lipoamida + NADH → Dihidrolipoamida + NAD⁺

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	50 ml
DCPIP	3 mg
β -NADH	5 mg
MTT 10mg/ml	1 ml

Capa de tinción: tercera.

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se aumentó la concentración de β -NADH a 25 mg

8.2.6.7. Enzima Málica (MEP. E.C. 1.1.1.40)

Reacción: L-Málico + NADP^+ $\rightarrow$ Pirúvico + CO_2 + NADPH

Reactivos:

Tris-HCl 0,2M pH 8,0	40 ml
Ácido Málico/ NaOH 0,5 M pH 7,0	20 ml
MgCl_2 10%	1 ml
NADP^+ 10 mg/ml	2 ml
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 5 mg/ml	1 ml

Capa de tinción: segunda

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se probó 250 mg de Ácido L. Málico, ajustado a pH 8,0
- Se utilizó 25 ml de Tris 0,1 M pH 8,0 y 25 ml de Ácido Málico 1M pH 8,0.

8.2.6.8. Esterasa (EST. E.C. 3.1.1.1)

Reacción: Ester carboxílico + H_2O $\rightarrow$ Alcohol + Ácido carboxílico

Reactivos:

Fosfato 0,1M pH 7,0	75 ml
Fast Blue RR Salt	35 mg
Fast Blue BB Salt	35mg
α - β -Naftilpropionato*	25 mg

* disuelto en DMSO (Dimetil Sulfoxide)

Capa de tinción: primera.

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad. Se incuba separada del resto y tapada con cristal.

Otras condiciones ensayadas:

- Se ensayó en la 2ª y 3ª capa de tinción.
- Se probó con 50 ml de TRIS 0,1M pH 7,1.
- Se aumentó la concentración de Fast Blue RR SALT.

8.2.6.9. Fosfatasa ácida (ACP. E.C. 3.1.3.2)

Reacción: Ortofosfórico-monoester + H₂O → Ortofosfato + Alcohol

Reactivos:

Tris-Acetato 0,1M pH 5,0	45 ml
MgCl ₂	0,05 g
MnCl ₂	0,05 g
NaCl	0,5 g
Fast Blue RR Salt	0,05 g
α-Naftil-Fosfato*	5 ml

* disuelto al 1% en acetona:agua (1 : 1)

Reactivos:

Fosfato/Citrato 0,1M pH 4,5.....	50ml
α- Naftol Ácido Fosfato.....	150mg
Fast Garnet GBC Salt	50 mg
MgCl ₂ 10%.....	3 ml

Capa de tinción: tercera

Condiciones de Revelado: temperatura ambiente y oscuridad

Otras condiciones ensayadas:

- Se ensayó la 4ª capa de tinción

8.2.6.10. Fosfatasa alcalina (ALP. EC 3.1.3.1)

Reacción: Ortofosfórico-monoester + H₂O → Ortofosfato + Alcohol

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0.....	50 ml
MgCl ₂ 10%	2 ml
MnCl ₂	50 mg

NaCl ₂	50 mg
Fast Blue RR SALT	75 mg
α-Naftil-Fosfato*	5 ml

* disuelto al 1% en acetona:agua (1 : 1)

Capa de tinción: segunda

Condiciones de Revelado: temperatura ambiente y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas: -

8.2.6.11. Fosfoglucomutasa (PGM. E.C. 5.4.2.2)

Reacción:

α -D-Glucosa-1,6-bifosfato + α -D-Glucosa-1-P $\rightarrow$ α -D-Glucosa-6-P + α -D-Glucosa-1,6-bifosfato.

$\text{Glucosa-6-P} + \text{NADP}^+ \rightarrow \text{6-Fosfogluconico} + \text{NADPH}$

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	50 ml
Glucosa-1-P	50 mg
MgCl ₂ 10%	2 ml
NADP ⁺ 10 mg/ml	1 ml
Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa	60 U
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 10 mg/ml	1 ml

Capa de tinción: segunda

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se ensayó la 3ª capa de tinción.
- Se utilizó Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa 40 U.
- Se probó con 50 ml de TRIS 0,2M a pH 8,0

8.2.6.12. Fosfogluconico deshidrogenasa (PGDH. E.C. 1.1.1.44)

Reacción:

$\text{Ácido 6-fosfogluconico} + \text{NADP}^+ \rightarrow \text{D-Ribulosa-5-P} + \text{CO}_2 + \text{NADPH}$

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	50 ml
Ácido 6-fosfogluconico	30 mg

MgCl ₂ 10%	4 ml
NADP ⁺ 10 mg/ml	2 ml
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: segunda.

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se incrementó la concentración de Ácido 6-fosfogluónico a 50 mg.
- Se disminuyó la concentración de MgCl₂ a 1 ml.
- Se probó con 50 ml de Tris-HCl 0,2M pH 8,0.

8.2.6.13. Fumarato hidratasa (FH. E.C. 4.2.1.2.)

Reacción: L-Malato → Fumarato + H₂O

Reactivos:

Tris-HCl 0,2M pH 8,0	40 ml
Ácido Fumárico.....	20 ml
Ácido Pirúvico.....	60 mg
MDH	300 U
NAD ⁺ 20 mg/ml	1 ml
MTT 10 mg/ml	3 ml
PES	10 mg

Capa de tinción: segunda

Condiciones de Revelado: 37° C y oscuridad

Otras condiciones ensayadas:

- Se utilizó 100 mg de Ácido Fumárico y MDH 150 U.
- La utilización del PES es opcional.

8.2.6.14. Gliceraldeido-3-fosfato-deshidrogenasa (GAPDH. E.C. 1.2.1.12)

Reacción: D-Gliceraldeido-3-P + PO₄ + NAD⁺ → 3-P-D-Glicerol-P + NADH

Reactivos:

Tris-HCl 0,2M pH 8,0	50 ml
Fructosa-1,6- difosfato	70 mg
Ácido arsénico.....	80 mg

Aldolasa	40 U
NAD ⁺ 20 mg/ml.....	1 ml
MTT 10 mg/ml.....	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: primera

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se ensayaron a 2^a y 3^a capa de tinción.

8.2.6.15. Glucosa-6-fosfato isomerasa (GPI. E.C. 5.3.1.9)

Reacción:

Fructosa-6-P → D-Glucosa-6-P + NADP⁺ → 6-Fosfogluconico + NADPH

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	50 ml
Fructosa-6-P.....	50 mg
Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa	60 U
NADP ⁺ 10 mg/ml.....	1 ml
MTT 10 mg/ml.....	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: primera

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se probó con 1 ml de MgCl₂ 10%.
- Se disminuyó la concentración de Fructosa-6-P a 20 mg.
- Se incrementó la concentración de MTT 10 mg/ml a 3 ml.
- Se probó con 30 U de Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa.

8.2.6.16. Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH. E.C. 1.1.1.8)

Reacción: DL-Glicerol-3-fosfato + NAD⁺ → Dihidroacetona-fosfato + NADH

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	50 ml
DL-Glicerolfosfato	100 mg

MgCl ₂ 10%	2 ml
NAD ⁺ 20 mg/ml	1 ml
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: tercera

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad

Otras condiciones ensayadas:

- Se ensayó en la 2^a y 4^a capa de tinción.
- Se disminuyó la concentración de DL-Glicerolfosfato a 70mg.

8.2.6.17. Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PDH. E.C. 1.1.1.49)

Reacción: D-Glucosa-6-fosfato + NADP⁺ → 6-Fosfogluconato + NADPH

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0.....	50 ml
D-Glucosa-6-fosfato	200 mg
MgCl ₂ 10%.....	2 ml
NADP ⁺ 10mg/ml	1 ml
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 10 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: primera

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se probó con 10 ml de Tris-HCl 0.2M pH 8,0 y 40 ml de H₂O.

8.2.6.18. Glutamato deshidrogenasa (GDH. E.C. 1.4.1.2).

Reacción: L-Glutámico + H₂O + NAD⁺ → 2-Oxoglutarico + NH₃ + NADH

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0.....	50 ml
Ácido L-Glutámico.....	200 mg
MgCl ₂ 10%	2 ml
NAD ⁺ 20 mg/ml.....	2 ml
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: tercera

Condiciones de Revelado: 37 °C en oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se ensayó con 50 ml de solución Fosfato 0,1M pH 8,5.
- Se probó con 30 mg de ADP.
- Se probó con 2 mg de Piridoxal-5-fosfato.

8.2.6.19. Sorbitol deshidrogenasa (IDDH. E.C. 1.1.1.14)

Reacción: D-Sorbitol + NAD → D-Sorbosa + NADH

Reactivos:

Tris-HCl 0,2M pH 8,0	50 ml
D-Sorbitol.....	250 mg
MgCl ₂ 10%.....	1 ml
NAD ⁺ 20 mg/ml	1 ml
MTT 10 mg/ml.....	4 ml
PMS 5 mg/ml	1 ml
NBT.....	25 mg

Capa de tinción: segunda

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se aumentó la concentración de NAD⁺ a 2 ml.
- Se aumentó la concentración de D-Sorbitol hasta 500 mg.
- Se utilizó TRIS 0,1M pH 8,0.
- La utilización de NBT es opcional.
- Se ensayó en 3^a y 4^a capa de tinción.

8.2.6.20. Hexoquinasa (HK. E.C. 2.7.1.1)

Reacción: ATP + D-Hexosa → ADP + D-Hexosa-6-Fosfato

Reactivos:

Tris-HCl 0,2M pH 8,0	50 ml
D-Glucosa	150 mg
G6PDH.....	30 U
ATP.....	25 mg
MgCl ₂ 10%.....	1 ml
NADP ⁺ 20 mg/ml	1 ml

MTT 10 mg/ml	2 ml
PES 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: segunda

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se ensayó con 50 ml de Tris-HCl 0,05M pH 8,4.
- Se disminuyó la concentración de D-Glucosa a 100 mg.
- Se aumentó la concentración de ATP a 65 mg.
- Se ensayó en 3ª y 4ª capa de tinción.

8.2.6.24. Hexosa-6-fosfato deshidrogenasa (H6PDH E.C. . 1.1.1.47)

Reacción:-

Reactivos:

Sol. Fosfato 0,1M pH 7,0	50 ml
Glucosa	100 mg
NAD ⁺ 20 mg/ml	1 ml
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: segunda, cuarta

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Añadir 50 mg de Ác. Pirúvico para evitar revelar la LDH.

8.2.6.21. Isocitrato deshidrogenasa (IDHP E.C. 1.1.1.42)

Reacción: Ácido Isocítrico + NADP⁺ → 2-Oxoglutarico + CO₂ + NADPH

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0.....	50 ml
Ácido Isocítrico	50 mg
MgCl ₂ 10%	2 ml
NADP ⁺ 10 mg/ml	1 ml
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: tercera.

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se disminuyó la concentración de Ácido Isocítrico a 20 mg.
- Se ensayó en la 4ª capa de tinción.

8.2.6.22. Lactato deshidrogenasa (LDH. E.C. 1.1.1.27)

Reacción: L-Láctico + NAD⁺ → Pirúvico + NADH

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	50 ml
Ácido Láctico	150 mg
MgCl ₂ 10%.....	2 ml
NAD	5 mg
MTT.....	10 mg
PMS	5 mg

Capa de tinción: segunda

Condiciones de Revelado: Temperatura ambiente y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas: -

8.2.6.23. Málico deshidrogenasa (MDH. E.C. 1.1.1.37)

Reacción: L-Málico + NAD⁺ → Oxalacético + NADH

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	35 ml
Acido Málico 1M pH 8,0.....	15 ml
NAD ⁺ 20 mg/ml.....	1 ml
MTT 10 mg/ml.....	1 ml
PMS 5 mg/ml.....	1 ml

Capa de tinción: tercera.

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se disminuyó la concentración de NAD⁺ a 5 mg.
- Se probó con 40 ml de TRIS 0,2 M a pH8,0.
- Se probó con una solución de Ácido Málico/NaOH 0,5 M pH 7,0

8.2.6.25. Octanol deshidrogenasa (ODH. E.C. 1.1.1.73)

Reacción:-

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 8,0	50 ml
1- Octanol	3 ml
Etanol 95%	1 ml
G6PDH	25 mg
NAD 20 mg/ml	1 ml
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 5 mg/ml	1 ml

Capa de tinción: cuarta capa de tinción

Condiciones de Revelado: Temperatura ambiente y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:-

8.2.6.26. Peptidasas (PEP. E.C. 3.4.-.-.)

Reacción: Polipéptido-dipeptidil + H₂O → Polipéptido +Dipéptido

Reactivos:

Fosfato 0,1M pH 7,0	30 ml
Substrato mg/ml	40 mg
Snake Venon	10 ml
3-amino-9-etilcarcazole	10 mg
Peroxidasa	5 mg

Capa de tinción: tercera.

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- El sustrato correspondiente a cada peptidasa se disolvió previamente en DMSO.
- El 3-amino-etilcarcazole se disolvió previamente en DMSO.
- Se ensayaron la PEP-LT (L-leucyl-L-tyrosine) y la PEP-PP (L-phenylalanyl-L - proline).

8.2.6.27. Peroxidasa (PRX. E.C. 1.11.1.7)

Reacción: Donante + H₂O₂ → Donante oxidado + 2H₂O

Reactivos:

SOLUCIÓN A

3-Amino-9-Etil-Carbazol	30 mg
CaCl ₂	30 mg
Dimetil formamida.....	5 ml

SOLUCIÓN B

Acetato sódico 0,05 M pH 5,4	47,5 ml
H ₂ O ₂ 3%	2 ml

Capa de tinción: tercera

Condiciones de Revelado: Mezclar las soluciones A y B, incubar a temperatura ambiente, no necesita oscuridad.

Otras condiciones ensayadas: Se ensayó en la 2ª capa de tinción.

8.2.6.28. Piruvato Quinasa (PK. E.C. 2.7.1.40.)

Reacción: ADP + Fosfoenol piruvato → ATP+ piruvato

Reactivos:

Tris-HCl 0,2M pH 8,0	30 ml
Fosfoenol piruvato	60 mg
Fructosa -1, 6-difosfato	30 mg
Glucosa	600 mg
ClK.....	160 mg
Hexoquinasa	4 mg
ADP	30 mg
G6PDH	30 U
MgCl ₂ 10%.....	1 ml
NADP ⁺ 20 mg/ml.....	2 ml
MTT 10 mg/ml.....	2 ml
PMS 5 mg/ml	2 ml

Capa de tinción: cuarta.

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Se probó con 100 mg de ADP.

8.2.6.29. Superoxido dismutasa (SOD. E.C. 1.15.1.1)

Reacción: $2 O_2^- + 2 H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$

Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 7,4	50 ml
NAD ⁺ 20 mg/ml	1 ml
MTT 10 mg/ml	1 ml
PMS 5 mg/ml	1ml

Capa de tinción: segunda y tercera

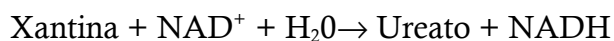
Condiciones de Revelado: Incubar a 37 °C en oscuridad durante 30 minutos, a continuación exponer el gel a la luz y temperatura ambiente.

Otras condiciones ensayadas:

- La utilización del NAD⁺ es opcional.

8.2.6.30. Xantina deshidrogenasa (XDH. E.C. 1.2.1.37)

Reacción: Hipoxantina + NAD⁺ + H₂O → Xantina + NADH



Reactivos:

Tris-HCl 0,1M pH 7,4	50 ml
Hipoxantina	200mg
KOH 0,1M	5 ml
NAD ⁺ 20 mg/ml	1 ml
MTT 10 mg/ml	2 ml
PMS 5 mg/ml	1ml

Capa de tinción: segunda.

Condiciones de Revelado: 37 °C y oscuridad.

Otras condiciones ensayadas:

- Disolver primero y durante diez minutos: 5 ml de TRIS 0,1 M, 5 ml KOH y 200 mg de Hipoxantina. A continuación añadir lo restante.
- Se utilizaron 100 mg de Hipoxantina.
- Se probó con una solución de TRIS 0,2 M a pH 8,0.

8.2.7. Fotografiado de los geles

La interpretación de los resultados puede realizarse a partir de la observación directa del gel o de fotografías, sin que se verifiquen diferencias de información perceptibles entre ambos métodos. En general, la observación directa suele utilizarse cuando la interpretación es simple e inequívoca, aunque en determinados casos también se recurre a la conservación de los geles con alcohol o agarosa. Sin embargo, la utilización de las fotografías resulta más cómoda y adecuada, ya que permite interpretar de manera objetiva y siempre que se requiera. En este trabajo también se optó por fotografiar los geles utilizándose una cámara fotográfica KODAK Digital Science DC- 40. Las fotografías fueron realizadas con luz transmitida a través de una superficie de plástico sobre la cual se colocaron los geles. Las imágenes obtenidas fueron guardadas en el formato informático adecuado para su posterior interpretación.

8.2.8. Interpretación genética de los zimogramas.

La disposición o patrón de bandas que aparece en el gel después de la tinción enzimática recibe el nombre de zimograma. La interpretación genética del zimograma, en términos de genotipos y de alelos, requiere que previamente se determine la base genética que provoca la variación excluyendo otras causas no genéticas o extrínsecas al locus analizado, como artefactos de la técnica y modificaciones postraduccionales (Zapata, 1987). Para realizar dicha interpretación se tiene en cuenta tanto la naturaleza de la especie (e.g. diploide, poliploide), como la estructura cuaternaria de las enzimas (e.g. monómero, dímero, etc). En los organismos diploides cada gen (o locus enzimático) sólo expresa dos alelos, por lo que individuos homocigóticos para un locus presentan ambas copias del gen con el mismo estado alélico, mientras que los heterocigóticos las presentan diferentes. Así, si un locus que codifica para un polipéptido es homocigótico, sus alelos idénticos producen el mismo tipo de polipéptido. Mientras que si el locus es heterocigótico cada alelo produce un único polipéptido (Leary & Booke, 1990). Además al considerar la estructura de las enzimas, la variedad de zimogramas obtenidos puede ser considerable. Los homocigotos presentarán una sola banda de actividad

enzimática y los heterocigotos dos o más dependiendo de si la enzima está compuesta de una o más subunidades polipeptídicas, denominándose según el caso como monómeros, dímeros, trímeros, etc. Es decir, los heterocigotos presentaran dos, tres y hasta un total de cinco bandas cuando la enzima se trata de un monómero, dímero o tetramero, respectivamente.

Muchas enzimas de peces y vertebrados superiores están codificadas por más de un locus, resultado de la duplicación de los genes. Dos de los principales factores responsables de la duplicación son la poliploidía y el entrecruzamiento desigual durante la meiosis. Al inicio, los dos pares de genes pueden codificar los mismos polipéptidos para una proteína dada. Sin embargo, con el tiempo, las mutaciones en un o ambos pares de locus pueden conducir a la codificación de polipéptidos estructuralmente diferentes. La variación estructural puede producirse a nivel temporal o de localización (Leary & Booke, 1990). Por ejemplo, en peces la enzima Lactato deshidrogenasa (LDH) es codificada por tres pares de genes, presentándose uno en el tejido muscular (LDH-A*), otro en el tejido cardíaco e hígado (LDH-B*) y el último en el tejido neural (LDH-C*). Es decir, los polipéptidos de loci duplicados se expresan en diferentes tejidos, aunque también es posible encontrarlos todos juntos en el mismo.

La interpretación genética de los patrones de bandas obtenidos se ha realizado siguiendo las recomendaciones de d'Utter *et al.* (1987). La nomenclatura utilizada para la designación de los loci y alelos ha sido la propuesta por Shaklee *et al.* (1990). Cuando se ha observado la presencia de más de un locus éstos se han numerado según su posición dentro del gel, en orden creciente del cátodo al ánodo. La designación de los alelos ha sido realizada en función de la distancia relativa respecto al alelo más común, al cual se asignó el valor 100. Básicamente se calcularon las distancias de migración de los restantes alelos como porcentajes en relación a la distancia de migración del alelo más común.

8.2.9. Análisis de los Datos

8.2.9.1. Variación genética dentro de las muestras

En la mayoría de los loci la relación entre alelos es de codominancia. Es decir, cada uno de los alelos pertenecientes a un locus se expresa con una proteína diferente, lo que facilita la determinación de los genotipos a partir de los fenotipos observados. De esta forma se pueden calcular directamente las frecuencias alélicas y genotípicas de una muestra. La frecuencia de un alelo viene dada por el número total de veces que este es detectado en la muestra, dividido por el tamaño de la muestra. La expresión matemática que define este parámetro es la siguiente:

$$f(i) = \frac{2N(ii) + n(ij)}{2Nt}$$

donde $f(i)$ corresponde a la frecuencia del alelo i , $N(ii)$ al número de individuos con el genotipo ii , $N(ij)$ al número de individuos con el genotipo ij y Nt número de individuos totales analizados.

La medida e interpretación de la variabilidad genética en razón de su origen, mantenimiento y significado evolutivo, es esencial para explicar y predecir los cambios en la composición genética de las poblaciones (Zapata, 1987). Su estudio se puede realizar de varias formas atendiendo a los distintos caracteres a analizar y de acuerdo a diferentes metodologías. En este caso se ha estimado el porcentaje de loci polimórficos y la heterocigosidad media por locus. Un locus se considera polimórfico cuando se detecta más de un alelo, es decir cuando la frecuencia del alelo más común es igual o menor a 0.95 (criterio del 95%) o a 0.90 (criterio del 90%). La relación existente entre el número de loci polimórficos y el total de loci examinados dará la proporción de loci polimórficos en la población. Sin embargo, esta medida presenta algunos inconvenientes. La utilización de cualquiera de los criterios es de carácter subjetivo y, por tanto, repercute en la medida. Además esta medida no considera las frecuencias alélicas, de tal forma que un locus ligeramente polimórfico tiene la misma importancia que otro locus muy polimórfico. A pesar de

estos inconvenientes, esta medida nos ofrece una visión de la variación génica dentro de las poblaciones (Nei, 1987).

Otro modo de cuantificar la variabilidad genética es a través del cálculo de la heterocigosidad media por locus. La heterocigosidad en un locus es descrita mediante la heterocigosidad observada (h_o) y la esperada (h_e). La estima de la heterocigosidad esperada es un buen indicador de la variabilidad genética, dado que se aplica a cualquier especie independientemente de su sistema reproductivo o estructura genética o incluso a organismos haploides. Esto permite comparar los niveles de variabilidad genética en todo el rango de los seres vivos (Zapata, 1987). La expresión matemática que la define es:

$$H_e = 1 - \sum p_i^2$$

donde, p_i corresponde a la frecuencia del alelo i en un locus dado.

La heterocigosidad observada se define como la frecuencia relativa de individuos heterocigóticos por locus y su cálculo se realiza mediante el conteo directo. La comparación entre la heterocigosis observada y la heterocigosis esperada permite evaluar la estructura genética de las poblaciones (Nei, 1987).

La heterocigosidad media por locus, esperada (H_e) y observada (H_o), no es más que el valor medio para todos los loci de H_o y H_e respectivamente (Nei, 1978).

También se consideró el número medio de alelos por locus para cada una de las muestras, lo que es de gran utilidad ya que permite medir las reducciones de variabilidad a consecuencia de efectos fundadores o “cuellos de botella” (Nei *et al.*, 1975). La eficacia de este estadístico está relacionada con el hecho de que dichas reducciones afectan esencialmente a los alelos de baja frecuencia en la población.

Por otro lado, también se verificó si cada una de las muestras se encontraba en el equilibrio de Hardy-Weinberg. La ley de Hardy-Weinberg (Hardy, 1908; Weinberg, 1908) considera que en una población de individuos diploides, de tamaño apreciable, con reproducción sexual, generaciones discretas, apareamientos

al azar y sobre la cual no actúan procesos evolutivos (i.e migración, mutación, selección natural), las frecuencias alélicas permanecen constantes y estables a lo largo de las generaciones.

Consideradas en conjunto, estas condiciones son suficientes para que la población esté en equilibrio de Hardy-Weinberg. En este caso, la matriz de frecuencias genotípicas para un locus dado será:

$$\sum_i p_i^2 A_i A_i + \sum_i \sum_{i \neq j} p_i p_j A_i A_j$$

donde, p_i y p_j representan las frecuencias relativas de los alelos A_i y A_j respectivamente, y $A_i A_i$ y $A_i A_j$ corresponden a los genotipos.

Un aspecto a tener en cuenta es que la existencia de las proporciones Hardy-Weinberg no implica necesariamente que se cumplan todas y cada una de las condiciones enumeradas anteriormente. De hecho, alguna o varias de estas condiciones pueden ser violadas y las frecuencias genotípicas seguir presentando las proporciones de Hardy-Weinberg (Zapata, 1987). Por otro lado, existen ciertas condiciones que por sí mismas son capaces de variar las frecuencias esperadas en el equilibrio de Hardy-Weinberg y que nos pueden indicar ciertos aspectos de diferenciación de la especie estudiada. En esta situación cabe la posibilidad de que la muestra esté constituida por individuos pertenecientes a poblaciones genéticamente diferentes. En este caso, puede ocurrir una deficiencia de individuos heterocigotos con respecto a las proporciones esperadas en Hardy-Weinberg, ya que las frecuencias genéticas de las poblaciones se pueden diferenciar a consecuencia de un proceso dispersivo por deriva genética.

Una medida de la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg la proporciona el índice de fijación F (Wright, 1969), que se define como:

$$F = \frac{(he - ho)}{he}$$

Un valor de F positivo o negativo indica un defecto o un exceso, respectivamente, de heterocigotos en la población con respecto a las proporciones Hardy-Weinberg.

Para comprobar el ajuste de las frecuencias esperadas y observadas en el equilibrio se realiza un test de probabilidades exactas (Fisher, 1935; Haldane, 1954). Este es especialmente útil cuando el tamaño de la población muestral no es muy grande (Lessios, 1992), como es el caso de este estudio. Ante esta situación, la presencia de alelos raros (alelos de frecuencias inferiores al 0.95) indicaría frecuencias esperadas bajas. Valores que no afectarían al test, ya que este calcularía de manera inequívoca la probabilidad de que la muestra analizada fuera extraída de la población al azar, en caso de equilibrio.

8.2.9.2. Diferenciación genética entre las muestras

El grado de diferenciación genética entre poblaciones intra e interespecíficas puede estimarse mediante la aplicación de diferentes índices de distancia genética, como son el índice de Nei (1972) y la distancia de cuerda de Cavalli-Sforza & Edwards (1967). Por diversas razones, el índice de Nei (1972) es el de uso más generalizado. Este mide el número medio de sustituciones de aminoácidos por locus producidas desde el momento de la divergencia de las poblaciones. El índice asume que las diferencias encontradas son resultado de la acción de mutaciones y de la deriva genética en poblaciones de tamaño efectivo constante a lo largo del tiempo. Los datos electroforéticos cumplen bastante bien con esta premisa, de allí su utilización en los estudios de evolución. Se ha utilizado la estimación de la Distancia Genética Estándar de Nei (1972), la cual mide el número acumulado de sustituciones de genes por locus, y se define como:

$$D = -\ln I$$

donde, I es la estimación del coeficiente de Identidad Genética entre dos poblaciones X e Y para un locus, y cuya expresión matemática es:

$$I = \frac{J_{xy}}{(J_x J_y) * \frac{1}{2}}$$

donde, J_{xy} , J_x y J_y son respectivamente las medias aritméticas de todos los loci, incluyendo los monomórficos, de j_{xy} , j_x y j_y . Estos representan la probabilidad de elegir al azar el mismo gen en ambas poblaciones (j_{xy}), o de elegir al azar dos genes idénticos dentro de la misma población (j_x , j_y). Es decir, la homocigocidad esperada para el locus j en las poblaciones X e Y. Estos parámetros se calculan con:

$$j_{xy} = \sum_i p_{ix} p_{iy}$$

$$j_x = \sum_i p_{ix}^2$$

$$j_x = \sum_i p_{ix}^2$$

$$j_y = \sum_i p_{iy}^2$$

donde, p_{ix} y p_{iy} son las respectivas frecuencias de los i ésimos alelos de las poblaciones X e Y.

El intervalo de variación de la Distancia Estándar de Nei (1972) está comprendido entre 0 e infinito. D puede valer más de uno, debido a que en largos períodos de tiempo evolutivo un alelo puede ser sustituido más de una vez. Mientras que la Identidad Genética varía entre 0 (sin alelos comunes) y 1 (todas las frecuencias alélicas idénticas).

Otros índices de distancia son aplicaciones directas de antiguas medidas morfológicas utilizadas en la taxonomía numérica clásica. Las poblaciones son representadas como puntos en un espacio multidimensional y la distancia genética entre poblaciones es medida con la distancia geométrica entre los correspondientes puntos en el espacio. Al contrario de la distancia genética de Nei (1972), estos índices no tienen cualquier significado biológico y/o evolutivo, ya que no miden directamente la cantidad de diferencias genéticas existente entre las poblaciones. En la distancia de cuerda de Cavalli-Sforza & Edwards (1967) las poblaciones son

representadas a través de puntos en la superficie de una hipersfera multidimensional y la distancia genética es medida a partir de la longitud cordal entre los puntos:

$$Dc = \left(\frac{2}{\pi}\right) * \left[2(1 - \cos \theta) \frac{1}{2}\right]$$

Cavalli-Sforza (1969) relaciona la transformación angular con el término de diversidad genética F_{ST} , mediante la siguiente expresión:

$$f\theta = \frac{4(1 - \cos \theta)}{(m-1)}$$

siendo m el número de alelos, lo que permite usar $f\theta$ como una medida de distancia genética. Este parámetro asume valores entre 0 y 4 y atribuye las diferencias encontradas a la deriva genética.

Las distancias genéticas pueden también ser utilizadas para construir árboles filogenéticos, es decir, representaciones gráficas que resumen las relaciones evolutivas entre organismos. Diversos métodos son usados para la construcción de los árboles filogenéticos a partir de las matrices de distancia genética, siendo el algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages) (Sneath & Sokal, 1973) uno de los más frecuentes para datos electroforéticos. La hipótesis subyacente a este algoritmo considera que la tasa esperada de sustitución de los genes es constante. Si la medida de distancia usada es exactamente lineal con el tiempo evolutivo, sin error, el UPGMA proporciona una topología y un tamaño de “brazos” del árbol correctos. Sin embargo, esto parece no verificarse cuando la medida de distancia esta sujeta a errores estocásticos (e.g. Nei, 1987).

Para construir las matrices de distancia genética de Nei (1972) se utilizó el algoritmo UPGMA y para las matrices de distancia de cuerda de Cavalli-Sforza & Edwards (1967) el algoritmo Neighbor-Joining (Saitou & Nei, 1987). El método de bootstrap (Felsenstein, 1985) se utilizó para testar la robustez de las distancias

obtenidas en los árboles. Este consiste en realizar un remuestreo al azar de la matriz de datos inicial, que permite obtener nuevas matrices de igual tamaño. En este estudio se realizaron 1000 replicas de los datos de las frecuencias alélicas. Finalmente, se utilizó el método de Nelson (Nelson, 1979) para procesar el total de árboles obtenidos, proporcionando un único árbol resumen con el límite de confianza en cada nudo.

Por otro lado, para evaluar la diferenciación genética entre las muestras también se han considerado los F-estadísticos de Wright (1951, 1969). Este autor propuso tres parámetros denominados índices de fijación o estadísticos F, que permiten caracterizar las desviaciones de las frecuencias genotípicas cuando no se cumple el equilibrio de Hardy-Weinberg y la población se encuentra subdividida: F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} . El valor de F_{IT} representa la desviación con respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg en el total de la población, el cual puede ser explicado mediante la desviación a cada subpoblación (F_{IS}) y el grado de divergencia entre subpoblaciones (F_{ST}). La relación entre estos parámetros es:

$$(1 - F_{IT}) = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

Luego, F_{ST} es una medida de diferenciación genética entre subpoblaciones, mientras que F_{ST} y F_{IT} son medidas de desviación de las proporciones con respecto al equilibrio Hardy-Weinberg. Estas últimas pueden asumir valores positivos y negativos, los cuales indican un déficit y exceso de heterocigotos, respectivamente.

Finalmente, para determinar el flujo genético entre las poblaciones se ha utilizado un método indirecto de estimación basado en los F-estadísticos de Wright (1931). Esta aproximación se basa en la relación existente entre F_{ST} y Nm , mediante la fórmula:

$$Nm = \frac{1 - F_{ST}}{4 \times F_{ST}}$$

donde, Nm representa el número de migrantes por generación (Wright, 1922; Hartl & Clark, 1997).

8.2.9.3. Programas Informáticos

El cálculo de las frecuencias alélicas, equilibrio de Hardy-Weinberg y variabilidad genética se realizaron con el programa BIOSYS-1 (Swofford & Selander, 1981). La comparación de las frecuencias alélicas a través de los test de probabilidades exactas y el cálculo de posibles desequilibrios genotípicos se realizó con el programa GENEPOP versión 1.2 (Raymond & Rousset, 1997). En el cálculo de las distancias genéticas y respectiva representación gráfica se utilizaron los programas GENDIST, NEIGHBOR, DRAWGRAM, DRAWTREE, SEGBOOT y CONSENSE, correspondiente al paquete estadístico PHYLIP (Phylogeny Inference Package) versión 3.6 (Felsenstein, 2005).

La base de datos utilizada fue previamente convertida a ficheros informáticos mediante el programa TRANSFORMER-3 (Caujapé-Castells & Baccarani-Rosas, 2005).

En la Figura 57 se resume los diferentes pasos de la técnica electroforesis isoenzimática.

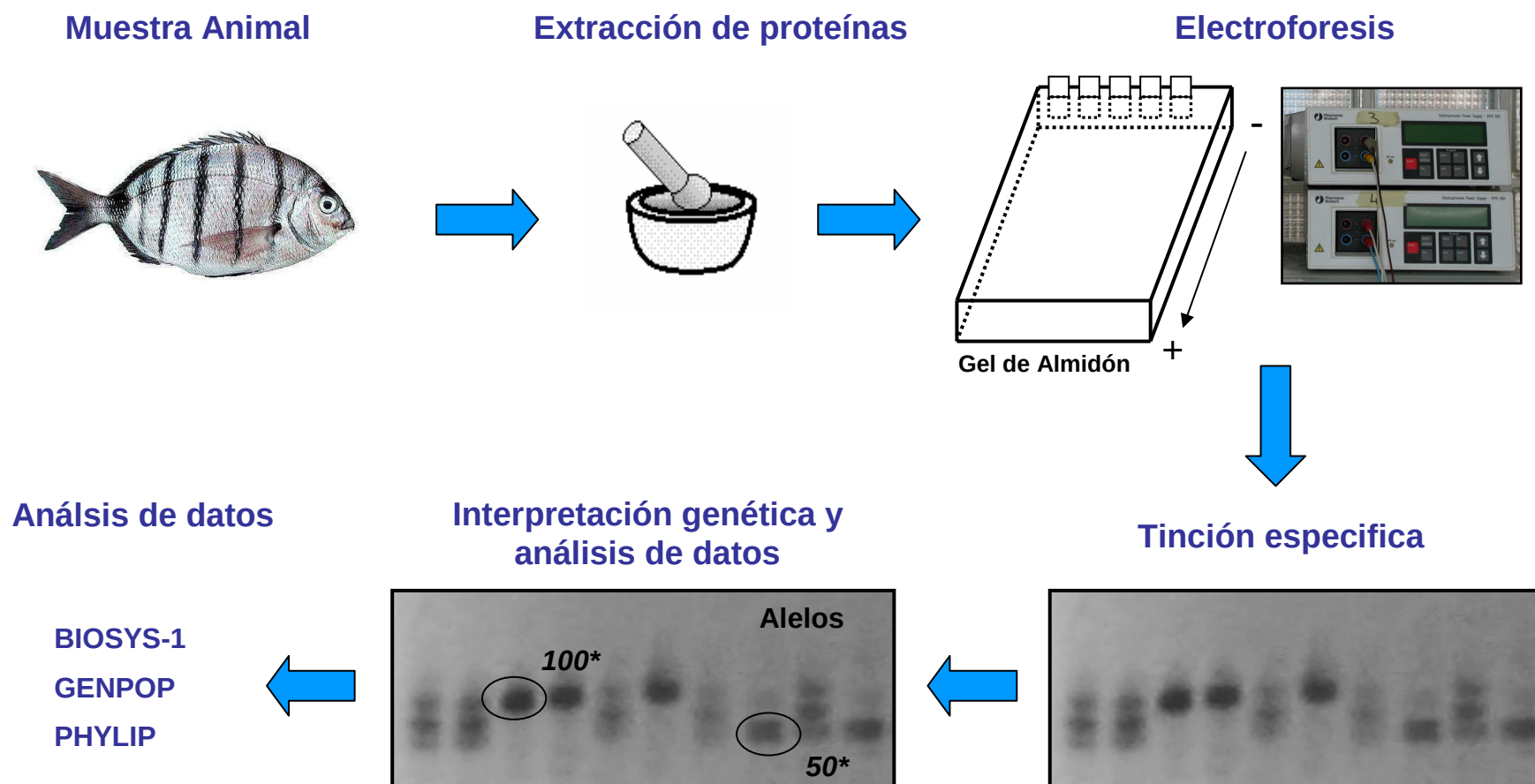


Figura 57 - Esquema representativo de los diferentes pasos de la electroforesis.

8.3. Resultados

8.3.1. Sistemas Enzimáticos

Se seleccionaron aquellas enzimas cuyos sistemas enzimáticos presentaban la mejor actividad y resolución en los distintos sistemas de tampón ensayados. Estas se separaron en cuatro grupos y fueron clasificadas según su actividad y resolución:

- Enzimas sin actividad

Alcohol deshidrogenasa (*ADH**), Fosfatasa alcalina (*ALP**), Catalasa (*CAT**), Hexoquinasa (*HK**), Peptidasas (*PEP-LT**; *PEP-PP**), Octanol deshidrogenasa (*ODH**).

- Enzimas con actividad y mala resolución:

Aspartato aminotransferasa (*AAT**), Fosfatasa ácida (*ACP**), Aconitasa hidratada (*AH**), Diaforasa (*DIA**), Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (*G6PDH**), Peroxidasa (*PRX*), Piruvato quinasa (*PK**), Xantina deshidrogenasa (*XDH**).

- Enzimas con actividad y buena resolución:

Esterasa (*EST**), Fosfoglucomutasa (*PGM**), Fosfogluconato deshidrogenasa (*PGDH**), Fumarato hidratasa (*FH**), Glucosa-fosfato isomerasa (*GPI**), L-iditol deshidrogenasa (*IDDH**), Enzima Málica (*MEP**), Isocitrato deshidrogenasa (*IDHP**), L-lactato deshidrogeasa (*LDH**), Malato deshidrogenasa (*MDH**), Superóxido dismutasa (*SOD**).

Además, de los distintos sistemas de tampón utilizados, el Morfolina-Citrato 6.1 (Clayton & Tretiak, 1972) fue el que mejores resultados presentó para un mayor número de enzimas analizadas. Los demás sistemas enzimáticos fueron resueltos, en igual número, con los tampones CTC 8.0 (Whitt, 1970) y TC/BL 8.1 (Ridgway *et al.*, 1970) (Tablas 29, 30)

Tabla 29 - Resolución de enzimas en cada uno de los sistemas de tampones de electroforesis ensayados. B: Enzimas con muy buena resolución y actividad, R: Enzimas con moderada resolución y actividad, M: Enzimas con muy baja resolución, S: Enzimas sin actividad, -: No ensayado, **: No obtenidas. Entre paréntesis se encuentra el tejido donde se obtuvo buenos resultados (h: hígado, m: músculo, o: ojo).

SISTEMAS DE TAMPONES											
ENZIMAS	MORFOLINA CITRATO 6.1	MORFOLINA CITRATO 6.5	MORFOLINA CITRATO 7.1	TRIS CITRATO 8.0	HISTIDINA CITRATO 5.7	TC/BL 8.1	TC/BL 8.3	TC/BL 8.5	TBE 8.3	TBE 8.5	TBE 8.7
AH	S	M	S	-	M	-	-	-	-	-	-
AK	-	-	-	-	B (m)**	S	-	M	-	-	-
ADH	-	-	-	S	-	S	-	S	-	-	-
AAT	-	-	S	M	-	-	S	R	R	M	R
CAT	-	S	S	-	-	-	-	-	-	-	-
DIA	-	-	S	S	M	S	-	-	S	-	-
MEP	-	M	M	B (m)	-	-	-	-	-	-	-
EST	-	-	-	-	-	B (m)	-	M	-	-	-
ACP	M	M	M	-	M	S	S	-	-	-	-
ALP	-	-	S	S	-	-	-	-	-	-	-
PGM	-	-	-	-	-	B (m)	-	-	-	-	-
PGDH	M	-	S	B (m)	M	S	-	S	M	-	M
FH	M	-	B (m)	-	-	-	-	-	-	-	-
GAPDH	S	-	S	S	M	S	B (h)**	S	-	-	S
G3PDH	-	-	-	S	-	S	-	-	-	B(m)**	R

Tabla 29 (cont.)- Resolución de enzimas en cada uno de los sistemas de tampones de electroforesis ensayados. B: Enzimas con muy buena resolución y actividad, R: Enzimas con moderada resolución y actividad, M: Enzimas con muy baja resolución, S: Enzimas sin actividad, -: No ensayado, **: No obtenidas. Entre paréntesis se encuentra el tejido donde se obtuvo buenos resultados (h: hígado, m: músculo, o: ojo).

ENZIMAS	SISTEMAS DE TAMPONES										
	MORFOLINA CITRATO 6.1	MORFOLINA CITRATO 6.5	MORFOLINA CITRATO 7.1	TRIS CITRATO 8.0	HISTIDINA CITRATO 5.7	TC/BL 8.1	TC/BL 8.3	TC/BL 8.5	TBE 8.3	TBE 8.5	TBE 8.7
PGI						B (m)					
G6PDH	-	-	-	M	M	M	M	R	R	-	-
GDH	S	-	R	B (h)**	M	S	-	S	-	-	R
HK	S	S	S	S	S	S	-	S	S	-	-
IDHP	B (m)	R	S	B (m,h)	-	-	-	-	-	-	-
LDH		R	B (m,o)	-	-	-	-	-	-	-	-
MDH	M	B (m)	M	-	-	-	-	-	-	-	-
GCDH	S	S	M	B (h)**	S	M	-	S	-	-	S
ODH	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-
PEP	-	-	-	-	-	S	-	S	-	-	S
PRX	S	-	-	S	M	S	-	M	-	S	S
PK	S	S	M	M	S	M	M	M	-	S	S
IDDH	-	-	S	B (m)	S	S	-	M	-	S	-
SOD	M	S	B (m)	-	-	-	-	-	-	-	-
XDH	-	-	-	M	S	-	-	M	-	-	-

Tabla 30. - Relación entre los sistemas enzimáticos, los sistemas de tampón y las condiciones de voltaje empleadas.

Sistemas de Tampón	CTC 8.0	TCBL 8.1	Morfolina-Citrato 6.1
Voltaje	1) 15 min 250V 60mA 17W	1) 15 min 250V 60mA 17W	1) 15 min 250V 60mA 17W
	2) 5h 200V 60mA 17W	2) 3h 200V 60mA 17W	2) 4h 250V 60mA 17W
Enzimas	MEP, PGDH,	EST, GPI, PGM	IDHP, FH, LDH, MDH, SOD

8.3.2. Descripción e Interpretación de los zimogramas

A continuación se describen los loci y alelos encontrados para las enzimas cuya resolución y actividad fueron óptimas.

8.3.2.1. Esterasa (*EST**)

Enzima con estructura dimérica o monomérica, desconociéndose el número de loci que la codifican. Las esterases son un complejo de enzimas capaces de hidrolizar uniones de éster. En general existe un gran número de loci responsables por este complejo que puede variar considerablemente, incluso entre taxones afines. Esta enzima carece de especificidad en cuanto al sustrato para el cual muchas otras son reveladas (Richardson *et al.*, 1986). En la familia Sparidae se ha descrito como una enzima monomérica, identificándose un locus (Arculeo *et al.* 2003; Reina *et al.*, 1994; Alarcón & Alvarez, 1999) y en ocasiones dos loci (Lenfant & Planes, 1996).

La mejor resolución se ha conseguido con el tampón TC/BL utilizando extractos de músculo. Se han detectado varias zonas de actividad, sin embargo solamente dos de ellas presentaron buena resolución. Estas zonas de actividad anódica han sido interpretadas como la expresión de dos loci diferentes *EST-1** y *EST-2**. Para ambos loci se detectaron dos alelos **100* y **105*, y los heterocigotos han presentado un patrón de dos bandas, que corresponde a una estructura típica de un monómero (Figs.58 a, b).

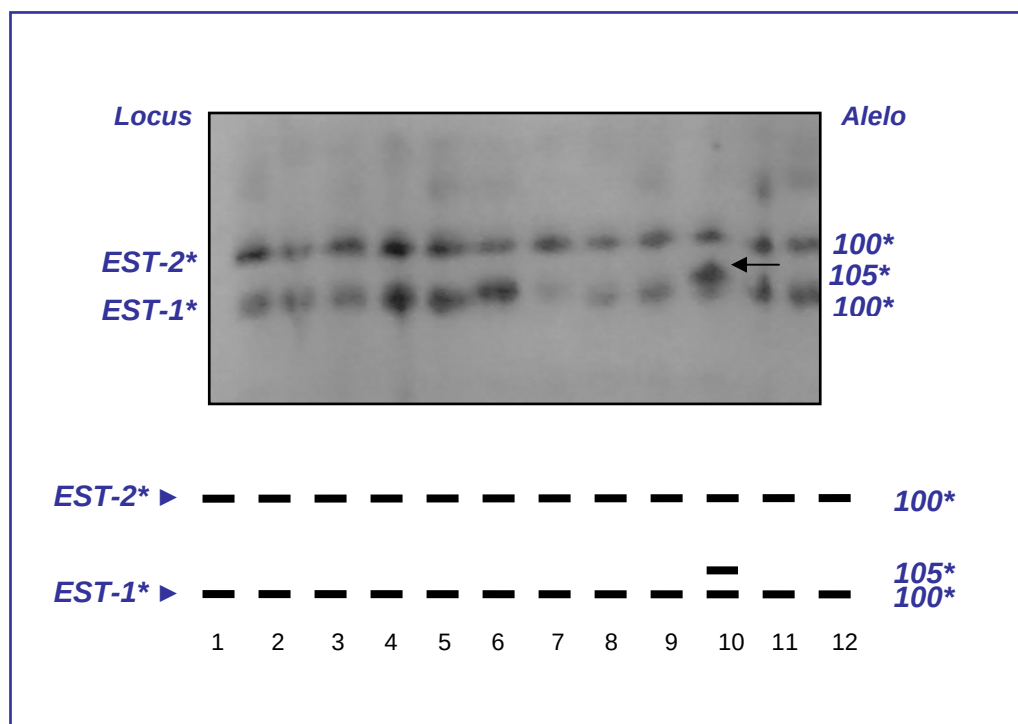


Figura 58 a – Fotografía e interpretación del zimograma obtenido para la enzima esterasa. Locus *EST-1** con los alelos *100** y *105**

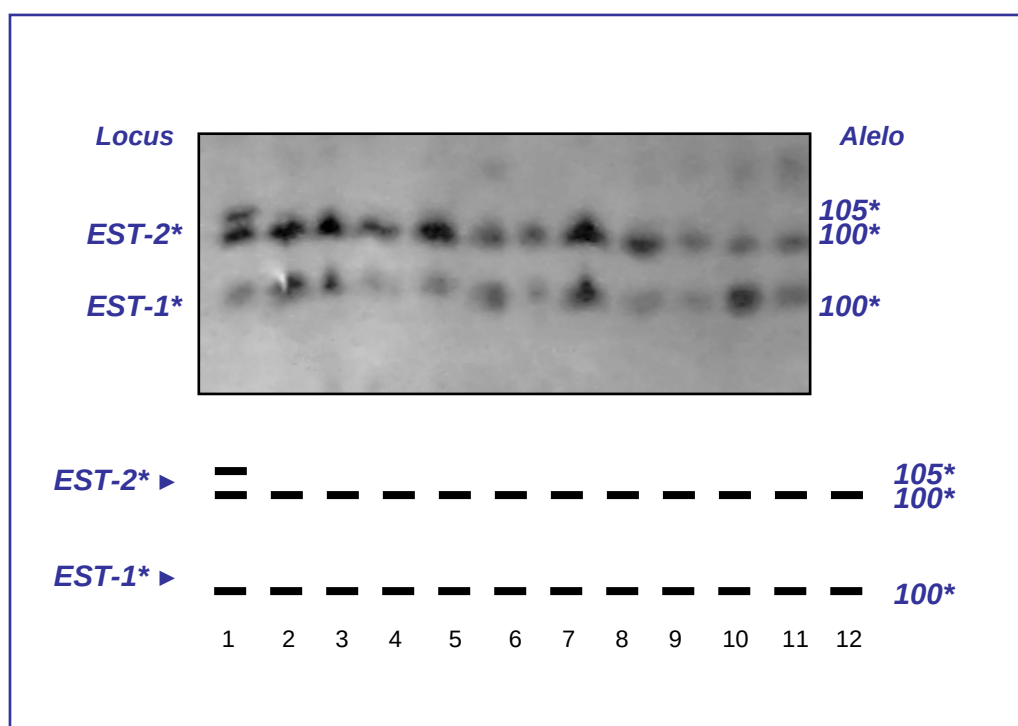


Figura 58 b - Fotografía e interpretación del zimograma obtenido para la enzima esterasa. Locus *EST-2** con los alelos *100** y *105**.

8.3.2.2. Fosfoglucomutasa (PGM^*)

La fosfoglucomutasa pertenece al grupo de las mutasas. Es una enzima monomérica que en los vertebrados está codificada por tres loci. Existen algunas evidencias de la presencia de un cuarto locus en los mamíferos, aunque en otros taxones apenas uno o dos suelen ser demostrables (Richardson *et al.* 1986). Se ha identificado un sólo locus en algunas especies pertenecientes al genero *Diplodus* (Arculeo *et al.* 2003; Alarcón & Álvarez, 1999; Lenfant & Planes, 1996; Reina *et al.*, 1994).

La mejor resolución se ha verificado en el tampón TC/LB utilizando extractos de músculo. Se ha observado una zona de actividad intensa en el ánodo, interpretada como la expresión de un único locus (PGM^*). Se han descrito cinco alelos, 30^* , 70^* , 100^* , 115^* , y 130^* , y los heterocigotos han presentado un patrón de dos bandas, que es característico de una enzima con estructura monomérica (Fig. 59).

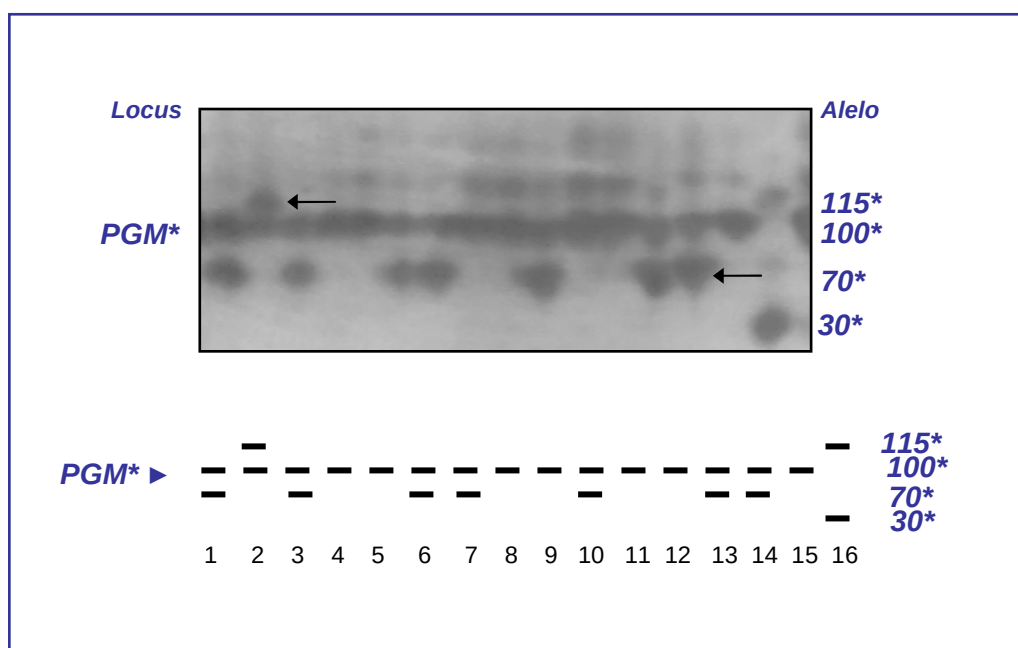


Figura 59 - Fotografía e interpretación del zimograma obtenido para la enzima fosfoglucomutasa.

8.3.2.3. Fosfogluconato deshidrogenasa (*PGDH**)

Enzima dimérica, y ocasionalmente tetramérica, que interviene en reacciones de óxido-reducción en la ruta de las pentosas fosfato. Está descrito un único locus para esta enzima (Richardson *et al.*, 1986), observable en algunas especies pertenecientes a la familia Sparidae (Alarcón & Álvarez, 1999; Lenfant & Planes, 1996; Reina *et al.*, 1994).

La mejor resolución se ha conseguido con el tampón CTC utilizando extractos de músculo. Se ha visualizado una zona de actividad moderada en el ánodo, interpretada como la expresión de un solo locus (*PGDH**). Se han descrito dos alelos, *75 y *100, y los heterocigotos han presentando un patrón de tres bandas, que corresponde a la estructura típica de un dímero (Fig. 60).

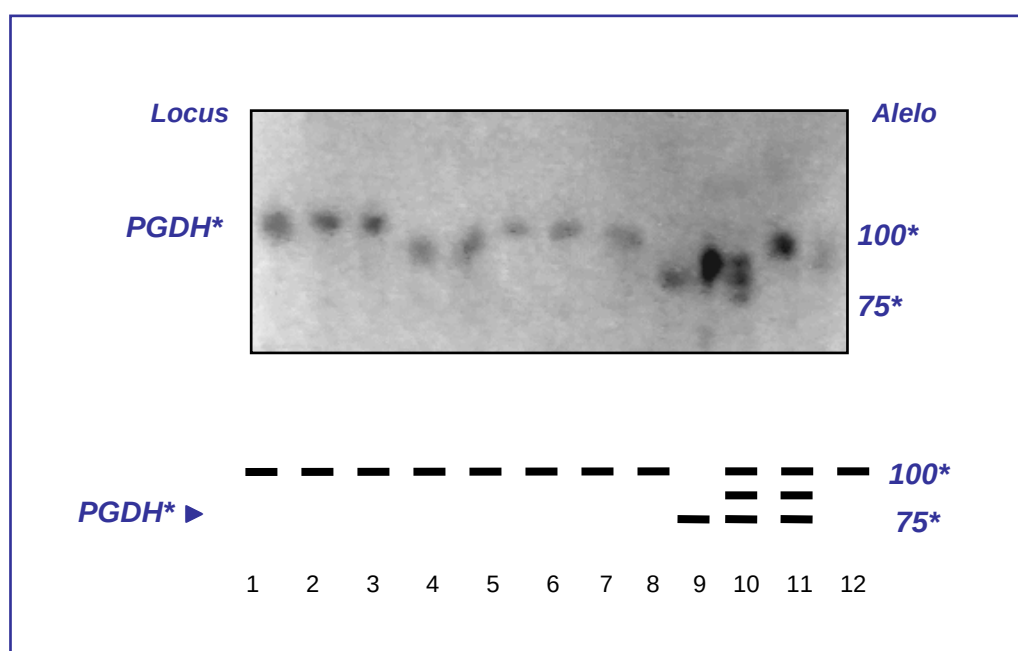


Figura 60 - Fotografía y zimograma obtenido para la enzima fosfogluconato deshidrogenasa.

8.3.2.4. Fumarato hidratasa (FH^*)

La fumarasa pertenece al grupo de las liasas. Se trata de un tetrámero con un único locus descrito. Normalmente se resuelve como un “complejo” de isoenzimas. Las posibilidades incluyen series de sub-bandas anódicas y, ocasionalmente, catódicas con una secuencia alternante de enzimas fuertes y flojas, o dos isoenzimas de intensidad variable (Richardson *et al.*, 1986). En los humanos se observan formas citoplasmáticas y mitocondriales del mismo producto génico (Harris & Hopkinson, 1976 – Supplement 1978).

La mejor resolución se ha obtenido con el tampón AC en extractos de músculo. Se ha observado una zona de actividad moderada en el ánodo, interpretada como la expresión de un único locus (FH^*). Se han descrito dos alelos, $*100$ y $*200$ (Fig 61), y los heterocigotos han presentado un patrón de cinco bandas que es característico de una enzima con estructura tetrámerica.

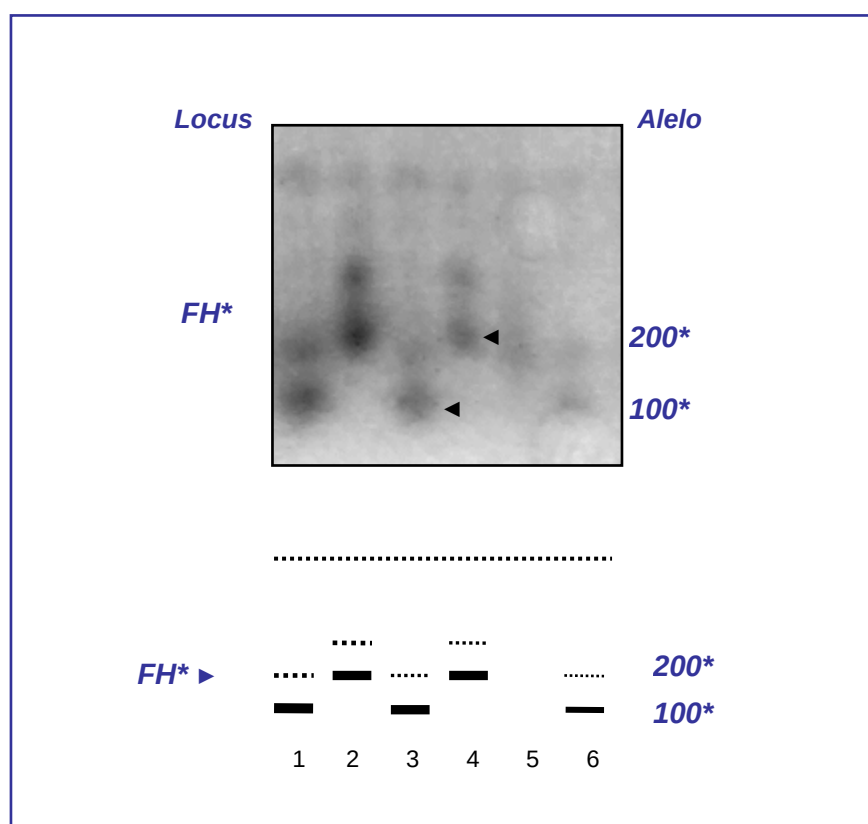


Figura 61 - Fotografía e interpretación del zimograma obtenidos para la enzima fumarato hidratasa.

Cabe señalar que en la expresión de la enzima fumarasa se ha observado la presencia de bandas artefacto, las cuales por definición son bandas de depósitos de tinción que representan actividad enzimática, pero que no guardan correspondencia con los modelos Mendelianos y bioquímicos. En general suelen estar asociadas a la larga duración del periodo de almacenamiento de los extractos y a las condiciones en las que se practican la electroforesis. En ambos casos, la actividad de la enzima se ve afectada (May, 1992). En la Fig. 61 las bandas artefacto se encuentran representadas mediante una línea discontinua.

8.3.2.5. Fosfoglucoisomerasa (*PGI**)

La PGI pertenece al grupo de las enzimas isomerasas. Está descrita como un dímero con un locus (Richardson *et al.* 1986). Sin embargo, se sugiere que para la mayoría de los teleósteos esta enzima está codificada por dos loci separados (Coppes, 1986). Es ubicua en su distribución filogenética, siendo por eso de gran utilidad. Se observaron dos loci en *Diplodus puntazzo* (Basaglia *et al.* 1990) y *D. sargus sargus* (Alarcón & Álvarez, 1999, Lenfant & Planes, 1996; Reina *et al.*, 1994).

La mejor resolución se ha verificado con el tampón TC/LB utilizando extractos de músculo. Se han identificado dos zonas de actividad moderada que se han interpretado como dos loci diferentes *PGI-1** y *PGI-2**. El locus *GPI-1** se ha detectado muy próximo al origen, mientras que el *PGI-2** lo ha sido cerca del ánodo. El locus *GPI-2** ha presentado variaciones de modo que se han detectado los alelos *95 y *100 (Fig. 62). Los heterocigotos observados han presentado un patrón de tres bandas que es típico de una estructura dimérica. Dado que el zimograma obtenido para el locus *PGI-1** no se ha podido interpretar con exactitud, se ha considerado oportuno descartar este locus en el análisis de los datos.

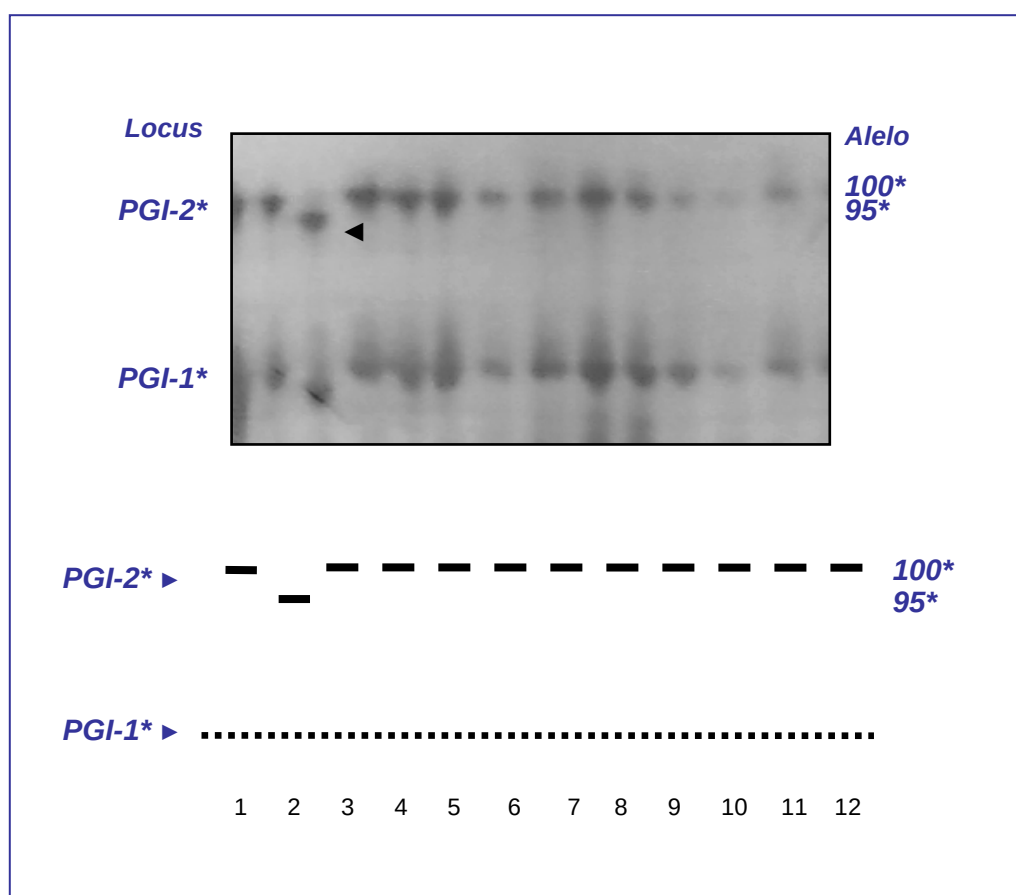


Figura 62 - Fotografía e interpretación del zimograma obtenido para la enzima fosfogluco isomerasa.

8.3.2.6. L-Iditol deshidrogenasa (*IDDH**)

Enzima de estructura tetramérica, con un locus descrito, que pertenece al grupo de las óxido-reductasas (Richardson *et al.*, 1986). Ha sido identificada para varias especies de espáridos (Alarcón & Alvarez, 1999; Reina *et al.*, 1994).

La mejor resolución se ha conseguido con el tampón CTC en extractos de músculo. Se ha identificado una zona de actividad moderada próxima al origen, que se ha interpretado como un solo locus (*IDDH**) invariable.

8.3.2.7. Enzima málica (NADP⁺)

La enzima málica pertenece al grupo de las óxido-reductasas que intervienen en el Ciclo de Krebs. Se ha descrito como un tetrámero con dos locus, normalmente con sólo uno demostrable. En algunos taxones (e.g. Harris & Hopkinson, 1976) esta enzima exhibe un complejo patrón de bandas que no representa el producto isoenzimático de un único alelo. Además, en muchos casos el patrón de bandas de un locus particular llega a variar entre tejidos (Richardson *et al.*, 1986). En la subespecie *Diplodus sargus sargus* se identificaron dos loci (Alarcón & Alvarez, 1999; Reina *et al.*, 1994).

La mejor resolución se ha obtenido con el tampón CTC utilizando extractos de músculo. Se han observado dos zonas de actividad anódica moderada, próximas al origen, que se han interpretado como la expresión de dos loci *MEP-1** e *MEP-2**. Ambos loci resultaron ser monomórficos (Fig.63).

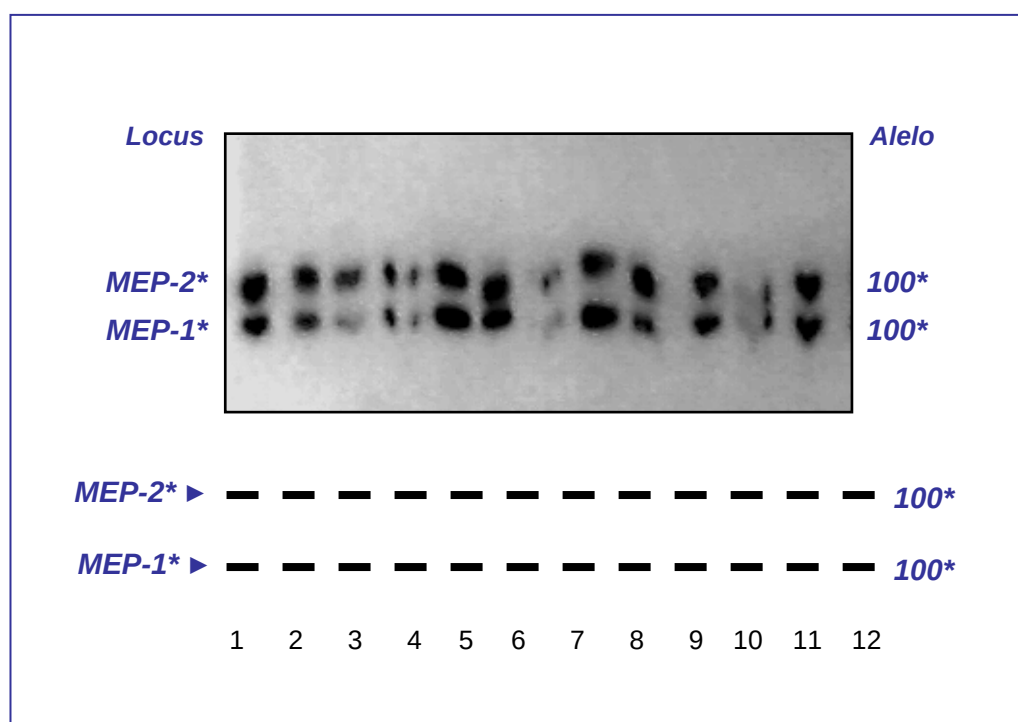


Figura 63 - Fotografía e interpretación del zimograma obtenido para la enzima málica.

8.3.2.8. Isocitrato deshidrogenasa (*IDHP**)

La IDHP es una óxido-reductasa de estructura dimérica que presenta dos loci. Estudios de localización subcelular han demostrado que en los vertebrados algunas enzimas, donde se incluye la IDHP, poseen formas separadas en el citoplasma y en las mitocondrias (Richardson *et al.*, 1986). Varios autores han identificado un locus para *Diplodus sargus sargus* (Alarcón & Álvarez, 1999; Lenfant & Planes, 1996; Reina *et al.*, 1994)

La mejor resolución se ha obtenido con el tampón AC utilizando extractos de músculo. Se ha visualizado una única zona de actividad anódica, que se ha interpretado como la expresión de un locus (*IDHP**). Se han descrito dos alelos, *100 y *160, y los heterocigotos han presentado un patrón de tres bandas que es característico de un dímero (Fig.64).

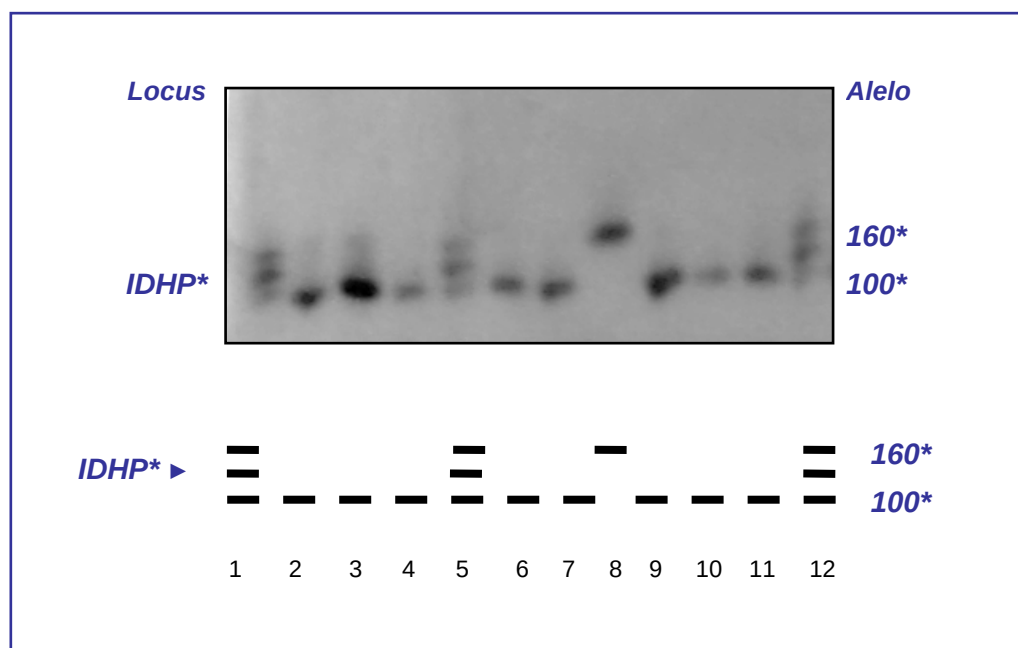


Figura 64 - Fotografía e interpretación del zimograma obtenido para la enzima isocitrato deshidrogenasa.

8.3.2.9. L-Lactato deshidrogenasa (*LDH**)

Enzima tetramérica que pertenece al grupo de las óxido-reductasas. Se han identificado dos loci para la mayoría de los vertebrados (Richardson *et al.*, 1986). En los peces teleósteos, la LDH está codificada para tres loci, con dos de ellos expresándose en la mayor parte de los tejidos (Basaglia, 1991). Al igual que otras enzimas exhibe un patrón específico de la especie, identificándose en diferentes espáridos (Alarcón & Álvarez, 1999; Lenfant & Planes, 1996; Reina *et al.*, 1994; Basaglia, 1991; Basaglia *et al.*, 1990).

La mejor resolución se ha verificado para el tampón AC con los extractos de músculo y ojo. En tejido muscular se ha identificado una zona de actividad intensa próxima al origen, que se ha interpretado como la expresión de un solo locus, *LDH-1** (Fig. 65).

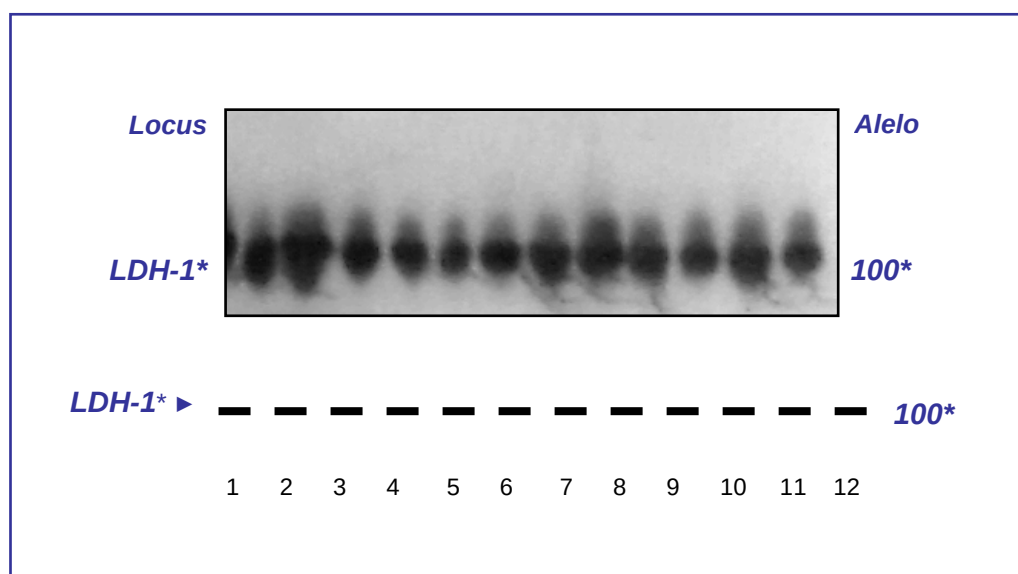


Figura 65 - Fotografía e interpretación del zimograma obtenido para la enzima lactato deshidrogenasa en tejido muscular.

En el tejido ocular se han observado tres zonas de actividad muy intensa, que se han interpretado como la expresión de dos loci monomórficos, *LDH-1** y *LDH-2**. El locus *LDH-1** se ha visualizado muy cerca del origen y corresponde al mismo que se observa en el tejido de músculo. Al igual que el anterior, también el locus

8.3.2.10. Malato deshidrogenasa (*MDH**)

La enzima MDH pertenece al grupo de las óxido-reductasas, su estructura cuaternaria se corresponde con una proteína dimérica. En la célula se encuentra en el citoplasma y mitocondrias, actuando en el Ciclo de Krebs. Están descritos dos loci para esta enzima (Richardson *et al.*, 1986). Varios estudios identifican esta enzima en espáridos (Arculeo *et al.*, 2003; Alarcón & Álvarez, 1999; Lenfant & Planes, 1996; Reina *et al.*, 1994; Basaglia *et al.*, 1990)

La mejor resolución se ha obtenido con el tampón AC en extractos de ojo. Se ha observado una zona de actividad moderada en el ánodo, que ha sido interpretada como la expresión de un locus (*MDH**). Se han detectado dos alelos distintos, *50** y *100**, y los heterocigotos han presentado un patrón de tres bandas, que corresponde a la estructura típica de un dímero (Fig.67).

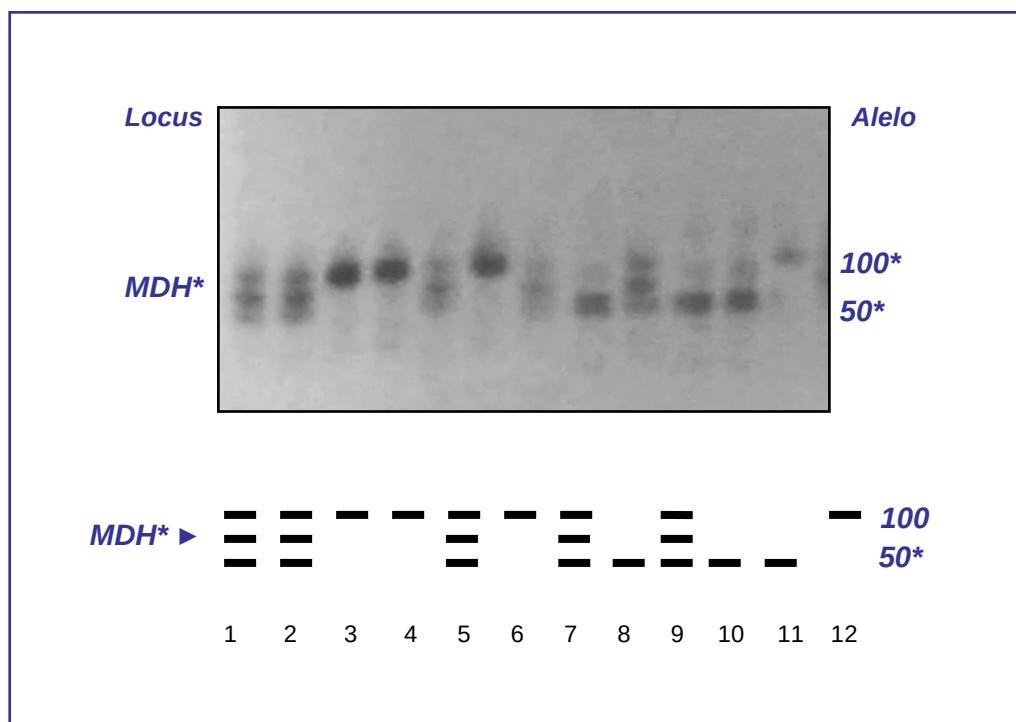


Figura 67 - Fotografía e interpretación del zimograma obtenido para la enzima malato deshidrogenasa.

8.3.2.11. Superóxido dismutasa (SOD*)

La SOD pertenece al grupo de las óxido-reductasas y presenta una estructura dimérica con dos loci descritos (Richardson *et al.*, 1986). Algunos autores la identifican en *Diplodus sargus sargus* (Alarcón & Álvarez, 1999; Reina *et al.*, 1994).

La mejor resolución se ha conseguido con el tampón AC utilizando extractos de músculo. Se han detectado dos zonas de actividad moderada en el ánodo que se han interpretado como la expresión de dos loci, *SOD-1** y *SOD-2**.

En la Tabla 31 se resumen los tampones y tejidos utilizados para los cuales se obtuvo la mejor actividad y resolución. Para el análisis genético de las poblaciones de *Diplodus sargus cadenati* se han considerado 11 enzimas, que han codificado un total de 15 loci: *MEP-1**, *MEP-2**, *EST-1**, *EST-2**, *PGM**, *PGDH**, *FH**, *GPI-2**, *IDDH**, *IDHP**, *LDH-1**, *LDH-2**, *MDH**, *SOD-1** y *SOD-2**.

Tabla 31 - Resumen de las tinciones enzimáticas utilizadas para el estudio genético de *Diplodus sargus cadenati*. Se indica el nº de la Comisión Enzimática (nº C.E.), los loci detectados, el tampón y el tejido donde se ha obtenido la mejor resolución. Tampón: Morfolina citrato (1), TC/BI (2), CTC (3); Tejido: Músculo (m), Ojo (o).

Enzima	nº C.E.	Locus	Tampón	Tejido	Polimórfico
Enzima Málica (NADP*)	1.1.1.40.	MEP-1*	3	m	No
		MEP-2*	3	m	No
Esterasa	3.1.1.-.	EST-1*	2	m	Sí
		EST-2*	2	m	Sí
Fosfoglucomutasa	5.4.2.2.	PGM*	2	m	Sí
Fosfogluconato deshidrogeanasa	1.1.1.44.	PGDH*	3	m	Sí
Fumarato hidratasa	4.2.1.2.	FH*	1	m	Sí
Glucosa-6-fosfato-isomerasa	5.3.1.9.	GPI-2*	2	m	Sí
L-Iditol deshidrogenasa	1.1.1.14.	IDDH*	3	m	No
Isocitrato deshidrogenasa	1.1.1.42.	IDHP*	1	m	Sí
L-Lactato deshidrogenasa	1.1.1.27.	LDH-1*	1	m o	No
		LDH-2*	1	m	No
Malato deshidrogenasa	1.1.1.37.	MDH*	1	m, o	Sí
Superóxido dismutasa	1.15.11.	SOD-1*	1	m	No
		SOD-2*	1	m	No

8.3.3. Variabilidad genética

De los 15 loci utilizados, 7 han resultado monomórficos para todas las muestras: *MEP-1**, *MEP-2**, *IDDH**, *LDH-1**, *LDH-2**, *SOD-1**, y *SOD-2**. Los demás loci han presentado variación en al menos una de las muestras consideradas: *EST-1**, *EST-2**, *PGM**, *PGDH**, *FH**, *GPI-2**, *IDHP** y *MDH**. En la Tabla 32 se resumen las frecuencias alélicas observadas para todos los loci polimórficos en la totalidad de muestras. Para la mayoría de los loci variables, el alelo más común ha presentado una frecuencia inferior al 0,95. En el locus *PGM** se ha verificado que el intervalo de frecuencia para este alelo varía entre los valores de 0,700 (La Palma) y 0,833 (Tenerife), mientras que para el locus *IDHP** estos se han situado entre 0,781 (Tenerife) y 0,890 (Lanzarote). Similarmente, para el locus *PGDH** los valores de frecuencia han oscilado entre 0,830 (Gran Canaria) y 0,904 (La Palma). Teniendo en cuenta los resultados, estos loci se han considerado altamente polimórficos. Los dos restantes, *FH** y *MDH**, han presentado valores de frecuencia más bajos que los anteriores, por lo que se han considerado los más altamente polimórficos del total de loci variables. En el locus *FH**, el intervalo de frecuencias ha oscilado entre 0,533 (La Palma) y 0,700 (Tenerife), mientras que para el locus *MDH** este se ha verificado entre 0,667 (Tenerife) y 0,745 (La Palma).

Sin embargo, para los loci *EST-1** y *EST-2** el alelo más común ha presentado una frecuencia superior al 0,95. Esto también se ha verificado para el locus *GPI-2** en las muestras de La Palma y Tenerife, pero no en las muestras de Gran Canaria y Lanzarote, ya que para estas la frecuencia del alelo más común ha presentado valores ligeramente inferiores, 0,939 y 0,940 respectivamente. Para estas dos muestras, también este locus se ha considerado polimórfico.

En resumen se han considerado loci altamente polimórficos en todas las muestras: *FH**, *MDH**, *PGM**, *IDHP**, y *PGDH**. Estos se han utilizado como indicadores genéticos útiles en el análisis de *Diplodus sargus cadenati*.

Tabla 32 - Frecuencias alélicas observadas para todos los loci polimórficos en las muestras analizadas (nº individuos analizados entre paréntesis).

Locus/Alelo	Gran Canaria	La Palma	Lanzarote	Tenerife
<i>FH*</i>	(42)	(46)	(43)	(10)
<i>*100</i>	0,595	0,533	0,557	0,700
<i>*200</i>	0,405	0,467	0,443	0,300
<i>PGM*</i>	(50)	(50)	(50)	(12)
<i>*100</i>	0,730	0,700	0,710	0,833
<i>*70</i>	0,250	0,250	0,290	0,167
<i>*30</i>	0,000	0,020	0,000	0,000
<i>*115</i>	0,020	0,020	0,000	0,000
<i>*130</i>	0,000	0,010	0,000	0,000
<i>MDH*</i>	(50)	(49)	(49)	(15)
<i>*100</i>	0,670	0,745	0,690	0,667
<i>*50</i>	0,330	0,255	0,310	0,333
<i>PGDH*</i>	(47)	(48)	(47)	(15)
<i>*100</i>	0,830	0,904	0,894	0,900
<i>*75</i>	0,170	0,094	0,106	0,100
<i>IDHP*</i>	(50)	(48)	(50)	(15)
<i>*100</i>	0,830	0,885	0,890	0,781
<i>*160</i>	0,170	0,115	0,110	0,219
<i>EST-1*</i>	(50)	(50)	(50)	(15)
<i>*100</i>	1,000	0,990	1,000	1,000
<i>*105</i>	0,000	0,010	0,000	0,000
<i>EST-2*</i>	(50)	(50)	(49)	(15)
<i>*100</i>	0,990	0,990	0,990	1,000
<i>*105</i>	0,010	0,010	0,010	0,000
<i>GPI-2*</i>	(49)	(50)	(50)	(14)
<i>*100</i>	0,939	0,980	0,940	1,000
<i>*95</i>	0,061	0,020	0,060	0,000

Por otro lado, cabe referir que se ha observado la presencia de alelos “exclusivos” en una de las muestras consideradas. En concreto, se ha verificado que para el locus *PGM**, los alelos **30* y **130* sólo se han detectado en los individuos procedentes de isla de La Palma. Lo mismo se ha apreciado para el alelo **105* correspondiente al locus *EST-1**. Aunque la presencia de este tipo de alelos constituye una herramienta importante en la caracterización de la estructura genética de las poblaciones, los resultados hallados para estos loci están condicionados por los bajos valores de las frecuencias alélicas, tal como se puede observar en la Tabla 32. Además, es de suponer la presencia de los mismos en otras islas si se amplía el tamaño muestral.

El nivel de variabilidad genética de esta especie se ha estimado a partir del porcentaje de loci polimórficos y del valor heterozigocidad calculados para el total de muestras analizadas (Tabla 33). Sin utilizar ningún criterio, se ha verificado que el porcentaje de loci polimórfico se sitúa en el intervalo 33,33 – 53,33%. El valor más bajo se ha obtenido para Tenerife (33,33%) y el más alto se verificado para La Palma (53,33%). Las demás muestras, Gran Canaria y Lanzarote, han presentado igual valor de polimorfismo (50%). Al utilizar el criterio del 95% se ha verificado una disminución del porcentaje de loci polimórficos, obteniéndose valores del 33,33% para La Palma y Tenerife, y del 40,00% para Gran Canaria y Lanzarote. El número medio de alelos *per* loci ha sido alto, variando entre 1,33% (Tenerife) y 1,73% (La Palma). El valor de heterozigocidad media observada para todas las muestras ha estado en $0,111 \pm 0,043$, oscilando entre 0,087 (Tenerife) y 0,127 (Gran Canaria). El valor de heterozigocidad media esperada para todas las muestras ha estado en $0,124 \pm 0,045$, situándose entre 0,117 (Tenerife) y 0,137 (Gran Canaria).

Tabla 33 - Parámetros de diversidad genética estimados para las muestras (N: número de individuos analizados, A: número medio de alelos por locus, P: tanto por ciento de loci polimórfico, He: heterocigosidad esperada, Ho: heterocigosidad observada, s.e.: error estándar).

Muestra	N	A	P (%)	P 0.05(%)	Ho $\pm$ s.e	He $\pm$ s.e
Gran Canaria	48	1,53	46,67	40,00	0,127 $\pm$ 0,047	0,137 $\pm$ 0,049
La Palma	46	1,73	53,33	33,33	0,119 $\pm$ 0,048	0,120 $\pm$ 0,047
Lanzarote	44	1,47	46,67	40,00	0,114 $\pm$ 0,043	0,125 $\pm$ 0,047
Tenerife	10	1,33	33,33	33, 33	0,087 $\pm$ 0,036	0,117 $\pm$ 0,047
Media	37	1,51	45,00	36,66	0,111 $\pm$.043	0,124 $\pm$ 0,045

Finalmente, para verificar la homogeneidad de cada una de las muestras estudiadas se han comparado las frecuencias genotípicas observadas con las esperadas en el Equilibrio de Hardy-Weinberg. Los resultados obtenidos no han indicado diferencias significativas, ni un exceso o déficit significativo de heterocigotos, para ningún de los loci analizados (Tabla 34). Luego, en este caso, la

distribución genotípica verificada para cada loci polimórfico ha estado de acuerdo con los valores esperados en el Equilibrio.

Tabla 34- Test de probabilidades exactas para el ajuste al Equilibrio de Hardy-Weinberg por locus y por islas (método de Fisher) –significativo: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. - TF: Tenerife; ns: no significativo (*Test de Bonferroni*, $p < 0,00625$).

Locus	Gran Canaria	La Palma	Lanzarote	Tenerife	Total sin TF	Total
<i>FH*</i>	1,000	1,000	0,219	0,130	0,380	0,230
<i>PGM*</i>	0,731	1,000	0,512	0,248	0,692	1,000
<i>MDH*</i>	0,752	1,000	0,507	1,000	0,557	0,460
<i>PGDH*</i>	0,105	0,338	0,066	1,000	0,008** ns	0,012* ns
<i>IDHP*</i>	1,000	0,475	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>EST-1*</i>	-	1,000	-	-	1,000	1,000
<i>EST-2*</i>	1,000	1,000	1,000	-	1,000	1,000
<i>GPI-2*</i>	0,150	1,000	1,000	-	0,274	0,253
<i>Fisher</i>	0,623	0,224	0,515	0,747	-	0,018*
<i>Fisher sin PGDH</i>	-	-	-	-	-	0,060

Sin embargo, al realizar el análisis para el total de las muestras agrupadas se han observado diferencias significativas en el locus *PGDH** ($P=0,012$) (Tabla 34). Para verificar que este resultado no se debía a una distorsión de los datos por el bajo tamaño muestral de la isla de Tenerife, se realizó un segundo análisis excluyendo esta isla. Los resultados obtenidos nuevamente indicaron diferencias significativas para el mismo locus ($P=0,008$). Al realizar un análisis global entre muestras (método de Fisher) se confirmaron los resultados anteriormente obtenidos, verificándose que las muestras por separado se encontraban en Equilibrio para todos los loci, y que en su conjunto no lo estaban para el locus *PGDH** ($P=0,018$). El valor de probabilidad obtenido para este locus fue de 0,0123, el cual ha indicado una deficiencia de heterocigotos. De hecho, al eliminar este locus del análisis, se ha verificado que el total las muestras se encontraban en el Equilibrio ($P=0,060$). (Tabla 34).

A continuación, se utilizó la corrección de Bonferroni (Rice, 1989) para determinar el nivel de significación en los múltiples tests realizados sobre el conjunto de datos. Los resultados obtenidos no han indicado valores significativos en ninguno de los análisis realizados. Además, para el locus *PGDH** se han observado valores no significativos en la totalidad de las muestras ($P=0,008$ Total sin Tenerife; $P=0,0012$ Total; *Test de Bonferroni*, $p<0,00625$). Teniendo en cuenta estos resultados, se ha considerado que el total de las muestras se encontraba en Equilibrio.

8.3.4. Diferenciación genética entre las muestras

Al comparar las frecuencias alélicas de todas las muestras con un análisis de contingencia χ^2 , no se han encontrado diferencias significativas para ninguno de los loci considerados (Tabla 35). Estas tampoco se han verificado para el conjunto total de loci ($P=0,685$).

Tabla 35 - Análisis de Contingencia de Chi-Cuadrado para todos los loci aplicado al total de muestras. significativo: * $p<0,05$

Locus	Nº Alelos	χ^2	g.l.	P
<i>FH*</i>	2	2,185	3	0,535
<i>PGM*</i>	5	10,935	12	0,534
<i>MDH*</i>	2	1,565	3	0,667
<i>PGDH*</i>	2	3,124	3	0,372
<i>IDHP*</i>	2	4,150	3	0,245
<i>EST-1*</i>	2	2,307	3	0,511
<i>EST-2*</i>	2	0,303	3	0,959
<i>GPI-2*</i>	2	4,042	3	0,256
Totales	-	28,610	33	0,685

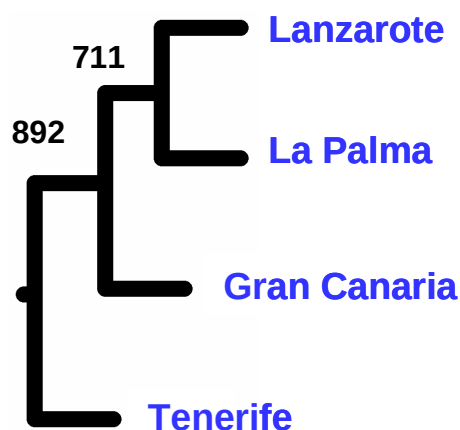
Igualmente, se ha calculado la distancia genética entre las muestras, utilizando diferentes índices. Para el índice de distancia genética de Nei (1972), los valores obtenidos entre los pares de muestras analizados han oscilado entre 0,0005 y 0,0043 (Tabla 36). El valor más bajo se ha observado entre las muestras de La

Palma y Lanzarote ($D= 0,0005$), mientras que el valor más alto se ha verificado entre La Palma y Tenerife ($D= 0,0043$). En general, las agrupaciones realizadas entre Tenerife y las demás muestras han presentado los valores más elevados. La representación gráfica de las distancias, utilizando el algoritmo UPGMA (Fig.68), ha demostrado una separación geográfica de la muestra de Tenerife, con respecto a las demás. Para este caso, el valor de bootstrap obtenido han sido elevado ($n= 892$), lo que indica una fuerte robustez de las asociaciones realizadas. Las restantes muestras no han presentado un patrón geográfico muy demarcado, confirmado por el valor de bootstrap obtenido ($n=711$).

Tabla 36 - Matriz de distancias genéticas entre todas las muestras, utilizando como Índice la distancia de Nei (1972) (debajo de la diagonal) y la distancia de cuerda de Cavalli-Sforza y Edwards (1967) (sobre la diagonal).

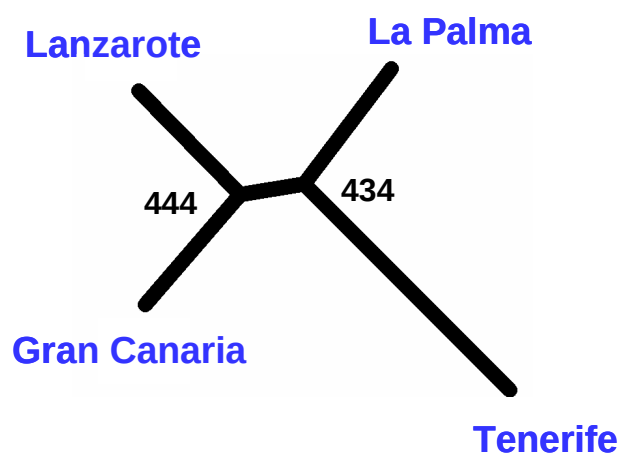
Muestra	Gran Canaria	La Palma	Lanzarote	Tenerife
Gran Canaria	*****	0,0152	0,0072	0,0242
La Palma	0,0015	*****	0,0144	0,0301
Lanzarote	0,0008	0,0005	*****	0,0255
Tenerife	0,0022	0,0043	0,004	*****

Para el índice de distancia de cuerda de Cavalli-Sforza y Edwards (1967) los valores obtenidos entre los pares de muestras han oscilado entre 0,0072 y 0,0301 (Tabla 36). El valor más bajo se ha observado entre las muestras de Gran Canaria y Lanzarote (0,0072), mientras que el más elevado se ha verificado entre Tenerife y La Palma (0,0301). También en este caso, los valores más altos se han obtenido para las asociaciones entre Tenerife y las demás muestras. En la representación gráfica de las distancias, utilizando el algoritmo Neighbor-Joining (Fig.69), no se ha observado un patrón geográfico claro. Se ha verificado una ligera proximidad geográfica entre Lanzarote y Gran Canaria, con respecto a La Palma, aunque el valor de bootstrap obtenido haya sido bajo ($n=444$).



0.0021

Figura 68 - Representación gráfica de la distancia genética de Nei (1972) entre las áreas para *Diploodus sargus cadenati*, utilizando el algoritmo de UPGMA. Los valores de las bifurcaciones indican la frecuencia de asociación después de 1000 réplicas.



0.00025

Figura 69 - Representación gráfica de la distancia de cuerda de Cavalli-Sforza y Edwards (1967) entre las áreas para *Diploodus sargus cadenati*, utilizando el algoritmo de Neighbour-Joining. Los valores de las bifurcaciones indican la frecuencia de asociación después de 1000 réplicas.

Por otro lado, se ha realizado el análisis de la diferenciación genética entre todas las muestras mediante un estadístico F , y los valores obtenidos se encuentran resumidos en la Tabla 38. Para la diferenciación intra-poblacional (F_{IS}) se ha observado un valor medio de 0,086, mientras que para la diferenciación inter-poblacional (F_{ST}) este valor ha sido 0,013. Luego, la diferenciación genética total media (F_{IT}) ha sido 0,097. Este valor es explicado mayoritariamente por las diferencias que se verifican dentro de las muestras analizadas, o sea, estas representan cerca de un 9% de la diferenciación genética total.

Tabla 37 - Análisis de diferenciación genética en la totalidad de las muestras mediante un resumen del estadístico F para todos los loci.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
<i>FH*</i>	0,175	0,189	0,017
<i>PGM*</i>	0,022	0,034	0,013
<i>MDH*</i>	0,063	0,067	0,005
<i>PGDH*</i>	0,166	0,173	0,009
<i>IDHP*</i>	- 0,002	0,017	0,019
<i>EST-1*</i>	- 0,010	-0,003	0,008
<i>EST-2*</i>	- 0,010	-0,008	0,003
<i>GPI-2*</i>	0,095	0,113	0,020
Totales	0,086	0,097	0,013

También se ha utilizado el valor (por pares) de F_{ST} (Tabla 38) con la misma finalidad. Los resultados obtenidos han oscilado entre -0,071 y 0,006. El valor más bajo se ha verificado entre La Palma y Lanzarote ($F_{ST} = -0,071$), mientras que el más alto se ha observado entre La Palma y Tenerife ($F_{ST} = 0,006$). Igualmente en este caso, los valores más elevados se observaron para las agrupaciones realizadas con la muestra de Tenerife. Los resultados obtenidos mediante el estadístico F han coincidido con los observados para las distancias genéticas (Tablas 36, 38). En general, los valores hallados para las distintas agrupaciones han sido bajos, lo que ha demostrado la reducida diferenciación genética entre las muestras. Cabe señalar

que, los valores negativos de F_{ST} representan diferencias muy pequeñas, por lo que suelen ser considerados iguales a cero.

Tabla 38 - . Valores de F_{ST} (debajo) y estimación del flujo genético, N_m (arriba) entre las diferentes muestras estudiadas – Número ilimitado: *.

Muestra	Gran Canaria	La Palma	Lanzarote	Tenerife
Gran Canaria	----	*	*	*
La Palma	0.000	----	*	38,211
Lanzarote	- 0.006	- 0.007	----	249,750
Tenerife	- 0.011	0.006	0.001	----

Por otro lado, mediante el estadístico F se ha estimado el número de migrantes por generación (N_m). En general, los resultados han revelado un elevado flujo genético entre islas (Tabla 38). El valor hallado entre la muestra de Tenerife y Lanzarote ha sido elevado ($N_m=249,75$), pero inferior entre ésta y La Palma ($N_m=38,211$). Cabe referir que los espacios señalados con asterisco corresponden a valores de N_m negativos, que tienen como significado un número ilimitado de migrantes entre islas.

8.4. Discusión

El nivel de variabilidad genética encontrada para *Diplodus sargus cadenati* es similar a otros resultados descritos para especies de la misma familia (Taniguchi & Sugama, 1990; Lenfant & Planes, 1996; Arcuelo *et al.*, 2003). Esta variabilidad es explicada por el número de loci polimórficos encontrados, un total de 9 sobre 16 loci detectados. Además, la mayoría de estos se han considerado loci altamente polimórficos (FH^* , PGM^* , $IDHP^*$, MDH^* , $PGDH^*$), ya que la frecuencia de su alelo más común ha sido inferior al 95% para la totalidad de las muestras. Igualmente, el número de alelos *per* loci detectado ha sido alto (1,38-1,81), consecuencia de los loci monomórficos encontrados (sólo 7) y de los alelos presentados en algunos de los loci polimórficos (ej. 5 alelos para la PGM^*).

Por otro lado, la diversidad genética también se refleja en los valores de porcentaje de loci polimórficos. Al comparar las diferentes muestras, se ha verificado que estos son elevados ($P = 33,33-53,33\%$). El valor más bajo se ha observado para Tenerife, aunque es atribuible al reducido tamaño de la muestra ($n = 10$). Sin embargo, al utilizar el criterio del 95% los valores disminuyeron, oscilando entre 33,33 y 40,00%. Estos resultados fueron muy similares para todas las muestras, ya que este criterio no considera los alelos raros. Asimismo, la heterocigocidad media esperada fue elevada (0,124), y superior a algunos de los valores descritos en la bibliografía. Por ejemplo, Smith & Fujio (1982) obtuvieron una heterocigocidad media esperada de 0,055 en 106 especies diferentes, un valor similar al 0,058 estimado previamente por Powel (1975) para 31 especies marinas. Sin embargo, en la familia Sparidae se han obtenido valores de heterocigocidad más elevados, concretamente 0,082 (Smith *et al.*, 1978) y 0,066 (Taniguchi & Okada, 1980). Estudios más recientes han estimado valores de 0,144 y 0,093 para las especies *Diplodus sargus sargus* y *D. vulgaris*, respectivamente (Lenfant & Planes, 1996; Arcuelo *et al.*, 2003). Estos últimos bastante más próximos a los obtenidos en el presente estudio. Así, la variabilidad genética encontrada para el sargo es similar a otras especies de la misma familia, pero superior a la descrita para los peces en general.

En el estudio no se han observado desviaciones en el equilibrio de Hardy-Weinberg, lo que indica una homogeneidad genética de las muestras. Por otro lado, la comparación de las frecuencias alélicas fue no significativa, con lo cual se puede considerar la misma frecuencia alélica para todas las muestras. Además, el valor de F_{ST} fue bajo y no significativo, al igual que los valores obtenidos para las distancias genéticas de Nei (1972) y Cavalli-Sforza & Edwards (1967), pero contrastando con los valores obtenidos para el cálculo del número de migrantes (N_m). Es importante referir que las agrupaciones realizadas con la muestra de Tenerife fueron las que presentaron los valores más elevados, y que en la representación gráfica esta se separa claramente de las demás. Sin embargo, estos resultados deben ser analizados con precaución, ya que hay que tener en cuenta el reducido tamaño de la muestra y que, en ocasiones, fue imposible determinar con exactitud los alelos

correspondientes a algunos individuos. De todos modos, estos resultados carecen de soporte estadístico. Es decir, en ningún momento se han observado diferencias significativas para el conjunto total de las muestras. Finalmente, los resultados indican que la población de *Diplodus sargus cadenati* no presenta una subestructuración espacial en islas, y que se trata de una única población panmíctica en el Archipiélago.

En general, los teleósteos marinos suelen exhibir homogeneidad aloenzimática entre poblaciones geográficamente separadas (e.g. Pla & Pujolar, 1999). La limitada subestructuración genética encontrada en muchas de las especies pelágicas está relacionada con el elevado flujo genético que existe entre las poblaciones marinas, ya que, en general, el ambiente marino no suele suponer una barrera real para el desplazamiento de determinadas fases de desarrollo de los peces (Gyllensten, 1985; Ward *et al.*, 1994). Sin embargo, existen determinadas características físicas que pueden condicionar el flujo genético entre poblaciones. Algunas pueden llegar a constituir barreras infranqueables que dan lugar al aislamiento genético entre poblaciones, permitiendo explicar incluso fenómenos de especiación (Guerra-Sierra y Sánchez-Lizaso, 1998). A este último aspecto también se asocian fenómenos de aislamiento reproductivo, ya sea a través de diferencias en la época de puesta, reconocimiento de la pareja, tolerancia ambiental o compatibilidad en los gametos (Palumbi citado por Féral, 1994). Es cierto que cuando las poblaciones se desarrollan bajo estas circunstancias, sus frecuencias alélicas comienzan a diverger debido a la deriva genética y a la presión local de adaptación que actúan sobre el polimorfismo y las nuevas mutaciones. La cantidad de divergencia aumenta con el tiempo de separación de las poblaciones (Castro *et al.*, 2002b). Es evidente que la diferenciación genética sólo ocurre cuando el flujo genético entre poblaciones está de alguna forma restringido. En el medio marino, la estructuración genética parece estar relacionada con limitaciones geográficas y ecológicas, tales como la capacidad de dispersión, la partición del nicho o la adaptación local (Palumbi, 1994). Recientemente, otros aspectos que se han venido considerando son los procesos que controlan la distribución geográfica de las especies y los fenómenos físicos que han llevado algunas especies a colonizar diferentes áreas geográficas (Borsa *et al.*, 1997).

Diversos estudios han permitido constatar diferencias genéticas entre poblaciones del Atlántico y el Mediterráneo, como es el caso de *Sepia officinalis* (Pérez Losada *et al.*, 1999; 2002), *Mytilus galloprovincialis* (Quesada *et al.*, 1995), y *Tripterygion delaisi* (Domingues *et al.*, en prensa), o entre poblaciones pertenecientes a archipiélagos macaronésicos, como *Beryx splendens* (Schönhuth *et al.*, 2005) y *Chromis limbata* (Domínguez *et al.*, 2006). En la familia Sparidae se han observado diferentes patrones de distribución de la variación genética a escala geográfica. En este sentido, Taniguchi & Sugama (1990) han comparado mediante aloenzimas varias muestras de *Pagrus major* obtenidas en aguas de Japón y Este del Mar de China. Estos autores observaron que ambas poblaciones eran genéticamente diferentes, hecho que fue atribuido a la distancia geográfica que separa las dos regiones. De la misma manera, Lenfant & Planes (1996) han encontrado diferencias genéticas al comparar cinco muestras de *Diplodus sargus sargus* procedentes del Mediterráneo. La heterogeneidad encontrada parece ser debida por un lado, al uso de individuos procedentes de una reserva marina, y por otro, a las características costeras de una de las zonas estudiadas, que limitarían la migración de individuos adultos y dificultarían el intercambio de larvas. Resultados similares han sido obtenidos por González-Wangüement *et al.* (2004) para la misma subespecie. Estos autores sugieren que la diferenciación genética observada es debida a la dispersión larvaria y al sistema de corrientes que se verifica en el Mediterráneo. También Arculeo *et al.* (2003) han encontrado una subestructuración genética entre muestras de *Diplodus vulgaris* para la misma zona geográfica. Estos resultados están relacionados con características oceanográficas peculiares, que parecen influenciar la distribución de las frecuencias alélicas de esta especie. Asimismo, Bargellonni *et al.* (2003, 2005) han constatado una discontinuidad genética entre el Mediterráneo y el Atlántico, para cuatro especies de espáridos. También González-Wangüement *et al.* (2006) lo han verificado en las subespecies *Diplodus sargus sargus* y *Diplodus sargus cadenati*, observándose un reducido flujo genético entre poblaciones debido a las diferencias ecológicas presentes a ambos lados del Estrecho de Gibraltar. Finalmente, Stockley *et al.* (2005) al utilizar secuencias del DNA también observado diferenciación genética para *Pagellus bogaraveo* en la región noreste Atlántico.

Estudios recientes se han dedicado al análisis de diferencias genéticas a escala microgeográfica, atribuibles a las variaciones temporales en la composición genética de los reclutas (e.g. Lenfant & Planes, 2002). Planes & Lenfant (2002) observaron variaciones significativas en la estructura de la población de *Diplodus sargus sargus* durante cortos períodos de tiempo (un año, entre o dentro cohortes). Estos resultados fueron explicados en base a la variación del éxito reproductivo individual y la subsiguiente acción de la deriva genética. Olsen *et al.* (2002) también hace hincapié a este aspecto en su estudio de la variabilidad genética de la especie *Theragra chalcogramma*.

Un factor responsable del flujo genético es la migración o desplazamientos de individuos entre poblaciones establecidas o del establecimiento de poblaciones enteras (Féral, 2002). Leary & Booke (1990) apuntan que una tasa de migración media de un solo individuo por generación entre dos poblaciones previene que ambas sean completamente divergentes para alelos selectivamente neutrales en cualquier loci. Este modelo indica que el flujo genético es un recurso poderoso en la homogeneización de subpoblaciones, incluso cuando se utiliza un pequeño número de individuos migrantes (Planes, 2000). Sin embargo, las frecuencias alélicas sólo son afectadas por la migración cuando los individuos migrantes poseen diferente genotipo y se entrecruzan con la población residente (Féral, 2002). Aunque *D. sargus* suele ser un nadador activo, la extensión de los movimientos es prácticamente desconocida. No obstante, es probable que los individuos adultos realicen grandes migraciones y que, ocasionalmente, se aprovechen de bancos submarinos, comportamientos que facilitarían la homogeneización genética (Domingues *et al.*, en prensa). Otro factor que contribuye a este efecto es el transporte activo o pasivo de huevos pelágicos y larvas (Borsa *et al.*, 1997). En muchas especies marinas, el largo rango de distribución de los estadios larvarios y la elevada fecundidad están asociados con un flujo genético a gran distancia, en el que la estructura de la población puede ser del orden de cientos de kilómetros (Ward *et al.*, 1994). En la subespecie *Diplodus sargus sargus* se ha observado que los huevos están presentes en aguas superficiales, a profundidades del orden de los 5 m (Marinero citado por Lenfant & Planes, 1996), y que las larvas pueden permanecer en mar abierto entre 3 a 4 semanas hasta que encuentren sitios favorables para

reclutarse a la fase bento-demersal (Lenfant & Planes, 1996). Con esta perspectiva, cualquier evento biótico, meteorológico u oceanográfico que afecte la capacidad de supervivencia de las larvas tiene también el potencial de afectar al reclutamiento (Planes & Lenfant, 2002).

Un comportamiento similar será de esperar también en la subespecie *Diplodus sargus cadenati*, dado que la homogeneidad genética observada parece estar relacionada con características oceanográficas inherentes al Archipiélago, que permiten el flujo genético entre las islas, y entre éstas y el continente africano. Esto está en concordancia con lo observado por Domínguez *et al.* (en prensa) para la misma subespecie, y que revelan la existencia de flujo genético para toda la región de la Macaronesia. Luego, las singularidades insulares facilitan la deriva de huevos y larvas, ya que el desplazamiento de ejemplares adultos puede verse impedido por las grandes profundidades que se verifican entre islas, y entre estas y el continente próximo (entre los 2000 y 3000 m). Una de las características oceanográficas más conocidas es el efecto del afloramiento del noroeste africano en las islas más occidentales (Bas *et al.*, 1995), que da lugar a zonas de gran productividad biológica y permite el intercambio esporádico de huevos, larvas y fases juveniles pelágicas entre el continente y las islas (Rodríguez *et al.*, 1999). Otro aspecto a considerar es la existencia de circunstancias ambientales determinadas, como son los desplazamientos de los frentes térmicos, los cambios de dirección de corrientes, etc., que pueden ocasionar intercambios de individuos entre diferentes áreas geográficas (Cuyás *et al.*, 2004).

Además, se ha observado que algunas especies de peces se asocian a estructuras flotantes (e.g. Castro *et al.*, 2002a), lo que hace suponer que éstas constituyen el medio de transporte idóneo para la dispersión de larvas y juveniles. Es posible que estos mecanismos, u otros similares, faciliten el intercambio de material genético entre las islas y el continente y que, a la vez, propicien el apareamiento y la colonización de nuevas especies. Estudios recientes hacen referencia a la presencia de nuevas especies tropicales y ecuatoriales en las aguas de Canarias (e.g. Castro-Hernández & Martín-Gutiérrez, 2000; Castro & Ramos, 2002, Brito *et al.*, 2005). Sin embargo, el asentamiento de estas especies en las islas

depende en gran medida de sus requerimientos ambientales y de su capacidad de adaptación a nuevas condiciones bioecológicas (e.g. Hernández *et al.*, 2006).

Por otro lado, la homogeneidad genética del conjunto de la población no descarta la posibilidad de que existan diferencias genéticas entre islas, dado que las isoenzimas son marcadores genéticos estables que no cambian ante variaciones ambientales. La técnica de electroforesis puede, en ocasiones, no ser el método más apropiado para estimar diferencias en loci individuales. En general, elevados valores de heterozigocidad y polimorfismo son más evidentes en técnicas que se basan en el análisis de secuencias de ADN, como los microsatélites, minisatélites, etc. (Planes, 2000; Shaklee *et al.*, 1999, otros). Por ello, en estudios futuros es de especial interés la aplicación conjunta de estas técnicas, ya que podrán proporcionar información adicional no disponible en este momento.

9

Discusión General

Las especies de la familia Sparidae ocupan un lugar importante en la actividad pesquera que se realiza en el Archipiélago Canario y constituyen uno de los grupos más intensamente pescados por la flota artesanal de la región (Pajuelo, 1997). Debido a su importancia, innumerables investigaciones han sido dedicadas al estudio de la biología y pesquería de estas especies. En concreto, para *Diplodus sargus cadenati* podemos destacar los trabajos realizados por Santana *et al.* (1986) y Pajuelo & Lorenzo (2002, 2004) que describen los parámetros biológicos de la especie, y los de Castro & Caballero (2004) y Caballero & Castro (1998, 1999) que hacen referencia a su comportamiento. A pesar de ello, el conocimiento sobre la estructura de la población, la dinámica y relación entre posibles stocks insulares siguen siendo aspectos prácticamente desconocidos en las islas. En este sentido, Castro *et al.* (2002b) describen, por vez primera en Canarias, algunos de estos aspectos.

Se sabe que la geomorfología y oceanografía influyen en las características de las aguas costeras, así como en la composición, la distribución espacial y la dinámica temporal de los organismos (Santos *et al.*, 2003). En el caso de Canarias, la singularidad de las condiciones hidrográficas y topográficas se refleja en la distribución espacial de las especies costeras. La presencia de una plataforma insular estrecha y de gran pendiente, típica de islas oceánicas de naturaleza volcánica, delimita los límites espaciales de los peces demersales (e.g. Uiblein *et al.*,

1996; 1998). Con respecto a la composición de la fauna ictiológica insular, también se han descrito sensibles diferencias entre las islas (Brito *et al.*, 1996). En el medio marino, la estructura geográfica de las poblaciones se ve afectada por las condiciones ambientales locales. Su influencia puede ser lo suficientemente importante como para dar lugar a procesos de aislamiento, con la consecuente formación de diferentes poblaciones y/o stocks. En las Islas Canarias, las características geomorfológicas y oceanográficas parecen cumplir con estos requisitos.

Desde un punto de vista histórico, se han utilizado muchos marcadores no genéticos con el propósito de gestionar stocks y de comprender la estructura poblacional y los movimientos de los peces. Estos marcadores están basados en los análisis de las estructuras óseas, la especificidad parasitológica, diferencias en los caracteres morfométricos y merísticos, períodos reproductivos y áreas de puesta, y otros parámetros de carácter biológicos como las tasas de crecimiento, etc. (Ihssen *et al.*, 1981; Guerra-Sierra y Sánchez-Lizaso, 1998). Además, la sucesiva incorporación de los marcadores genéticos a los estudios pesqueros ha añadido información de carácter más específico. En la actualidad, la utilización conjunta de todos estos métodos constituye una herramienta fundamental en la discriminación de stocks y/o poblaciones. En este caso concreto, y con el objetivo de verificar la existencia de posibles stocks insulares, se utilizaron los siguientes métodos: el análisis de caracteres morfométricos y merísticos, el estudio del crecimiento y reproducción y, por último, la electroforesis isoenzimática.

Los resultados obtenidos con los marcadores no genéticos han mostrado diferencias significativas entre las muestras procedentes de las islas de Gran Canaria y La Palma. El análisis de los caracteres morfométricos y merísticos no sólo refleja estas diferencias, sino que también las hace extensibles a las poblaciones que habitan la plataforma continental africana próxima (e.g. Fisher *et al.*, 1981). La diferenciación geográfica existente separa claramente una zona insular y otra continental, ambas con características físico-químicas peculiares. Sin embargo, las diferencias halladas no se traducen obligatoriamente en un aislamiento genético, ya

que para ello es necesario que el flujo genético entre poblaciones se vea de alguna forma restringido. En el medio marino, la ausencia de barreras geográficas claras y el gran tamaño de las poblaciones son factores que pueden impedir este proceso (García de León *et al.*, 1997).

En este sentido, los resultados obtenidos con la electroforesis isoenzimática confirman la inexistencia de un aislamiento genético entre islas. En el Archipiélago, la estructura poblacional del sargo parece corresponderse con el modelo de “unidad panmíctica”, que se caracteriza por el libre intercambio de individuos entre poblaciones. Esto es relevante cuando la reproducción entre individuos se realiza al azar. Es decir, cuando ocurre una distribución aleatoria de los genotipos a través de la población y la probabilidad de aparearse con un individuo de un genotipo dado es equivalente a la frecuencia de ese genotipo en toda la población. En este caso, la población exhibirá, para todo el rango de distribución geográfica, una variación no significativa en las frecuencias alélicas de los loci polimórficos, de manera que toda la población consistirá en una unidad genética indiferenciada en el tiempo (Richardson *et al.*, 1986). En general, las especies marinas están consideradas como poblaciones que presentan amplia distribución y poca subestructuración genética. Muchos de los organismos marinos se desarrollan mediante un estadio larvario planctónico que puede ser fácilmente disperso por corrientes y, además, franquear barreras discernibles (Palumbi, 1992), alcanzando así diferentes regiones. Sin embargo, existen algunos parámetros biológicos y físicos que pueden constituir obstáculos a la panmixia. La diversidad intra e interespecifica está influida por barreras físicas creadas por la circulación de las masas de agua, los regímenes de temperatura y la topografía costera, que dificultan el movimiento de los peces (Dawson *et al.*, 2001).

Leary & Booke (1990) refieren que la migración de un individuo, por generación, entre dos poblaciones es suficiente para impedir la fijación de alelos. Este modelo indica que el flujo genético es la principal causa de homogeneización entre poblaciones. Sin embargo, son los procesos físicos los responsables de limitar la distribución espacio-temporal de los individuos, larvas y huevos a distinta escala

y por tanto provocar una cierta variabilidad en el grado de homogenización de las poblaciones. En Canarias, no hay duda de que las condiciones oceanográficas locales desempeñan un papel muy importante. Destaca la presencia del potente afloramiento del noroeste africano, con gran influencia en las islas más orientales (Bas *et al.*, 1995) y del cual se desprenden masas de agua, en forma de filamentos, que alcanzan cientos de kilómetros y permiten la dispersión de huevos y larvas entre las islas y su entorno (Rodríguez *et al.*, 1996). De hecho, para muchas especies, la dispersión larvaria parece ser el único mecanismo de unión espacial entre poblaciones discretas (Bonhomme & Planes, 2000). Más que agentes dispersantes pasivos, las larvas de los peces tienen la capacidad de realizar ciertas habilidades natatorias (Stobuzki & Bellwood, 1997), y pueden controlar aspectos como la velocidad, profundidad y dirección (Leis & Carson-Ewart, 2001) y pasar semanas en la columna de agua antes de asentarse definitivamente (Scheltema, 1971, 1986). A pesar de ello, el potencial de dispersión de las especies no siempre predice la cantidad de flujo genético que ocurre entre poblaciones separadas, dado que este depende de las condiciones ambientales locales (variaciones de temperatura, gradientes de salinidad, mecanismos de retención de larvas, etc.) (Sinclair, 1988; Palumbi, 1995). El flujo genético requiere, además, de la supervivencia de las larvas, de la capacidad de adaptación de los juveniles y del éxito reproductivo de los adultos en el nuevo ambiente. En este sentido, y aunque sin duda se produce un constante flujo genético entre las islas y el continente, los requerimientos ambientales de las “nuevas” especies han dado lugar a claras diferencias entre la ictiofauna insular y la continental, y en las islas entre sí (Brito *et al.*, 1996).

Asimismo, otros mecanismos que también pueden intervenir en el proceso de homogeneización son determinadas circunstancias climáticas (frentes marinos, bolsas de agua, etc.) y la asociación de ciertas especies a objetos flotantes, los cuales pueden ser utilizados como medio de transporte de larvas y juveniles (Castro *et al.*, 2002a). Esto facilita no sólo el intercambio de individuos de una misma especie, como también la colonización por parte de otras nuevas (Castro-Hernández & Martín-Gutiérrez, 2000; Castro & Ramos, 2002; Brito *et al.*, 2002; 2005) ante cambios en el clima que favorecen su asentamiento (Lloris, 1999). En los

ecosistemas marinos, la diversidad existente es atribuida a la naturaleza dispersiva del medio sobre las larvas pelágicas y a la vasta distribución de organismos y de hábitats (Féral, 2002).

Aunque los resultados electroforéticos no determinen una separación genética en poblaciones/stocks para esta subespecie, los análisis merísticos y morfométricos dan indicios de que existe una diferenciación insular a nivel fenotípico. Es indudable que las poblaciones naturales exhiben una gran cantidad de variabilidad para prácticamente cualquiera de los caracteres del fenotipo de los individuos. Variabilidad que en gran parte está asociada a los factores genéticos, ambientales, o a una combinación de ambos. La mayoría de los caracteres del fenotipo tienen una base genética compleja, siendo controlados por un número elevado de genes de pequeño efecto, o poligenes, normalmente sujetos a una importante influencia ambiental (Zapata, 1987). Además, no hay que olvidar que los genes que se expresan a través de las isoenzimas son responsables de regular procesos metabólicos básicos para el individuo, y que tienen como características principales la gran estabilidad de los mismos y de los procesos que regulan, y por tanto están menos afectados por cambios no muy importantes del ambiente (Dr. P. Sosa; Univ. de Las Palmas de Gran Canaria. Comm. Pers.). Por lo que las variaciones producidas por una componente ambiental difícilmente serán cuantificadas con las isoenzimas. Por otra parte, y tal como ya se ha reseñado, una pequeña cantidad de flujo genético es suficiente para homogeneizar la población, lo que limita el poder de estos marcadores genéticos y dificulta la diferenciación entre poblaciones que poseen dinámicas separadas con flujos genéticos esporádicos, de las que intercambian numerosos individuos y constituyen verdaderamente una única población (Planes, 2000). Quizás, por todo ello, haya sido difícil inferir diferencias en la variabilidad genética de las localidades muestreadas.

Dado que el fenotipo de un organismo consiste en la interacción del genotipo con el ambiente, los resultados obtenidos sugieren que variaciones del tipo ambiental podrán desempeñar un importante papel en el desarrollo morfológico de esta especie. Es cierto que las diferencias ambientales quedan reflejadas en las características bioecológicas de las especies que habitan un área geográfica dada

(Hernández-García & Castro, 1998). La presencia de grandes profundidades entre islas, y entre éstas y el continente africano, puede funcionar a modo de barrera natural, dificultando el desplazamiento de los individuos, y dando lugar a sucesivas adaptaciones morfológicas y bioecológicas como consecuencia de la explotación de diferentes hábitats. Ferál (2002) refiere que las especies pueden responder distintamente a los cambios ambientales, sin que para ello se requiera de evolución genética. En el caso concreto del sargo en Canarias, se estaría ante una población genéticamente homogénea, con marcadas diferencias fenotípicas respecto a la población continental, e incluso entre las diversas islas del Archipiélago.

Además, el análisis de los parámetros reproductivos y de crecimiento señala diferencias entre ambas islas (Gran Canaria y La Palma). Un factor que podría incentivar este proceso de diferenciación insular es la variación en la temperatura del agua que se observa entre islas. A lo largo del año, los rangos de temperatura oscilan entre los 18-26 °C para La Palma, y entre los 17-24 °C para Gran Canaria, con valores medios que, por lo general, son superiores a 21 °C en La Palma, e inferiores a este valor en Gran Canaria (Fig 74). Las imágenes de temperatura superficial del agua obtenidas desde satélite son explícitas, verificándose una clara separación térmica entre las islas orientales (Gran Canaria, Fuerteventura y Lanzarote) y las occidentales (Tenerife, Gomera, La Palma y El Hierro) (Figs. 70-73). Al estar influenciadas por los frentes térmicos procedentes del centro del Atlántico, las islas occidentales presentan valores de temperatura de agua más elevados. Mientras que la temperatura más fría de las islas orientales se atribuye a la presencia del afloramiento africano. Posiblemente, estas diferencias climáticas hayan dado lugar al desarrollo de mecanismos de adaptación de la especie a distintos ambientes, los cuales han propiciado un proceso de diferenciación biogeográfico.

Muchos mecanismos pueden influir en la distribución de los peces y por consiguiente en la estructuración de los patrones espaciales y temporales. Se considera que los patrones a gran escala (del orden de cientos de kilómetros) resultan de las respuestas de las especies a sus ambientes físicos, porque las

variables abióticas dominantes son consideradas como filtros fisiológicos (Menge & Olson, 1990). De hecho, la temperatura del agua es uno de los factores ambientales que más afecta la distribución de los organismos marinos, sobretudo en las especies de amplia distribución latitudinal (Hernández-García & Castro, 1998). Sus efectos son notorios sobre la reproducción, el metabolismo y el crecimiento de los organismos. Incluso, se ha observado que la temperatura puede influir en la diferenciación genética de algunas especies, como es el caso de las medusas (*Aurelia* sp.), y se sugiere que las adaptaciones a las condiciones climáticas locales fueron las que condujeron a esta diversificación durante su historia evolutiva (Scroth *et al.*, 2002).

En definitiva, los resultados obtenidos en el presente trabajo apuntan a que, en el Archipiélago, la población de *Diplodus sargus cadenati* está constituida por distintos stocks (o demos) de circunscripción insular. Aunque no se hayan detectado evidencias de subestructuración genética, los distintos parámetros biológicos señalan diferencias entre las islas de La Palma y Gran Canaria. La variabilidad geográfica de una componente de carácter ambiental, como la temperatura u otro factor relacionado, parece ser responsable de las diferencias encontradas, al dar lugar a distintas respuestas fisiológicas dentro de su rango de variación. Cabe señalar que la diferenciación en stocks insulares, en base a la composición de la fauna parasitológica, ha sido establecida para esta especie en el Archipiélago (C. Cuyás, datos no publicados), al igual que ha ocurrido con *Serranus atricauda* (Cuyás *et al.*, 2004), lo que parece reforzar todavía más esta conclusión.

Para cualquier especie, el éxito de los programas de conservación y la eficacia de las políticas de gestión dependen del análisis de la estructura de la población. Dado que *Diplodus sargus cadenati* constituye una subespecie de importancia comercial en el Archipiélago, la confirmación de la existencia de diferentes stocks insulares se reviste de especial importancia. La normativa pesquera actualmente vigente en Canarias no contempla este aspecto, por lo que la identificación de stocks insulares más que un aspecto innovador, es una evidencia que puede explicar parte de la falta de éxito de la misma en la conservación de los recursos explotados. Una gestión

pesquera adaptada a las circunstancias locales que definen la bioecología de las especies, y también de las flotas y comunidades de pescadores de cada isla, ayudaría a aumentar la eficacia de las estrategias orientadas a reducir los procesos de sobrepesca que están generando una pérdida considerable de la producción, biomasa y diversidad de especies en todo el Archipiélago.

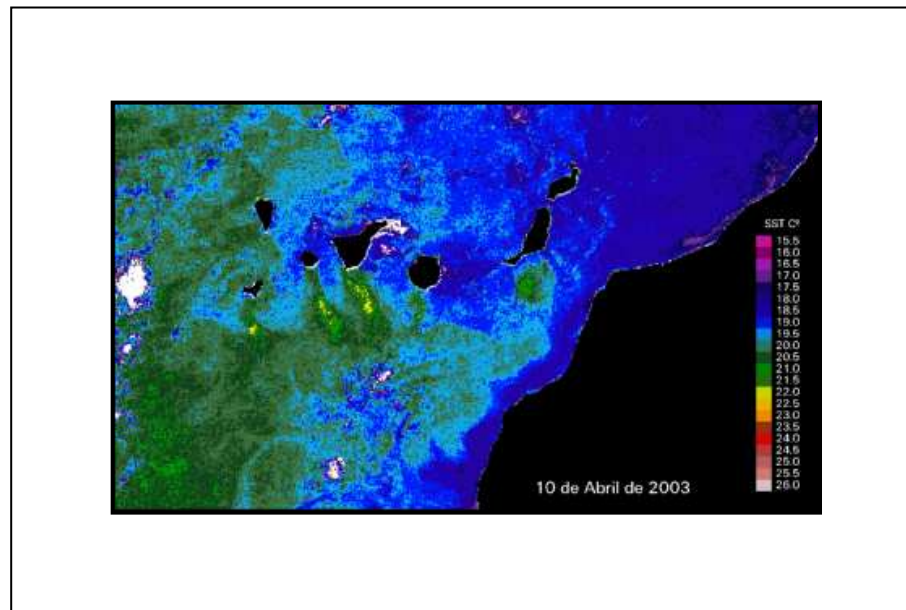


Figura 70 – Imágenes de la Temperatura Superficial del Océano (SST) obtenidas del sensor AVHRR/ NOAA 12, 15, 16 y 17 en primavera. Estación SeaS Canarias (Tomada de Castro *et al.*, 2003).

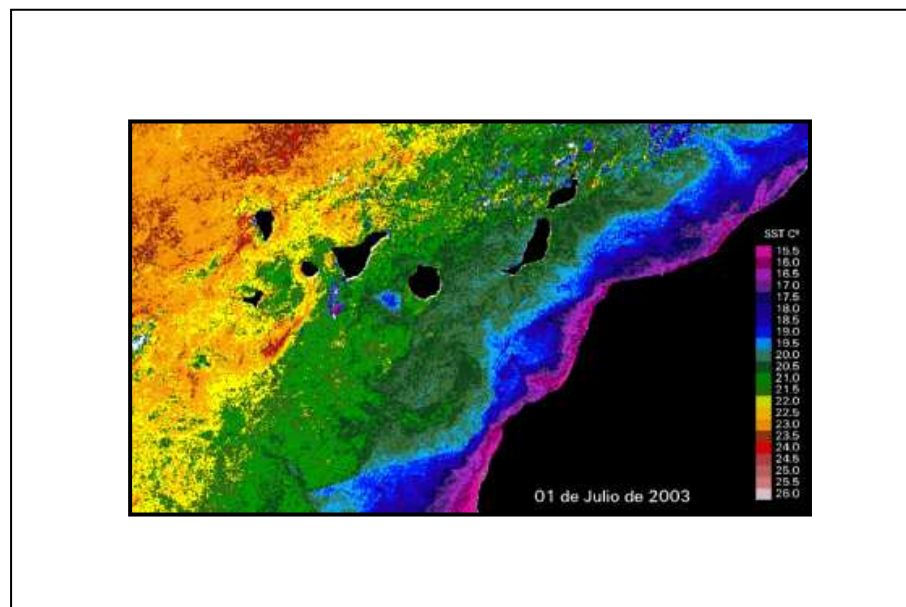


Figura 71 - Imágenes de la Temperatura Superficial del Océano (SST) obtenidas del sensor AVHRR/ NOAA 12, 15, 16 y 17 en verano. Estación SeaS Canaria (Tomada de Castro *et al.*, 2003).

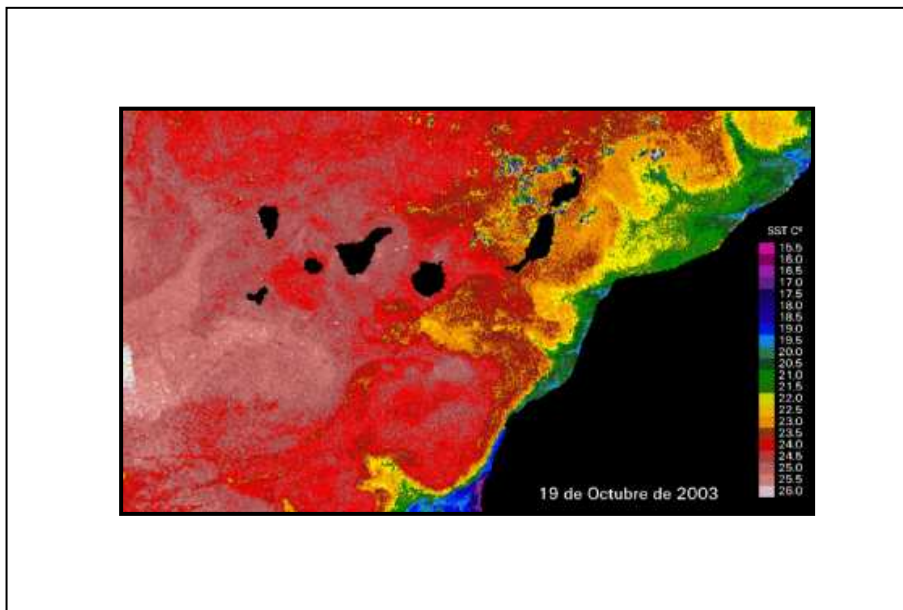


Figura 72 - Imágenes de la Temperatura Superficial del Océano (SST) obtenidas del sensor AVHRR/ NOAA 12, 15, 16 y 17 en otoño. Estación SeaS Canarias (Tomada de Castro *et al.*, 2003).

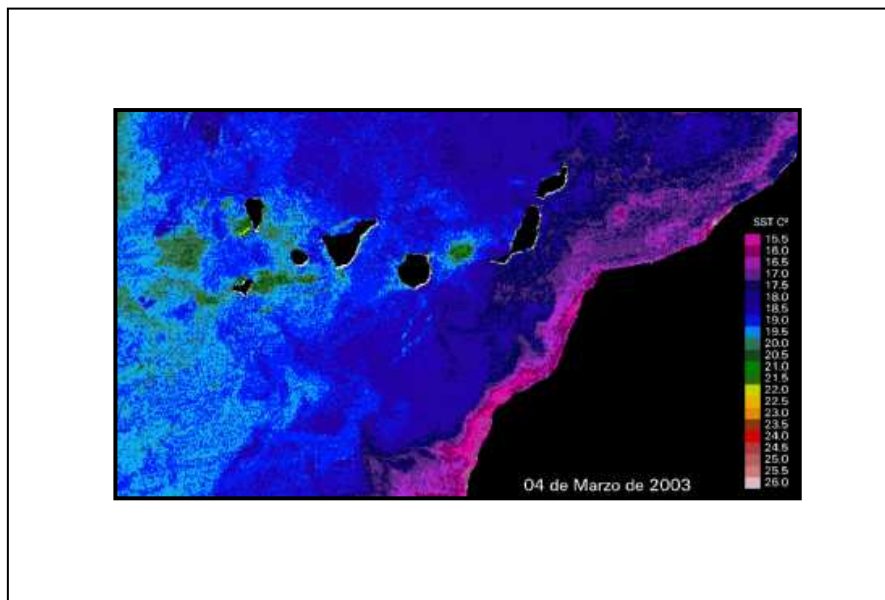


Figura 73 - Imágenes de la Temperatura Superficial del Océano (SST) obtenidas del sensor AVHRR/ NOAA 12, 15, 16 y 17 en invierno. Estación SeaS Canarias (Tomada de Castro *et al.*, 2003).

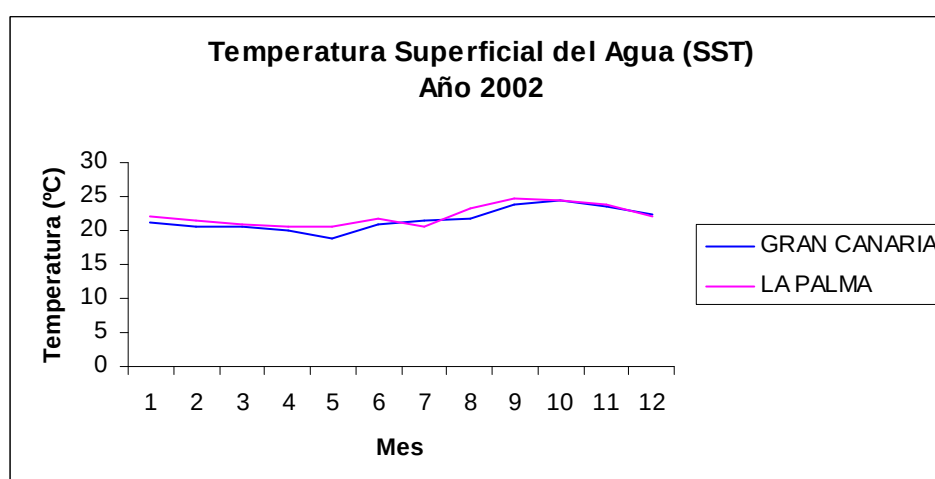
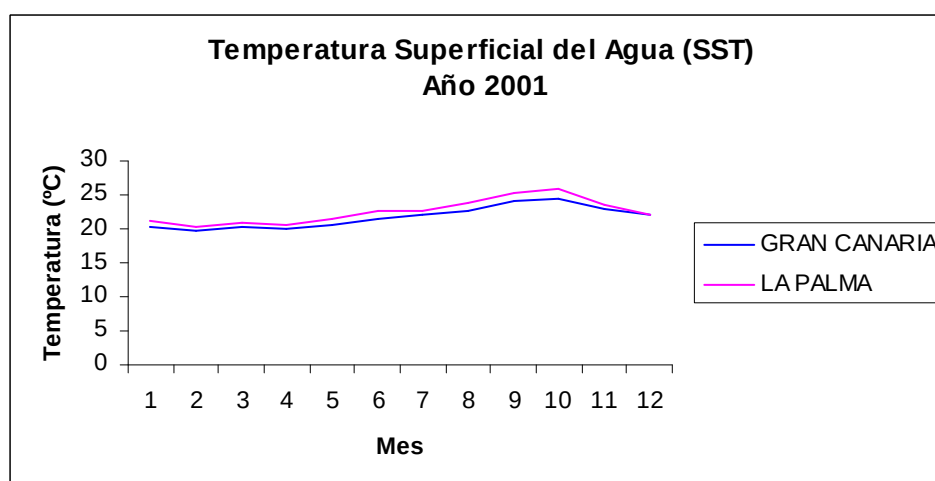
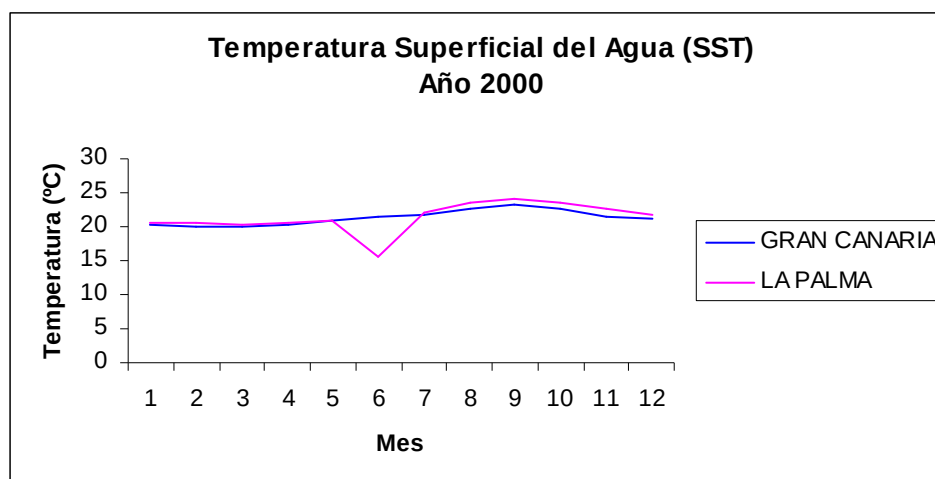


Figura 74 - Temperatura superficial del agua (SST) durante el período de 2000-2002.

Conclusiones

1. Los valores de los parámetros de la relación longitud estándar-peso eviscerado obtenidos en machos, hembras y la totalidad de individuos de las islas de Gran Canaria y La Palma son similares, mostrando en todos los casos que *Diplodus sargus cadenati* tiende a la isometría.
2. El análisis de los caracteres merísticos indica la presencia de diferencias fenotípicas entre individuos procedentes de las islas de La Palma y Gran Canaria, especialmente en lo que se refiere al número de branquiespinas que componen ambas ramas del primer arco branquial.
3. Los caracteres merísticos analizados ofrecen similitudes y diferencias para la misma especie descrita en el catálogo de la FAO. En las Islas, *Diplodus sargus cadenati* posee mayor número de incisivos y molares en la mandíbula superior, al igual que más radios blandos en la aleta anal.
4. El análisis morfométrico no revela diferencias para los rangos y valores medios de las diferentes medidas corporales de esta especie entre islas, pero sí en las proporciones. Concretamente en el tamaño de la mandíbula superior y la altura del cuerpo en la región anal, que en ambos casos son significativamente mayores en los individuos procedentes de La Palma.
5. *Diplodus sargus cadenati* se confirma como hermafrodita proterándrico que experimenta una breve fase de inversión sexual. Un comportamiento reproductivo que es idéntico en ambas islas.

6. La proporción de sexos no es equitativa. En ambas islas, esta se encuentra desviada hacia las hembras, que predominan en las tallas superiores. La distribución mensual de sexos, donde los machos sólo son más abundantes que las hembras en la época de freza, no presenta diferencias entre Gran Canaria y La Palma.
7. El periodo reproductivo es de duración temporal diferente entre islas, comprendiendo desde enero hasta junio en Gran Canaria y desde febrero hasta mayo en La Palma.
8. La talla media de primera madurez se verifica a los 18,7 cm LS para ambas islas. La talla de madurez masiva se alcanza a los 25,3 cm LS en los individuos de Gran Canaria, y a los 21,8 cm LS en los de La Palma.
9. Se demuestra que *Diplodus sargus cadenati* constituye una subespecie iterópara, con puestas múltiples, debido a la presencia de células sexuales en distintos estadios de desarrollo en el ovario.
10. El número medio de ovocitos producidos por las hembras de sargo procedentes de Gran Canaria es inferior al producido por las de La Palma, siendo 26376,14 (SD=20413,09) y 53408,49 (SD=36736,52) los valores medios respectivos. El diámetro medio de los ovocitos es significativamente mayor en las hembras procedentes de aguas de Gran Canaria.
11. La fecundidad relativa de esta especie en ambas islas es diferente, presentando los individuos procedentes de La Palma valores superiores a los de Gran Canaria.
12. La edad de los individuos varía entre 0 y VIII años para la isla de Gran Canaria y entre 0 y VI años para La Palma. En ambas islas, la clase de edad 0 es la menos frecuente, con una talla media de 10,4 cm (LS) para la isla de Gran Canaria y de 10,25 cm (LS) para la de La Palma.

13. Los intervalos de tallas para cada clase de edad son similares en las dos islas, aunque se verifican tallas medias más elevadas para las clases más jóvenes de la isla de Gran Canaria. Estos valores tienden a converger hacia las clases de mayor edad, mostrándose incluso superiores para la isla de La Palma.
14. Los parámetros de la ecuación de crecimiento en longitud de von Bertanffy estimados para *Diplodus sargus cadenati* en Gran Canaria son $L_{\infty} = 45.0$ cm y $K=0.08$ año⁻¹ mientras que para La Palma son $L_{\infty} = 38.7$ cm y $K=0.1$ año⁻¹.
15. *Diplodus sargus cadenati* constituye una población genéticamente homogénea en el Archipiélago Canario de acuerdo con los 15 loci codificados para los once sistemas enzimáticos analizados.
16. El presente estudio pone de manifiesto variaciones en los parámetros biológicos de *Diplodus sargus cadenati* (caracteres merísticos y morfométricos, período reproductivo, fecundidad y tasas de crecimiento) entre las islas de Gran Canaria y La Palma, las cuales pueden estar relacionadas con las diferencias geomorfológicas y oceanográficas presentes en el Archipiélago.

Bibliografía

Abou-Seedo, F., J.M Wright. & D.A. Clayton, 1990. Aspects of the biology of *Diplodus sargus kotschyi* (Sparidae) from Kuwait Bay. *Cybium*, 14 (3): 217-223.

Aebersold, P.B., G.A. Winans, D.J. Steel, G.B. Milner & F.M. Utter, 1987. Manual for Starch Gel Electrophoresis: a method for detection of gel variation. NOAA *Tech. Rep.*, 61: 1-19.

Aguilera-Klink, F., A. Brito, C. Castilla, A. Díaz-Hernandez, J.M. Fernández-Palacios, A. Rodríguez-Rodríguez, F. Sabaté y J. Sánchez-García. 1994. *Economía, ecología y medio ambiente*. Francisco Lemus de. La Laguna. 365 pp.

Alarcón, J.A. & M. C. Alvarez, 1999. Genetic identification of sparid species by isozyme markers: application to interspecific hybrids. *Aquaculture*, 173: 95-103.

Albertson, R.C., J.A. Market, P.D. Danley & T.D. Kocher, 1999. Phylogeny of a rapidly evolving clade: The cichlid fishes of Lake Malawi, East Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96 (09): 5107-5110.

Ali, M.A., 1980. *Environmental physiology of Fishes* ("Lectures presented at the 1979 NATO Advanced Study Institute on Environmental Physiology of Fishes, Held at Bishop's University, Lennoxville, Québec, Canada, August 12-25, 1979"). New York: Plenum, 723 p.

Allendorf, F.W. & S.R. Phelps, 1981. Use of allelic frequencies to describe population structure. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38: 1507-1514.

Allendorf, F.W., N. Ryman & F.M. Utter, 1987. Genetics and Fishery Management: past, present and future. In: N. Ryman and F. Utter (eds.): *Population genetics and fisheries management*. pp. 1-19. University of Washington Press. Seattle and London.

Almada, F., V.C. Almada, V.Domingues, A.Brito & R.S. Santos, 2005. Molecular validation of the specific status of *Parablennius sanguinolentus* and *Parablennius parvicornis* (Pisces: Blenniidae). *Scientia Marina* 69(4):519-523.

Almada, V., F. Almada, M.Henriquez, R.S. Santos & A. Brito, 2002. On the phylogenetic affinities of *Centrolabrus trutta* and *Centrolabrus caeruleus* (Perciformes: Labridae) to the genus *Symphodus*: molecular, merisite and behavioural evidences. *Arquipélago. Life and Marine Sciences* 19A:85-92.

Anderson, R. & S. Gutreuter, 1983. Length, weight, and associated structural indices. In: L. Nielsen and D. Johnson (Editors). *Fisheries Techniques*. American Fisheries Society, pp.283-300.

Arculeo, M. S. Lo Brutto, M. Sirna-Terranova, T. Maggio, L. Cannizzaro & N. Parrinello, 2003. The stock genetic structure of two spridae species, *Diplodus vulgaris* and *Lithognathus mormyrus*, in the Mediterranean Sea. *Fisheries Research*, 63: 339-347.

Arístegui, J., 1990. La distribución de la clorofila a en aguas de Canarias. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 6 (2): 61-71.

Avise, J.C., 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.*, 23: 465-481.

Bara, G., 1960. Histological and cytological changes in the ovaries of the mackerel *Scomber scombrus* during the annual cycle. *Istamb. Univ. Fen Fak. Mecm.*, Ser. B 25:49-91.

Bargelloni, L., J.A. Alarcón, M.C. Álvarez, E. Penzo, A. Magoulas, C. Reis & T. Patarnello, 2003. Discord in the family Sparidae (Teleostei): divergent phylogeographical patterns across the Atlantic-Mediterranean divide. *J.Evol.Biol.* 16: 1149-1158.

Bargelloni, L., J.A. Alarcón, M.C. Álvarez, E. Penzo, A. Magoulas, J. Palma & T. Patarnello, 2005. The Atlantic-Mediterranean transition: discordant genetic patterns in two seabream species, *Diplodus puntazzo* (Ceti) and *Diplodus sargus* (L.). *Mol. Phyl. Evol.* 36:523-535.

Barluenga, M & A. Meyer, 2004. The Midas cichlid species complex: incipient sympatric speciation in Nicaraguan cichlid fishes? *Molecular Ecology* Vol. 13, no. 7, pp. 2061-2076.

Barr, W.A., 1963. The endocrinal control of the sexual cycle in the plaice *Pleuronectes platessa* (L.). II. The endocrine control of oogenesis. *General and Comparative Endocrinology* 3: 205-215.

Barr, W.A., 1968 Patterns of ovarian activity. In: *Perspectives in endocrinology: Hormones in the Liver of Lower Vertebrates*. E.J.W. Barrington, C.B. Jorgensen (Eds.), pp. 163-237. Academic Press, London.

Bas, C., 1959. Consideraciones acerca del crecimiento de la caballa (*Scomber scombrus* L.) en el Mediterráneo Español. Parte I. *Inv. Pesq.*, 14: 65-113.

Bas, C., 1964. Aspectos del crecimiento relativo en peces del Mediterráneo Occidental. *Inv. Pesq.*, 27: 13-119.

Bas, C., J.J. Castro, V. Hernández-García, J.M. Lorenzo, T. Moreno, J.G. Pajuelo y A.G. Ramos. 1995. *La pesca en Canarias y áreas de influencia*. Ediciones del Cabildo Insular de Gran Canaria. 331 pp.

Basaglia, F., 1991. Lactate dehydrogenase isozymes and their genetic variation in fifteen sparidae species (Perciformes: Teleostei). *Comp. Biochem. Physiol.*, vol. 98B, No. 1, pp 1-8.

Basaglia, F., M. Gabriela Marchetti & G. Salvatorelli, 1990. Genetic, developmental and comparative analysis of LDH, MDH and GPI isozymes in the sheepshead bream (*Diplodus puntazzo* GM). *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 96B, no. 2: 257-266.

Bauchot, M.L., 1987. *Guía de los peces de mar de España y de Europa* (2ª ed.), Barcelona: Omega, 432 p.

Bauchot, M.L. & J.C. Hureau, 1990. Sparidae. In: *Check-list of the Fishes of the Eastern Tropical Atlantic. Clafeta II*, J.C. Quero, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post & L. Saldanha (Editores). Unesco, Paris, p. 790-812.

Bauchot, M. L., J.C. Hureau & J.C. Miquel. 1981. *Sparidae*. In: Fischer, W. G. Bianchi & W. B. Scott (eds). *FAO species identification sheets for fishery purpose. Eastern Central Atlantic; fishing areas 34, 47 (in part)*. Canada funds-in-Trust. Ottawa, Department of fisheries and Oceans Canada, by arrangement with the Food Agriculture and Organization of the United Nations.

Bauzá-Rullan, J. 1971. Contribución al conocimiento de los otolitos de peces actuales. 2. Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. Biol., 69, 307-315p.

Baverstock, P.R. & C. Moritz, 1996. Project design. In: Hillis, D.M., C. Moritz and B.K. Mabel (Edts). *Molecular Systematics*, second edition, pp. 17-27.

Beacham, T.D. & C.B. Murray, 1985. Effect of female size, egg size and water temperature on developmental biology of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) from the Nitinal River, British Columbia. *Can J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 1755-1765.

Beacham, T.D. & C.B. Murray, 1987. Adaptive variation in body size, age, morphology, egg size and developmental biology of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in British Columbia. *Can J. Fish. Aquat. Sci.* 44, 244-261.

Beacham, T.D., M. Lapointe, J.R. Candy, B. McIntosh, C. MacConnachie, A. Tabata, K. Kaukinen, L. Deng, K.M. Miller, & R. E. Withler. 2004. Stock Identification of Fraser River Sockeye *Salmon* Using Microsatellites and Major Histocompatibility Complex Variation. *Transactions of the American Fisheries Society*, Vol. 133, no. 5, 1117-1137.

Beamish, R.J. & D.A. Fournier, 1981. A method for comparing the precision of a set of age determination. *Canadian Journal of Fisheries Society* 112, 735-743.

Begg, G.A. & R.W. Brown, 2000 Stock identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) on Georges Bank based on otolith shape analysis, *Trans. Am. Fish. Soc.* 129: 935-945.

Begg, G.A., K.D. Friedland & J.B. Pearce., 1999a. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. *Fish. Res.* 43, 1-8.

Begg, G.A., J.A. Hare & D.D. Sheehan., 1999b. The role of life history parameters as indicators of stock structure. *Fish. Res.* 43, 141-163.

Begg, G.A., W.J. Overholtz & N.J. Munroe, 2001 The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stocks on Georges Bank, *Fish. Bull.* 99: 1-14.

Begg, G.A. & J.R. Waldman, 1999. An holistic approach to fish stock identification. *Fish. Res.* 43: 35-44.

Berg, E., T.H. Sarvas, A. Harbitz, S. E. Fevolden & A.B. Salberg, 2005. Accuracy and precision in stock separation of north-east Arctic and Norwegian coastal cod by

otoliths—compparing readings image analyses and genetic method. *Marine Freshwater Research*, 56: 753-762.,

Beverton, R.J.H. & S.J. Holt, 1957. On the Dynamics of Exploited Fish Populations. *Fish. Invest. Lond., Ser. II*, 19: 533 pp.

Bhattacharya, C.G., 1967. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. *Biometrics*, 23: 115-135.

Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 26 (4): 877-920.

Blaxter, J.H.S., 1969. Development: eggs and larvae. In: *Fish Physiology*, vol. 3 (ed. W.J. Hoar et al.), pp. 177-241. New York: Academic Press.

Boeuf, G. & P. Payan, 2001. How should salinity influence fish growth? *Comp. Biochem. Physiol.*, 130 (4), pp. 411-423.

Bone, Q. & N.B. Marshall, 1982. *Bilogy of Fishes*. Blackie. 253 pp.

Bonhomme, F. & S. Planes, 2000. Some evolutionary arguments about what mantains the pelagic interval in reef fishes. *Environ. Biol. Fish* 59: 365-383.

Bonnet, M., 1969. Les sparides des côtes nordouest africaines. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 33 (1): 97-116.

Booke, H.E., 1999. The stock concept revisited: perspectives on its history in fisheries. *Fish. Res.* 43, 9-11.

Bordes, F., 1993. *Cartografía y evaluación de recursos pesqueros de la plataforma y talud de Gran Canaria (Islas Canarias)*. Informe del Gobierno de Canarias, 28 pp.

Bordes, F., A. Barrera, R. Castillo, J.A. Gómez, I.J. Santana, S. Hernández-León, F. Pérez, R. Ramírez, J. Arístegui, O.Llinás, M.J. Rueda, A. Ojeda y L. Medina, 1987. Prospección hidroacústica para la evaluación del stock de peces pelágicos costeros de Canarias. Informe del Gobierno de Canarias y Excmo. Cabildo Insular de Gran Canaria, 95 pp.

Bordes, F., A. Barrera, J. Carrillo, R. Castillo, J.J. Castro, J.A. Gómez, K. Hansen, V. Hernández, F. Pérez, F. Ublein, 1997. Evaluación acústica de los recursos epipelágicos y estudio de la capa profunda de reflexión en Lanzarote, Fuerteventura y Gran Canaria (Islas Canarias). Viceconsejería de Pesca. Consejería de Agricultura, Pesca y Alimentación, Telde, Las Palmas de Gran Canaria.

Borsa, P., A. Blanquer & P. Berribi, 1997. Genetic structure of flounders *Platichthys flesus* and *P. stellatus* at different geographic scales. *Mar. Biol.* 129 (2), pp. 233-246.

Borsa, P, A. Collet & J.D. Durand, 2004. Nuclear-DNA markers confirm the presence of two anchovy species in the Mediterranean., *Comptes rendus Biologies*, Vol. 327, no. 12, pp. 1113-1123. 2004.

Botros, G., R. El-Sharif & A. Huni, 1985. Biometry, Length-Weight relationship and coefficient of condition of *Boops boops* (L.), family Sparidae from the western Libyan waters. *Bulletin of M.B.R.C.* No. 6 pp. 78-102.

Boughman, J.W , 2001. Divergent sexual selection enhances reproductive isolation in sticklebacks. *Nature*, Vol. 411, no. 6840, pp. 944-948.

Bouton, N., N. van Os & F. Witte, 1998. Feeding performance of Lake Victoria rock cichlids: testing predictions from morphology. *J. Fish. Biol.* 53 (Suppl. A), 118-127.

Boyra, A, F.J.A. Nascimento, F. Tuya, P. Sánchez-Jerez & R.J. Haroun. 2004. Impact of sea-cage fish farms on intertidal macrobenthic assemblages. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, Vol. 84, no. 3, pp. 665-668. 2004.

Braun, J.G., 1980. Estudios de producción en aguas de las Islas Canarias. I. Hidrografía, nutrientes y producción primaria. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 6 (1): 91-96.

Braun, J.G. y F. Real, 1981. Algunas Comparaciones entre el nanoplancton y el fitoplancton de red en aguas de las Islas Canarias. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 6 (1): 99-105.

Braun, J.G., I. Orzáiz, J.D. Armas y F. Real, 1985. Productividad y biomasa del ultraplancton, nanoplancton y fitoplancton de red en aguas de las Islas Canarias. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 2 (1): 192-204.

Brett, J.R., 1979. Environmental factors and growth. In: *Fish Physiology*. Vol. 8, W.J. Hoar, D.J. Randall & J.R. Brett (Ed.). Academic Press, New York, p. 599-675

Brito, A., 1984. Zoogeografía marina de las Islas Canarias. En: *Fauna marina y terrestre del Archipiélago Canario*. pp. 66-75. ed. Edirca. Las Palmas de Gran Canaria.

Brito, A., 1991. *Catálogo de Peces de las Islas Canarias*, F. Lemus (Editor). Lemus, La Laguna, 230 pp.

Brito, A. I.J. Iozano, J.M. Falcón, F. M. Rodríguez y J. Mena, 1996. Análisis biogeográfico de la ictiofauna de las Islas Canarias. En: Llinas, O., J.A. González y M.J. Rueda. (eds.). *Oceanografía y Recursos Marinos en el Atlántico Centro-oriental*. Instituto Canario de Ciencias Marinas. pp. 241-270.

Brito, A., P.J. Pascual, J.M. Falcón, A. Sancho y G. González. 2002. *Peces de las Islas Canarias. Catálogo comentado e ilustrado*. Francisco Lemus Editor. Valle de Güimar, Tenerife. 419 pp.

Brito, A., J.M. Falcón & R. Herrera, 2005. About the recent tropicalisation of the littoral ichthyofauna of the Canary Islands and its relationship with environmental changes and human activities. *VIERAEA* 33: 515-525.

- Brown, A.H., 1978. Isoenzyme, plant population genetic structure and genetic conservation. *Theor. Appl. Genet.*, 52: 145-157.
- Bruslé-Sicard, S. & B. Fourcault, 1997. Recognition of sex-inverting proterandic *Sparus aurata*: ultrastructural aspects. *Journal of Fish Biology*, 50: 1094-1103.
- Brutto, S.L., M. Arculeo, A. Mauro, M. Scalisi, M. Cammarata & N. Parrinello. 1998. Allozymic variation in Mediterranean hake *Merluccius merluccius* (Gadidae). *Italian Journal of Zoology* Vol. 65, suppl., pp. 49-52.
- Burton, M.P.M., 1991. Induction and reversal of the non-reproductive state in the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* Walbaum, by manipulating food availability. *Journal of Fish Biology*, 39 (6): 909-910.
- Burton, M.P.M. & D.R. Idler, 1987. An experimental investigation of the non-reproductive, post-mature state in winter flounder. *Journal of Fish Biology*, 30(6), 643-650.
- Buxton, C.D. & Garratt, P.A., 1990. Alternative reproductive styles in seabreams (Pisces: Sparidae). *Env. Biol. Fish.*, 28:113-124.
- Caballero, C.C., 2002. *Estudio del comportamiento agresivo en pequeños grupos de juveniles de Diplodus sargus cadenati de La Paz, Bauchot y Daget, 1974*. Tesis Doctoral. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. 108 pp.
- Caballero, C. & J.J. Castro. 1999. Effect of residence and size asymmetries upon the agonistic interactions between juvenile white-seabream (*Diplodus sargus cadenati* de La Paz, Bauchot and Daget, 1974). *Aggressive Behavior*, 25: 297-303.
- Calderón, L.E., 1989. *Modelo de las variaciones del crecimiento de la bacadilla Micromessitius poutassou del Mediterráneo occidental y su relación con el ambiente*. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Cataluña, España.

Campana, 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* Vol. 188: 263-297.

Campana, S.E., 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *J. Fish Biol* 59: 197-242.

Campana, S.E. & J.M. Casselman, 1993. Stock discrimination using otolith shape analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 1062-1083.

Campana, S.E., G.A. Chouinard, J.M. Hanson, A. Fréchet & J. Bratney, 2000. Otolith elemental fingerprints as biological tracers of fish stocks. *Fisheries Research*, 46: 343-357.

Campana, S.E. & J.A. Gagné, 1995. Cod Stock discrimination using ICPMS Elemental Assays of Otoliths. In: *Recent Developments in Fish Otolith Research* (ed. David H. Secor, Jonh M. Dean and Steven E. Campana). Belle W. Bauch Library in Marine science, n° 19.

Cardenas, S., 1978. Sur la présence de *Diplodus bellotti* (Steindachner, 1882) sur le côtes européennes. *Bull. Off. Natn. Pêch. Tunisie* 2 (1-2): 97-99.

Cardinale, M., P. Doering-Arjes, M. Kastowsky & H. Mosegaard, 2004. Effects of sex, stocks and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61: 158-167.

Carracedo, J.C., 1984. Marco Geográfico. In: *Geografía Física*. L. Afonso (dir), (Ed. Interinsular Canaria), Santa Cruz de Tenerife, España: 17-28.

Casselman, J. M., 1987. Determination of Age and Growth. In: *The Biology of Fish Growth*. A. H. Weatherley & H. S. Gill (eds.): 209-243. Academic Press. New York.

Castro, J.J. 2001. First record of *Selene dorsalis* (Gill, 1862) (Osteichthyes: Carangidae) in the Canary Islands (Central-east Atlantic). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 17(3-4):333-335.

Castro, J.J. & C. Caballero, 1998. Dominance structure in small groups of juvenile white-seabream (*Diplodus sargus cadenati* de la Paz, Bauchot and Daget 1974). *Aggressive Behaviour*, 24 (3):197-204.

Castro, J.J. & C. Caballero, 2004. Effect of the light intensity upon the agonistic behaviour of Juvenile of white-seabream (*Diplodus sargus cadenati* de La Paz, Bauchot and Daget, 1974). *Aggressive Behaviour*, 30 (4): 313-318.

Castro, J.J., V. Hernández-García, J.L. Hernández-López, J.L., C. Caballero., A.T.Santana, A.I. Malheiro, R. Cuscó, C. Cuyás, E. Almonacid, Y. Pérez, A.J. Ramos, J. Coca, C. Corcoles, Gancedo, U., 2003. *Prospección experimental de los recursos pesqueros de fondos profundos en aguas del Archipiélago Canario II pescas exploratorias con nasas entre 300 y 1000 m de profundidad*. Informe final del proyecto. Viceconsejería de Pesca. Gobierno de Canarias. 355 pp.

Castro-Hernández, J. J. & A.Y. Martín-Gutiérrez. 2000. First record of *Holocentrus ascensionis* (Osbeck, 1765) (Osteichthyes: Holocentridae) in the Canary Islands (Central-east Atlantic). *Sci. Mar.* 64 (1): 115-116.

Castro, J.J. & A.G. Ramos. 2002. The occurrence of *Ranzania laevis* off the Island of Gran Canaria, the Canary Islands related to sea warming. *J. Fish Biol.*, 60: 271-273.

Castro-Hernández, J. J. & A. T. Santana Ortega. 2000a. Synopsis of biological data on the chub mackerel (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1782). *FAO Fisheries Synopsis*, No. 157. 77 pp.

Castro, J. J., J. A. Santiago, A. T. Santana-Ortega. 2002 a. A general theory on fish aggregation to floating objects: an alternative to meeting point hypothesis. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 11: 255-277.

Castro, J.J, P. Sosa, A. T. Santana, A. I. Malheiro, C. Cuyás, J. L. Hernández, G. Santana & P. Jiménez. 2002 b. *Influencia de la estructura del archipiélago canario en el aislamiento de las poblaciones de especies de peces de interés comercial. Implicaciones en la gestión pesquera*. Informe final del proyecto. Viceconsejería de Pesca. Gobierno de Canarias. 172 pp.

Caujapé-Castells J. & M. Baccarani-Rosas, 2005. Transformer-3: a program for the analysis of molecular population genetic data. EXEGEN software & Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo".

Cavalcanti, M.J., L.R. Monteiro & P.R.D. Lopes, 1999. Landmark-based morphometric analysis in selected species of Serranid fishes (Perciformes: Teleostei). *Zoological Studies* 38 (3): 287-294.

Cavalli-Sforza, L.L., 1969. Human Diversity. *Proc. 12th Intl. Cong. Genet.*, 3: 405-416.

Cavalli-Sforza, L.L. & A.W.F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis models and estimation procedures. *Evolution*, 32: 550-570.

Chakraborty, R., 1992. Sample size requirements for addressing the population genetic issues of forensic use of DNA typing. *Human Biol.*, 64: 141-159.

Chakraborty, R. & O. Leimar, 1987. Genetic Variation within a subdivided population. In: N. Ryman and F. Utter (eds.). pp. 89-120. *Population Genetics and fishery management*. Washington Sea Grant program, University of Washington Press, Seattle.

Chan, S. T. H. & W. S. B. Yeung, 1983. Sex control and sex reversal in fish under natural conditions. In: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM (eds). *Fish physiology*, Vol. 9B. Academic Press, New York, pp. 171-222.

Chang, W.B., 1982. A statistical method for evaluating the reproducibility of age determinations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 1208-1210.

Cheney, D. P., 1985. Electrophoresis. In: M.M. Littler and D.S. Littler (Edts): *Handbook of phycological methods. Ecological field methods: Macroalgae*. Pp 87-114. Cambridge University Press

Clayton, J.W. & D.N. Tetriak, 1972. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 29: 1169-1172.

Coetzee, P.S., 1983. Seasonal histological and macroscopic changes in the gonads of *Cheimerius nufar* (Ehrenberg, 1820) (Sparidae: Pisces). *S.-Afr. Tydsker. Dierk.*, 18: 76-88.

Coetzee, P.S., 1986. Diet composition and breeding cycle of blacktail, *Diplodus sargus capensis* (Pisces: Sparidae), caught off St. Croix Island, algoa Bay, South Africa. *S. Afr. J. Zool.*, 21: 237-243.

Conides, A.J., B. Glamuzina & C. Papaconstantinou, 2004. Laboratory simulation of the effects of environmental salinity on wild-caught juveniles of European sea bass *Dicentrarchus labrax* and gilthead seabream *Sparus aurata*. *J. Fish Biol.* Vol. 65, suppl. 1, pp. 327-328.

Conover, D.O & B.E. Kynard, 1981. Environmental sex determination : interaction of temperature and genotype in a fish. *Science*, 213: 577-579.

Conover, D.O. & S. W. Heins, 1987. Adaptive variation in environmental and genetic sex determination in a fish. *Nature*, 326: 496-498. Coles, S.L. & A.B.

Tarr.1990. Reef fish assemblages in the western Arabian Gulf: A geographically isolated populations in a extreme environment. *Bull. Mar. Sci.*, 47(3): 696-720.

Coopes, Z., 1986. Isozymes of glucosephosphate isomerase (PGI) in fishes of subclass Actinopterygii. *Comp. Biochem. Physiol.* 84B, 575-588.

Craig, P., J. Choat, L. Maxe & S. Saucerman. 1997. Population biology and harvest of the coral reef surgeonfish *Acanthurus lineatus* in American Samoa. *Fish. Bull.* 95, 680-693.

Cuyás, C., J.J. Castro, A.T. Santana-Ortega & E. Carbonell. 2004. Insular stocks identification of *Serranus atricauda* (Pisces, Serranidae) through the presence of *Ceratothoa steindachneri* (Isopoda, Cymothoidae) and *Pentacapsula cutanea* (Myxozoa, Pentacapsulidae), off the Canary Islands. *Scientia Marina*. 68(1):159-163.

Dawson, M.N., J.L. Staton & D.K. Jacobs, 2001. Phylogeography of tidewater goby, *Eucyclogobius newberryi* (Teleostei, Gobiidae) in coastal California. *Evolution* 55 (6): 1167-1179.

D'Ancona, U., 1949. II differenziamento della gonade e l'inversione sessuale degli Sparidi.. *Arch. Oceanol Limnol.*, 6: 97-164.

De Vries, D.A., C.B. Grimes & M.H. Prager, 2002. Using otolith shape analysis to distinguish eastern Gulf Mexico and Atlantic Ocean stocks of king mackerel. *Fisheries Research* 57: 51-62.

Debas, L., A. Fostier, J. Fuchs, M. Weppe, G. Nedelec, A. Benett, Aquacop, C. Cauty & B. Jalabert, 1989. The sexuality of cultured hermaphroditic fish species: analysis of morphological and endocrinological features in a protogynous hermaphrodite, *Epinephelus microdon*, as a basis for further research to control reproduction in grouper. In: *Advances in tropical aquaculture, Tahiti*. Actes de colloque 9. IFREMER, Paris, pp. 543-557.

- Delariva, R.L. & A.A. Agostinho, 2001. Relationship between morphology and diets of six neotropical loricaeids. *J. Fish. Biol.* 58, 832-847.
- Devlin, R.H. & Y. Nagahama. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208: 191-364.
- Domingues, V., R. Santos, A. Brito & V. Almada, 2006. Historical population dynamics and demography of the easterns Atlantic pomacentrid *Chromis limbata* (Valenciennes, 1833). *Molecular phylogenetics and Evolution*, 40: 139-147.
- Domínguez-Seoane, R., J.G. Pajuelo, J.M. Lorenzo & A.G. Ramos, 2006. Age and growth of the sharpsnout seabream *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777) inhabiting the Canarian archipelago, estimated by reading otoliths and by backcalculation. *Fisheries Research*, Vol. 81 (2-3): 142-148.
- Dorval, E., C. M. Jones, R. Hannigan & J. van Montfrans, 2005. Can otolith chemistry be used for identifying essential seagrass habitats for juvenile spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*, in Chesapeake Bay? *Marine and Freshwater Research*, 56: 645-653.
- Dulčić, J. & M. Kraljević, 1996. Weight-length relationships for 40 fish species in eastern Adriatic (Croatian waters). *Fisheries Research* 28: 243-251.
- Edmonds, J.S., M.J. Moran, N. Caputi & M. Morita, 1989. Trace element analysis of fish sagittae as an aid to stock identification: Pink snapper (*Chrysophorus auratus*) in western Australia waters. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 50-54.
- Farrugio, H., 1993. Methods to analyse the dynamiscs of exploited marine poputations: sampling methods. *Scientia Marina*, 57(2-3):255-259.

Febvre M., M. Michele, M. Lafaurie., 1975. Comparasion de la séquence ovogenetiqué chez des Téléostéens ovipares gonochoriques et hermaphrodites (Mullus, Serranus, Boops). *Pubbl.Staz.Zool.Napoli*, 39:140-152.

Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenetics: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791.

Felsenstein, J., 2005. PHYLIP (Phylogeny Inference Package). Version 3.6
Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.

Féral, J-P., 2002. How useful are the gentic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 268: 121-145.

Féral, J., É. Derelle & H. Philippe, 1994. Inferred phylogenetic trees of schzasterid echinoids from partial 28S ribosomal RNA sequences. *In*: Beaumont, A.R. (Ed.), *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. Chapman & Hall, London, pp. 199-207.

Fernández de Puellas, M.L., 1987. Evolución del microzooplancton en aguas de las Islas Canarias. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 4 (2) : 79-90.

Fisher, R.A., 1935. The logic of inductive inference. *Journal of the Royal Statistics Society*, 98: 39-54.

Fisher, W., G. Bianchi & W.B. Scott. 1981. *FAO species identification sheets for fishery purpose. Eastern Central Atlantic ; fishing areas 34, 47 (in part)*. CanadaFunds-in-Trust. Ottawa, Department of Fisheries and Oceans Caanda, by arrangement with the Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Fontdevila, A., 1987. Taxonomía y especiación. En: *Genética en acuicultura*. J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta (edts). CAICYT. Págs. 77-122.

Fowler, A.J., B.M. Gillanders & K.C. Hall, 2005. Relationship between elemental concentration and age from otoliths of adult snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae): implications for movement and stock structure. *Marine and Freshwater Research*, 56: 661-676.

Franquet, F. y A. Brito, 1995. *Especies de Interés Pesquero en Canarias*. Consejería de Pesca y Transportes del Gobierno de Canarias, Tenerife, 143 pp.

Friedland, K.D. & D.G. Reddin, 1994. Use of otolith morphology in stock discrimination of Atlantic salmon (*Salmo solar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51: 91-98.

García de León, F.J., L. Chikhi & F. Bonhomme, 1997. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of european sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology* 6, 51-62.

Garratt, P.A., 1993. Spawning of riverbream *Acanthopagrus berda*, in the Kosi estuary. *S. Afr. J. Zool.*, 28 (1): 26-31.

Gayanilo, F.C. Jr., P. Sparre, & D. Pauly, 2002. The FAO-ICLARM Stock Assessment Tools II (FiSAT II Ver. 1.0). FAO. Rome, FAO.

Gerking, S. D., 1979. Fish reproduction and stress. In: *Environmental physiology of fishes*. Ed. M.A. Ali. Plenum Press, New York, U.S.A. pp. 569-587.

Gerrids, M.O. & L. Smith, 1983. A new less toxic polymerization system for embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *J. Microscopy*, 1432: 81-85.

Girardin, M., 1978. *Les sparides (Pisces: Teleostei) du Golfe du Lion*. *Ecologie et Biogeographie*. Tesina de Grado. Universidad de Ciencias y Técnicas de Languedoc, 147 pp.

Gómez-Cabrera, M., 1991. *Biomasa y Actividad Metabólica del Zooplancton en Relación con un Efecto de Masa de Isla en aguas de Gran Canaria*. Tesis Doctoral, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 236 pp.

Gonçalves, J.M.S., L. Bentes, P.G. Lino, J. Ribeiro, A. V. M. Canário, & K. Erzini, 1997. Weight-length relationships for selected fish species of the small-scale demersal fisheries of the south and south-west coast of Portugal. *Fisheries Research* 30, 253-256.

Gonçalves, J.M.S., L. Bentes, R. Coelho, C. Correia, P.G. Lino, C.C. Monteiro, J. Ribeiro & K. Erzini, 2003. Age and growth, maturity, mortality and yield-per-recruit for two banded bream (*Diplodus vulgaris* Geoffr.) from the south coast of Portugal. *Fisheries Research* 62: 349-359.

González, M., 2001. Caracterización molecular de la palmera (*Phoenix canariensis*) como base para su conservación. Tesis Doctoral. Departamento de Biología, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 320 pp.

González, A. F., M. Rasero. & A. Guerra, 1992. *Illex coindetti* and *Todaropsis eblanae* (Cephalopoda, Ommastrephidae): their present status in Galician fisheries. *International Council for the Exploration of the sea (CM Papers and Reports)*, CM 1992/K:5, 1-14.

González, J., C. Hernández, P. Marrero y E. Rapp. 1994. *Peces de Canarias. Guía submarina*. Fco. Lemus Editor. Sta Cruz de Tenerife. 223 pp.

González-Pajuelo, J.M., 1997. La pesquería artesanal Canaria de especies demersales: análisis y ensayo de dos modelos de evaluación. Tesis doctoral. Departamento de Biología, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 347 pp.

González-Pajuelo, J.M. y J. M. Lorenzo-Nespereira, 2001. Estado de explotación de la chopo *Spondylus cantharus* (Linnaeus, 1758) en aguas de Gran Canaria (islas Canarias). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 17 (3 y 4): 271-277.

González-Wangüemert, M., Á. Pérez-Ruzaa, C. Marcos & J.A. García-Charton, 2004. Genetic differentiation of *Diplodus sargus* (Pisces: Sparidae) populations in the south-west Mediterranean. *Biol. J. Linn. Soc.*82: 249-261.

González-Wangüemert, M., Á. Pérez-Ruzaa, C. Marcos & J.A. García-Charton, 2006. Genetic differentiation and gene flow of two sparidae subspecies, *Diplodus sargus sargus* and *Diplodus sargus cadenati* in Atlantic and south-west Mediterranean population. *Biological Journal of the Linnean Society* ,89, 705–717.

Gordoa, A. & B. Molí, 1997. Age and growth of the sparids *Diplodus vulgaris*, *D. sargus* and *D. annularis* in adult populations and the differences in their juvenile growth patterns in the north-western Mediterranean sea. *Fisheries Research* 33: 123-129.

Gordon, M., X. Huang, S. Pentoney & R. Zare, 1988. Capillary electrophoresis. *Science*, 242: 224-228.

Gorman, G.C. & J. R. Renzi, 1979. Genetic distance and heterozygosity estimates in electrophoretic studies: Effects of sample size. *Copeia* 1979: 242-249

.

Grier, H.J., 1981. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *Amer. Zool.* 211: 345-357.

Guerra-Sierra, A. & J.L. Sánchez-Lizaso, 1998. *Fundamentos de explotación de recursos vivos marinos*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza. 249 pp.

Gulland, J.A., 1974 *The management of marine fisheries*. Bristol, Sciencetchnica Publishers Ltd., 198 p.

Gulland, J.A., 1977. *Metas y objetivos de la ordenación pesquera*. FAO, Doc. Tec .Pesca, (166): 14.

Gyllesten, U., 1985. The genetic structure of fish: differences in the intraspecific distribution of biochemical genetic variation between marine, anadromous, and freshwater species. *J. Fish Biol.*, 26: 691-699.

Hahn, N. S., I. F. Adrian, R. Fugi & V. L. L. Almeida, 1997. Ecología trófica. In *A Planície de Inundação do Alto Rio Paraná: aspectos físicos biológicos e socioeconômicos* (Vazzoler, A. E. A. de M., Agostinho, A.A. & Hahn, N. S., eds), pp. 209-228. Maringa: EDUEM; Nupelia.

Haldane, J.B.S., 1954. An exact test for randomness of mating. *J. Genet.*, 52: 631-635.

Hardy, G. H., 1908. Mendelian proportions in a mixed population. *Science*, 28: 49-50.

Harris, H., 1966. Enzyme polymorphism in man. *Proc. Royal Soc. B*, 164: 298.

Harris, H. & D.A. Hopkinson, 1976. *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*. North Holland Publishing, Amsterdam.

Hartl, D. L. & A.G. Clark, 1997. *Principles of population genetics*. Sinauer Publ., Sunderland, MA.

Hasselblad, V., 1966. Estimation parameters for a mixture of normal distributions. *Technometrics*, 8(3): 431- 444.

Hawkins, A.D., 1993. Underwater sound fish behaviour. IN: *Behaviour of Teleost Fishes*, 2nd ed. (T.J. Pitcher, Ed.) Chapman & Hall, Fish and Fisheries Series, 7. 129-170 pp.

Hederström, H., 1759. Rön am Fiskars Alder. *Kungl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar (Stockholm)* 20, 222-229. In: Report of the *Institute of Freshwater Research, Drottningholm* 40, 161-164 (1959) as observations on the age of fishes.

Hernández, J.C., A. Brito, E. Cubero, N. García, D. Girard, G. Gustavo-Lorenzo, y J.M. Falcón, 2006. Temporal patterns of larval settlement of *Diadema antillarum* (Echinodermata: Echinoidea) in the Canary Islands using an experimental larval collector. *Bulletin of Marine Science* 78(2): 271-279.

Hernández, J. C., S. Clemente, A. Brito, J. M. Falcón, N. García & J. Barquín, 2005a. Status of *Diadema antillarum* (Echinoidea: Diadematidae) populations and macroalgal cover in the Marine Protected Areas from the Canary Islands: spatial distributional patterns. *VIERAEA*, 33: 367-383.

Hernández, J. C., S. Clemente, J. M. Falcón, A. Brito & J. Barquín, 2005b. Marine protected areas from the Canary Islands as controlling force of *Diadema antillarum* (Echinoidea: Diadematidae) populations. *VIERAEA*, 33: 399-418.

Hernández-García, V. & J.J. Castro, 1998. Morphological variability in *Illex coindetii* (Cephalopoda: Ommastrephidae) along the North-west coast of Africa. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 78: 1259-1268.

Hernández-Guerra, A., 1993. Phytoplankton pigment patterns in the Canary Islands area as determined using Coastal Zone Colour Scanner data. *Int. J. Remote Sensing*, 14 (7): 1431-1437.

Hernández-León, S., 1986. "Efecto de la Masa de Isla" en Aguas del Archipiélago Canario Según Estudios de Biomasa y Actividad del Sistema de Transporte de Electrones en el Mesozooplankton. Tesis Doctoral, Universidad de La Laguna, 402 pp.

Hernández-León, S., 1988a. Algunas observaciones sobre la abundancia y estructura del mesozooplankton en aguas del Archipiélago Canario. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 5 (1): 109-118.

Hernández-León, S., 1988c. Ciclo anual de la biomasa del mesozooplankton sobre un área de plataforma en aguas del Archipiélago Canario. *Inv. Pesq.*, 52 (1): 3-16.

Hernández-León, S., O. Llinás y J.G. Braun, 1984. Nota sobre la variación de la biomasa del mesozooplankton en aguas de Canarias. *Inv. Pesq.* 48 (3): 495-508.

Hernández-León, S., y D. Miranda-Rodal, 1987. Actividad del sistema de transporte de electrones y biomasa del mesozooplankton en aguas de las Islas Canarias. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 42 (2): 49-62.

Hickling, C. F., 1931. The structure of the otolith of the hake. *Quarterly Journal of Microscopic Sciences*, 74: 547-563

Holden, M.J., y D.F.S. Raitt, 1975. Manual de ciencia pesquera. Parte II. Métodos para investigar los recursos y su aplicación. *FAO Doc. Téc. Pesca*, 115:211 pp.

Hugueny, B. & M. Pouilly, 1999. Morphological correlates of diet in an assemblage of West African freshwater fishes. *J. Fish. Biol.* 54, 1310-1325.

Husebø, Å., A. Slotte, L.A.W. Clausen & H. Mosegaard, 2005. Mixing of populations or year class twinning in Norwegian spring spawning herring? *Marine and Freshwater Research*, 56: 763-772.

ICSEAF, 1983. Otolith interpretation guide. Hake. *ICSEAF*,1: 70 pp.

Ihssen, P.E., H.E. Booke, J.M. Casselman, J.M. McGlade, N.R. Payne & F.M. Utter, 1981. Stock identification: materials and methods. *Can J. Fish. Aquat. Sci.* 38, 1838-1855.

Jawad, L.A. & P.J. Smith, 2002. Phosphoglucosmutase genotypes and spawning time in two species of anchovy, *Thryssa hamiltoni* and *T. Mystex*, from north west Arabian Gulf. *Fisheries Research*, 59: 273-277.

Joubert, C.S.W., 1981. Aspects of the biology of five species of inshore reef fishes on the Natal Coast, South Africa. *Invest. Rep. Oceanogr. Res. Inst.*, 51: 1-6.

- Kendall, A.W., E. H. Aslstrom & H.G. Moser, 1984. Early life history stages of fishes and their characters. *In*: Moser H.G., Richards W.J., Cohen, D.M., Fahay, M.P., Kendall, A.W., Richardson, S.L. (eds) *Ontogeny and systematics of fishes. American Society of Ichthyologists and Herpetologists*, Special publication No. 1. Allen press Inc, Lawrence, Kansas, pp. 11-22.
- Kinacigil, H.T., O. Akyol, G. Metin & H. Saygi, 2000. A Systematic Study on the Otolith Characters of Sparidae (Pisces) in the Bay of Izmir (Aegean Sea). *Turk. J. Zool.* 24, 357-364.
- Kinsey, S.T., T. Orosy, T.M. Bert & B. Mahmoudi, 1994. Population study of the spanish sardine (*Sardinella aurita*): natural morphological variation in genetically homogenous populations. *Mar. Biol.*, 118: 309-317.
- Kojima, K., 1981. Spawning of the red sea bream *Pagrus major* in the waters around Iki Island and Mishima Island in the western part of the Japan sea. *Bulletin of the Seikai Regional Fisheries Research Laboratory*, 56: 71-87.
- Koumoundouros, G., S. Kouttouki, E. Georgakopoulou, I. Papadakis, E. Maingot P. Kaspiris, Y. Kiriakou, G. Georgiou, P. Divanach, M. Kentouri, & C.C. Mylonas, 2005. Ontogeny of the shi drum *Umbrina cirrosa* (Linnaeus 1758), a candidate new species for aquaculture. *Aquaculture Research*, 36 (13): 1265-1272.
- Kouttouki, S., E. Georgakopoulou, P. Kaspiris, P. Divanach & G. Koumoundouros, 2006. Shape ontogeny and variation in the sharpsnout seabream, *Diplodus puntazzo* (Cetti 1777). *Aquaculture Research*, 3:655-663.
- Kutkuhn, J.H., 1981. Stock definition as a necessary basis for cooperative management of Great Lakes fish resources. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38, 1476-1478.
- Lang, J.B. & C.D. Buxton, 1993. Validation of age estimates in sparid fish using fluorochrome marking. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 13: 195-203.

Leary, R.F. & H.E. Booke, 1990. Starch gel electrophoresis and species distinctions. In: C. B. Schreck & P.B. Moyle (eds.). pp. 141-170. *Methods for fish biology*. American Fisheries Society. Bethesda, Maryland.

Leis, J.M. & B.M. Carson-Ewart, 2001. Behaviour of pelagic larvae of four coral-reef fish species in the ocean and an atoll lagoon. *Coral Reefs* 19, 247-257.

Lenfant, P., 2002. Heterozygosity and fitness: the case of marine fish, *Diplodus sargus* (Linne, 1758). *Comptes Rendus Biologies* Vol. 325, no. 3, pp. 239-252.

Lenfant, P., 2003. Demographic and genetic structures of white sea bream populations (*Diplodus sargus*, Linnaeus, 1758) inside and outside a Mediterranean marine reserve. *Comptes rendus Biologies*, Vol. 326, no. 8, pp. 751-760.

Lenfant, P. & S. Planes, 1996. Genetic differentiation of white sea bream within the Lion's Gulf and the Ligurian Sea (Mediterranean Sea). *J. Fish Biol.* 49, pp. 613-621.

Lenfant, P. & S. Planes, 2002. Temporal genetic changes between cohorts in a natural population of a marine fish, *Diplodus sargus*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 76 (1): 9-20

Lessios, H.A., 1992. Testing electrophoretic data for agreement with Hardy-Weinberg expectations. *Marine Biology*, 112: 517-523.

Levi, D., B. Patti, P. Rizzo, S. Lo Brutto, N. Parrinello & M. Arcuelo, 2004. Genetic and morphometric variation of Mediterranean hake, *Merluccius merluccius*, in the Straits of Sicily (central Mediterranean): implications for stock assessment of shared resources. *Italian Journal of Zoology*, 71(2): 165-170.

Lewontin, R.C., 1972. The apportionment of human diversity. *Evol. Biol.*, 6: 381-398.

- Lewontin, R.C. & J.L. Hubby, 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54: 595-609.
- Linde M., M. Palmer & J. Gómez-Zurita, 2004. Differential correlates of diet and phylogeny on the shape of the premaxilla and anterior tooth in sparid fishes (Perciformes:Sparidae). *J. Evol. Biol.* 17: 941–952.
- Llinás, O., M.J. Rueda y E. Pérez-Martel, 1993. Variabilidad de parámetros oceanográficos en aguas de Canarias. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 9 (1): 89-100.
- Llinás, O., M.J. Rueda y E. Pérez-Martel, 1994. Características termohalinas y nutrientes en aguas de las plataformas insulares canarias a finales de primavera. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 10 (2): 177-189.
- Lloris, D. 1999. Cambio climático: ¿actividad humana o natural?. *Mundo Científico (La Recherche)*, 197 (Enero): 61-65.
- Lloris, D., C. Allue, J. Rucabado y C. Bas, 1977. Fichas de identificación de especies. Atlántico Oriental. Estrecho de Gibraltar-Cabo Verde (Zona CECAF 34). I. Or. Percomorphi, Fam. Sparidae. *Datos informativos Inst. Inv. Pesq.*, 3.
- Lorenzo, J.M., 1992. Crecimiento de la Caballa *Scomber japonicus* (Houttuyn, 1782) en Aguas del Archipiélago Canario. Tesis Doctoral, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 199 pp.
- Loy, A., M. Bertelletti, C. Costa, L. Ferlin & S. Cataudella, 2001. Shape changes and growth trajectories in the early stages of three species of the genus *Diplodus* (Perciformes, Sparidae). *Journal of Morphology* 250, 24-33.

Loy, A., C. Boglione & S. Cataudella, 1999. Geometric morphometrics and morpho-anatomy: a combined tool in the study of the sea bream (*Sparus aurata*, *sparidae*) shape. *J. Appl. Ichthyol.* 15: 104-110.

Loy, A., S. Busilacchi, C. Costa, L. Ferlin & S. Cataudella, 2000. Comparing geometric morphometrics and outline fitting methods to monitor fish shape variability of *Diplodus puntazzo* (Teleostea: Sparidae). *Aquacultural Engineering* Vol. 21, no. 24, pp. 217-283.

Loy, A., L. Mariani, M. Bertelletti & L. Tunesi, 1998. Visualising allometry: geometric morphometrics in the study of the shape changes in the early stages of two-banded sea bream, *Diplodus vulgaris* (Perciformes: Sparidae). *J. Morphology.* 237: 137-146.

Lozano y Rey, L., 1952. Peces fisoclistos. *Mems. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat. Madrid*, 14: 613 pp.

Luckenbach, J.A., J.G. Godwin, H. V. Daniels & R. J. Borski, 2003. Gonadal differentiation and effects of determination in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture*, 216: 315-327.

Magoulas A., V. Terzoglou, G. Kotoulas & A. Machias. 2003. Analysis of mitochondrial DNA variation of the populations of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Central Greek seas suggests the existence of two discrete genetic stocks. *7th Hellenic Symposium on Oceanography and Fisheries*. Chersonissos, Greece, 6-9 May 2003. Abstracts. 7o Panellinio Symposio Okeanografias kai Alieias. Chersonisos, Greece, 6-9 Maiou 2003. Perilipseis. p. 171.

Mancera-Rodríguez, N. 2000. *Estudio de la Biología, Ecología y Pesquería de Stephanolepis hispidus (Linnaeus, 1766) (Pisces: Monacanthidae) en aguas de Canarias*. Tesis Doctoral. Departamento de Biología, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 302 pp.

- Manickchand-Heileman, S.C. & D.A. Phillip, 2000. Age and growth of the yellow edge grouper, *Epinephelus flavolimbatus*, and the yellowmouth grouper, *Mycteroperca interstitialis*, off Trinidad and Tobago. *Fish. Bull.* 98: 290-298.
- Mangold, K. 1987. Reproduction. In: *Cephalopod life cycles*, vol. 2 (ed. P.R. Boyle), pp.135-156. London: Academic Press.
- Mann, Q. & C.D. Buxton, 1998. The reproductive biology of *Diplodus sargus capensis* and *Diplodus cervinus hottentotus* (Sparidae) off the south-east Cape coast, South Africa. *Cybium*, 22 (1): 31-47.
- Man-Wai, L. & I.P. Quignard, 1984. Le sars *Diplodus sargus* (Linnaeus, 1758) du Golfe du Lion: Croissance et caractéristiques des débarquements aux criées de Sète et du gran du Roi. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 46 (3): 173-194.
- Market, C. & I. Faulhaber, 1965. Lactate dehydrogenase isozyme patterns in fish. *J. Exp. Zool.*, 159: 319-332.
- Martínez, C. y M.L. Villegas, 1996. Edad, crecimiento y reproducción de *Diplodus sargus* Linnaeus, 1758 (Sparidae) en aguas asturianas (norte de España). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 12 (1): 65-76.
- Martínez Pastor, C. y M. L. Villegas Cuadros. 1992. Caracterización morfobiométrica de *Diplodus sargus* (Linnaeus, 1758) (F. Sparidae) de las costas asturianas (N de España). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 8 (2): 317-326.
- Mascareño, D., 1972. Algunas consideraciones oceanográficas de las aguas del Archipiélago Canario. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 158: 1-79.
- Matsuyama M., R. Torres Lara & S. Matsuura. 1988. Juvenile bisexuality in the red sea bream, *Pagrus major*. *Envir. Biol. Fish.* 21: 27-36.

Mattiangeli, V., E.A. Bourke, A.W. Ryan, J. Mork & T.F. Cross. 2000. Allozyme analyses of the genus *Trisopterus*: taxonomic status and population structure of the poor cod. *Journal of Fish Biology*, Vol. 56, no. 3, 474-494.

Mattiangeli, V., A.W. Ryan, P.Galvin, J. Mork & T.F. Cross. 2003. Eastern and Western Poor Cod (*Trisopterus minutus capelanus*) Populations in the Mediterranean Sea: Evidence from Allozyme and Minisatellite Loci. *Marine Ecology* Vol. 24 (4): 247-258

May, B. 1992. Starch gel electrophoresis of allozymes. In: *Molecular Genetic Analysis of Populations. A practical approach*. Hoezel, A.R. (ed.). Oirl Press at Oxforford University Press, pp. 1-25.

McAndrew, B.J. & J.C. Majumdar, 1983. Tilapia stock identification using electrophoresis markers. *Aquaculture*, 30: 249-261.

McClanahan, T.R. & N.A. Muthiga. 1998. Changes in Kenya coral reef community structure and function due explotation. *Hydrobiologia*, 166(3): 269-276.

Medina, L., 1995. Análisis Multidisciplinar del Ecosistema Costero Insular, Balance Energético, Capa de Mezcla y Modelo Biológico. Tesis Doctoral, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 334 pp.

Medina, L., P. García-Jimenez, A. Luque & R. Robaina, 1998. The community structure of phytoplankton as indicator of coastal water quality in the tourist area. *Bol. Mus. Mun. Funchal* 50 (288): 91-106.

Méndez-Villamil, M., 2001. *Estudio del Ciclo Biológico de la salema Sarpa salpa (Linnaeus, 1758) en aguas de Gran Canaria*. Tesis doctoral. Departamento de Biología, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 152 pp.

Mendéz-Villamil, M., J.M. Lorenzo, J.G. Pajuelo, A. Ramos & J. Coca, 2002. Aspects of the life history of the salema, *Sarpa salpa* (Pisces, Sparidae), off the Canarian Archipelago (central-east Atlantic). *Env. Bio. Fish.*, 63: 183-192.

Menge, B.A. & A.M. Olson, 1990. Role of scale and environmental factors in regulations of community structure. *Trends Ecol. Evol.* 5, 52-57.

Meyer, A. 1989. Plasticity in morphology and performance in the tropically polymorphic cichlid fish, *Cichlasoma citrinellum*. *DISS. ABST. INT. PT. B. SCI. And ENG.*, 50 (4): 229 pp.

Micale, V. & F. Perdicchizzi, 1994. Further studies on the sexuality of the hermaphroditic teleost *Diplodus sargus*, with particular reference to protandrous sex inversion. *J. Fish. Biol.*, 45: 661-670.

Micale, V., Perdicchizzi, F. & G. Santangelo, 1987. The gonadal cycle of captive white sea bream, *Diplodus sargus* (L.). *J. Fish. Biol.*, 31: 435-440.

Molina, R. y F.L. Laatzén, 1986. Hidrología en la región comprendida entre las Islas Canarias orientales, Marruecos y las Islas Madeira. Campaña "Norcanarias I". *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 3 (3): 1-16.

Molina, R. y F.L. Laatzén, 1989. Hidrología en la región canaria. Campaña "Canarias I". *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 5 (2): 71-86.

Morales-Nin, B., 1987. Métodos de determinación de la edad en los osteíctios en base a estructuras de crecimiento. *Inf. Téc. Inst. Inv. Pesq.*, 143: 30 pp.

Morales-Nin, B., 1989. Growth determination of tropical fishes by means of otolith interpretation and length frequency analysis. *Aquat. Living Resour.* 2: 241-254.

Morales-Nin, B. & J. Panfili, 2002. Verificaction. In: *Manual of Fish sclerochronology* (Panfili J., Pontusl H. (de), Troadec H., Wright, P.J., eds), pp138-142. Brest, France: Ifremer-IDP coedition.

Morales-Nin, B. & S. Ralston, 1990. Age and growth of *Lutjanus kasmira* (Forsk.) in Hawaiian waters. *J. Fish Biol.*, 36: 191-203.

Morato, T., P. Afonso, P. Lourinho, J. P. Barreiros, R. S. Santos & R.D.M. Nash, 2001. Lenght-weight relationships for 21 coastal fish species of the Azores, north-eastern Atlantic. *Fisheries Research* 50, 297-302.

Motta, PJ, KB Clifton, P. Hernandez & BT. Eggolt, 1995. Ecomorphological correlates in ten species of subtropical seagrass fishes: diest and microhabitat utilization. In: Luczkovich JJ, Motta PJ, Norton SF, Liem KF, editors. *Ecomorphology of fishes*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishing. p 37-60.

Moureau, J., 1987. Mathematical and biological expressions of growth in fishes: recent trends and further developments. In: R.C. Summerfelt and G.E. Hall, Editors, *Age and Growth of Fish*, Iowa State University Press, Iowa (1987), 81-113 pp.

Munro, A. D., 1990. General Introduction. In: A. D. Munro, A. P. Scott, and T. J. Lam (eds). *Reproductive seasonality in teleosts: environmental influences*. CRC Press. Boca Raton, Florida. 1-11 pp.

Nei, M., 1972. Genetic distances between populations. *Am. Nat.*, 106: 283-292.

Nei, M., 1987. *Moelcular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.

Nei, M., 1978. Estimation average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 586-590.

Nei, M., T. Maruyama & R. Chakraborty, 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29: 1-10.

Nelson, G., 1979. Cladistic analysis and synthesis: Principles and definitions, with a historical note on Adamson's *Familles des Plantes* (1763-1764). *Syst. Zool.*, 28: 1-29.

Nevo, E., 1978. Genetic variation in natural populations: patterns and theory. *Theoretical Population Biology*, 13: 121-177.

Nevo, E., A. Veiles & R. Ben-Shlomo, 1984. The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates. *Lecture Notes in Biomathematics*, 53: 12-213.

Newman, S.J., M. Cappel & D.M. Williams, 2000. Age, Growth, mortality rates and corresponding yield estimates using otoliths of the tropical red snappers, *Lutjanus erythropterus*, *L. malabaricus* and *L. sebae*, from the central Great Barrier Reef. *Fisheries Research*, vol 48, 1-14.

Ng, T. B. & Idler, D.R. 1983. Yolk formation and differentiation in teleost fishes. In *Fish Physiology*, Vol IXA (Hoar, W. S., Randall, D. J. & Donaldson, E. M., eds), pp. 373-397. New York: Academic Press.

Ng, T. B., P.P.L. Tam & N. & S. Woo, 1986. Sexual maturation in the black seabream, *Mylio macrocephalus* Teleostei, Sparidae: changes in pituitary gonadotropes, hepatocytes and related biochemical constituents in liver and serum. *Cell and Tissue Research*, 245: 207-213.

Ojeda Guerra, M. D., 1983. *Biología y captura de Espáridos en la costa oriental de Gran Canaria*. Tesina Licenciatura, Fac. Biol. Univ. La Laguna. 177 pp.

Olsen, J.B., S. E. Merkouris & J.E. Seeb, 2002. An examination of spatial and temporal genetic variation in walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) using allozyme, mitochondrial DNA, and microsatellite data. *Fish Bull.*, 100: 752-764.

Pajuelo, J.G. 1997. *La pesquería artesanal canaria de especies demersales: análisis y ensayo de dos modelos de evaluación*. Mem. Tesis Doctoral. Univ. de Las Palmas de Gran Canaria. 347 pp.

Pajuelo, J. G. & J.M. Lorenzo., 1995b. Biological parameters reflecting the current state of the exploited pink dentex *Dentex gibbosus* (Pisces: Sparidae) population off Canary Islands. *S. Afr. J. Mar. Sci.*, 16: 311-319.

Pajuelo, J. G. & J.M. Lorenzo, 1996. Life history of the red porgy *Pagrus pagrus* (Teleostei: Sparidae) off the Canary Islands, Central-East Atlantic. *Fis. Res.*, 28: 163-177.

Pajuelo, J. G. & J.M. Lorenzo, 1998. Population biology of the common pandora *Pagellus erythrinus* (Pisces: Sparidae) off the Canary Islands. *Fis. Res.*, 30: 1-12.

Pajuelo, J.G. & J.M. Lorenzo, 1999. Life history of black seabream, *Spondylusoma cantharus*, off the Canary Islands, Central-east Atlantic. *Environmental Biology of Fishes* 54: 325-336.

Pajuelo, J. G. & J. M. Lorenzo, 2000. Reproduction, age, growth and mortality of axillary seabream, *Pagellus acarne* (Sparidae), from Canarian Archipelago. *J. Appl. Ichthyol.*, 16: 41-47.

Pajuelo, J.G. & J.M. Lorenzo, 2001. Biology of the annular seabream, *Diplodus annularis* (Sparidae), in coastal waters off the Canary Islands. *J. Appl. Ichthyol.*, 17, 121-125.

Pajuelo, J.G. & J.M. Lorenzo, 2002. Growth and age estimation of *Diplodus sargus cadenati* (Sparidae) off Canary Islands. *Fisheries Research*, 59 (1-2): 93-100.

Pajuelo, J.G. & J.M. Lorenzo, 2004. Basic characteristics of the population dynamic and state of exploitation of Moroccan white seabream *Diplodus sargus cadenati* (Sparidae) in the Canarian Archipelago. *J. Appl. Ichthyol.*, 20(1), 15-21 (7).

Pajuelo, J.G., J.M. Lorenzo & R. Domínguez-Seoane, 2003a. Age estimation and growth of the zebra seabream *Diplodus cervinus cervinus* (Lowe, 1838) on the Canary shelf (Central east Atlantic). *Fisheries Research*, 62 (1): 97-103.

Pajuelo, J.G., J.M. Lorenzo, R. Domínguez, A. Ramos, M. Gregoire, 2003b. On the population ecology of the zebra seabream *Diplodus cervinus cervinus* (Lowe 1838) from the coasts of the Canarian archipeligo, North West Africa. *Environmental biology of fishes*, Vol. 67, no. 4, pp. 407-416.

Pajuelo, J.G., J.M. Lorenzo, A.G. Ramos, M. Méndez y J. Coca, 2001. *Ciclo de vida del sargo blanco Diplodus sargus cadenati y de la seifia Diplodus vulgaris de las Islas Canarias*. Informe Final. Programa Próprio de Investigación Convocatoria 1999, 32 pp.

Palma, J. & J.P. Andrade, 2002. Morphological study of *Diplodus sargus*, *Diplodus puntazzo* and *Lithognahtus mormyrus* (Sparidae) in the Eastern Atlantic and Mediterranean Sea. *Fisheries Research* 57 pp. 1-8.

Palma, J. & J.P. Andrade, 2004. Morphological study of *Pagrus pagrus*, *Pagellus bogaraveo* and *Dentex dentex* (Sparidae) in the Eastern Atlantic and Mediterranean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* Vol: 48, no. 2 pp. 449-454.

Palumbi, S.R., 1992. Marine speciation on a small planet. *Trends Ecol. Evol.* 7, 114-118.

Palumbi, S.R., 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 25: 547-572.

Palumbi, S.R., 1995. Using genetics as an indirect estimator of larval dispersal. In: McEdward LR (ed.), *Ecology of Marine Invertebrate Larvae*. CRC press, Boca Raton, FI, pp 369-387.

Pannella, G., 1971. Fish otoliths: daily growths layers and periodical patterns. *Science* 173, 1124-1126.

Panella, G., 1974. Otolith growth patterns: an aid in age determination in temperate and tropical fishes. In: *Ageing of fish*, T.G.Bagenal (Editor), Gresham Press, Old Woking, England, p. 28-39.

Parker, S., 1982. *Synopsis and classification of living organisms*. Vol II. McGraw Hill, New York, p.921.

Pauly, D. & J.F. Caddy, 1985. A modification of Bhattacharyas's method for the analysis of mixtures of normal distributions. *FAO Fish. Circ.* (781), 16 pp.

Pawson, M.G. & S. Jennings, 1996. A critique of methods for stock identification in marine capture fisheries. *Fish. Res.* 25, 203-217.

Pereiro, J.A. 1982. Modelos al uso en dinámica de poblaciones marinas sometidas a explotación. *Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanog.*, 1.

Pérez-Losada, M.A. Guerra & A. Sanjuan, 1999. Allozyme differentiation in the cuttle fish *Sepia officinalis* (Mollusca: Cephalopoda) from the NE Atlantic and Mediterranean. *Heredity* 83:280-289.

Pérez-Losada, M.A. Guerra , G. R. Carvalho, A. Sanjuan & P.W. Shaw, 2002. Extensive population subdivision of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Mollusca: Cephalopoda) around the Iberian Peninsula indicated by microsatellite DNA variation. *Heredity* 89:417-424.

Pérez-Martell, E., O. Llinás, R. Onken y W. Zenk, 1996. Variabilidad térmica del agua central noratlántica entre Gran Canaria y el talud sahariano. Resultados preliminares. *I. Congreso sobre Ocenografía y Recursos Marinos en el Atlántico Centro-Oriental, Gran Canaria (Spain)*, 28-30 Nov 1990. (O. Llinás, J.A. González, M.J. Rueda, es.) ICCM 1996. Las Palmas de Gran Canaria, Spain. P. 27-44.

Petrakis, G. & K.I. Stergiou, 1995. Weight-length relationships for 33 species in Greek waters. *Fisheries Research*, 21: 465-469.

Petursdottir, G., G.A. Begg & G. Marteinsdottir, 2006. Discrimination between Icelandic cod (*Gadus morhua* L.) populations from adjacent spawning areas based on otolith growth and shape. *Fisheries Research*, 80 (2-3): 182-189.

Piñeiro, C.G., A. Padín y I. Loureiro, 1996. Metodología y técnicas usuales en la preparación de otolitos para la determinación de la edad de los peces. *Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr.*, N° 163: 29 pp.

Pla, C. & J.M. Pujolar, 1999. Genetic homogeneity of dolphin fish (*Coryphaena hippurus*) in the western Mediterranean and the eastern Atlantic. *Scientia Marina* 63 (3-4): 337-341.

Planes, S. 2000. Genetic Studies (pp 18-22). In: eds. Mast-Ecomare: *Introductory Guide of Methods for Selected Ecological Studies in Marine Reserves* (Goñi R.; M. Harmelin-Vivien, F. Badalamenti, L. le Doiréach, G. Bernard) GIS Posidoine Publ, France.

Planes, S. & P. Lenfant, 2002. Temporal changes in the genetic structure between and within cohorts of a marine fish, *Diplodus sargus*, induced by a large variance in individual reproductive success. *Molecular Ecology*, 11: 1515-1524.

Planes, S., E. Macpherson, F. Biagi, A. Garcia-Rubies, J. Harmelin, M. Harmelin-Vivien, J.-Y. Jouvenel, L. Tunesi, L. Vigliola, & R. Galzin, 1999. Spatio-temporal variability in growth of juvenile sparid fishes from the Mediterranean littoral zone. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 79, 137-143.

Pope, J. G., A. R. Margetts, J. M. Hamley y E. F. Akyuz, 1983. Manual de métodos para la evaluación de las poblaciones de peces. Parte 3. Selectividad del arte de pesca. *FAO. Dóc. Téc. Pesca*, 41:1-56.

Popper, A.N., J. Ramcharitar & S.E. Campana, 2005. Why otoliths? Insights from inner ear physiology and fisheries biology. *Marine and Freshwater Research*, 56: 497-504.

Potts, G.W. & R.J. Wootton, 1984. *Fish Reproduction. Strategies and tactics*. Academic Press Limited (ed). St Edmundsbury Press, Bury St Edmunds, Suffolk. 410 pp.

Poulik, M.D., 1957. Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature*, 18: 1477-1479.

Powel, J.R., 1975. Protein variation in natural populations of animals. In: T. Dobzhansky, M.K. Hecht and W. C. Steere (eds.) *Evolutionary Biology*. New York: Plenum press

Queró, J.C., J. C. Hureau, C. Karrer, A. Post & L. Saldanha. 1990. *Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic*. Clofeta Vol II. UNESCO, SEI and JNICT Portugal.

Quesada, H. C.M. Benyon & D.O.F. Skibinski, 1995. A mitochondrial DNA discontinuity in the mussel *Mytilus galloprovincialis* LMK: Pleistocene vicariance biogeography and secondary integradation. *Mol. Biol. Evol.* 12: 521-524.

Ramos A. y P. Sangrá, 1992. Características oceanográficas en el área de Canarias: Relación con la pesquería de listado (*Katsuwonus pelamis*). *Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT Recl. Doc. Sci. CICTA Colecc. Doc. Cient. CICAA.*, 39 (1): 289-296.

Raymond, M. & F. Rousset,. 1997. GENEPOP. Version 3.1. Laboratoire de Génétique et Environnement. Université de Montpellier II. Montpellier. France.

Reibish, J., 1899. Über die Einzahl bei *Pleuronectes platessa* und die Alterbestimmung dieser Form aus den Otolithen. *Wissenschaftliche Meerensuntersuchungen* 4, 233-248.

Reina, J., G. Martinez, A. Amores & M. C. Alvarez, 1994. Interspecific genetic differentiation in Western Mediterranean sparid fish. *Aquaculture*, 125: 47-57.

Reinboth, R., 1962. Morphologische und funktionelle Zweigeschlechtlichkeit bei marinen Teleostiern (Serranidae, Sparidae, Centranchidae, Labridae) Zoologische Jahrbucher. *Zool. Jahrb. Abt. Allgem. Zool. Physiol. Tiere*. 69: 405-480.

Reinboth, R., 1962. Morphologische und funktionelle Zweigeschlechtlichkeit bei marinen Teleostiern (Serranidae, Sparidae, Centranchidae, Labridae) Zoologische Jahrbucher. *Zool. Jahrb. Abt. Allgem. Zool. Physiol. Tiere*. 69: 405-480.

Reinboth, R. 1970. Intersexuality in fishes. In: *Hormones and the Environment* (Benson, K. G. & Phillips, J. C., Eds), pp. 515-543. *Memoirs of the Society for the Endocrinology*, No.18 London: Cambridge University Press.

Reynolds, W.W. & M.E. Casterlin., 1980. Role of temperature in environmental physiology of fishes. In: *Environmental physiology of fishes* (ed. M.A. Ali), pp. 497-518. New York: Plenum Press.

Rice, W.R., 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43: 223–225.

Richardson, B.J., P.R. Baverstock & M. Adams, 1986. Allozyme Electrophoresis. A handbook for animalsystematics ans population studies. Academic Press. Sydney. 410 pp.

Ricker, W.E., 1979. Growth rates and models. In: *Fish Phisiology*, vol. 8 (ed. W.S. Hoar et al.), pp. 667-743. New York:Academic Press.

Ridgway, G.J., S.W. Sherburne & R.D. Lewis, 1970. Polymorphims in the esterases of Atlantic herring. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 99: 147-151.

Rodriguez, J.M., S. Hernández-León & E.D. Barton, 1999. Mesoscale distribution of fish larvae in relation to an upwelling filament off Northeast Africa. *Deep Sea Research Part-1, Oceanographic Research Papers*, 46 (11): 1969-1984.

Rohlf, F.J. & L.F. Marcus, 1993. A revolution in morphometrics. *Trends Ecol. Evol.* 8: 129-132.

Ryman, N. & G. Stahl, 1981. Genetic perspectives of the identification and conservation of Scandinavian stocks of fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38: 1562-1575.

Sadovoy, Y. & D. Y. Shapiro, 1987. Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. *Copeia*, 1: 136-156.

Saila, S.B., C. W. Recksiek & H. Prager, 1988. Basic Fishery Science Programs. A compendium of Microcomputer Programs and Manual of Operation. *Develop. Aquat. Fish. Sci.*, 18: 1-230

Saitou, N. & M. Nei, 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4: 406-425.

Salini, J.P., D.A. Milton, M.J. Rahman & M.G. Hussain, 2004. Allozyme and morphological variation throughout the geographic range of the tropical shad, hilsa *Tenualosa ilisha*. *Fisheries Research* 66 (1):53-69.

Santana, J. I., J. A. González, J. Carrillo, E. M. Rodríguez, I. J. Lozano, J. A. Gómez, y R. Castillo, 1986. *Investigación de parámetros biológicos y evaluación de recursos pesqueros, Tomo III. Sobre el sargo blanco, Diplodus sargus cadenati de La Paz, Bauchot y Daget, 1974*. Inf. Téc. Depto. Pesquerías C. Tecnol. Pesquera Gran Canaria, 102 pp.

Santos, S., H. Schneider & I. Sampaio, 2003. Genetic differentiation of *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae, Perciformes) populations in Atlantic coastal waters of South

America as revealed by mtDNA analysis. *Genetics and Molecular Biology*, 26, 2, 151-161.

Sará, M., E. Favaloro & A. Mazzola, 1999. Comparative morphometrics of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo* Cetti, 1777) reared in different conditions. *Aquacultural Engenieering*, 19: 195-209.

Schaefer, K.M., 1989. Morphometric analysis of Yellow fin tuna *Tunnus albacares* from the Pacific Ocean. *Inter-Amer. Trop. Tuna Commition* 19 (5): 389-427.

Scheltema, R.S., 1971. Larval dispersal as a means of genetic exchange between geographically separated populations of shallow water benthic marine gastropods. *Biol. Bull.* 140, 284-322.

Scheltema, R.S., 1986. Long distance dispersal by planktonic larvae of shoal-water benthic invertebrates among Central Pacific Islands. *Bull. Mar. Sci.* 39, 241-256.

Schnute, J., 1981. A versatile groeth model with statistically stable parameters, *Can J. Fish. Aquat. Sci.* 38, 1128-1140.

Schönhuth, S., Y. Álvarez, V. Rico, J.A. González, J. I. Santana, E. Gouveia, J. Lourenzo & J. M. Bautista, 2005. Molecular identification and biometric análisis of Macaronesian archipelago stocks of *Beryx splendens*. *Fisheries Research* 73: 299-309.

Schreiber A & G. Diefenbach, 2005 Population genetics of the European trout (*Salmo trutta* L.) migration system in the river Rhine: recolonisation by sea trout. *Ecology of Freshwater Fish* 14: 1-13.

Schulz, R.W., J. Bogerd & H.J. Goos. 2000. Spermatogenesis and its endocrine regulation. In: *Reproductive Physiology of Fish*. Bergen. Norway.

Schulz, R.W., K. Lubberink., M.A. Zandbergen, C. Janssen-Dommeerholt, J. Peute & H.J. Goos. 1996. Testicular responsiveness to gonatropic hormone in vitro and Leyding and Sertoli cell ultrastructure during pubertal development on male African catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish Physiol. Biochem.* 15 (3): 243-254.

Scott, R.J., 2004. Assortative mating between adjacent populations of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Ecology of Freshwater Fish* Vol. 13, no. 1, pp. 1-7.

Scott, S.G. & N.W. Pankhurst, 1992. Interannual variation in the reproductive cycle of the New Zealand snapper *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider) (Sparidae). *Journal of Fish Biology*, 41: 685-696.

Scroth, W., G. James, B. Streit & B. Schierwater, 2002. Speciation and phylogeography in the cosmopolitan marine moon jelly, *Aurelia* sp. *BMC Evol. Biol.* 2: 1-10.

Seehausen, O. & J.J.M. Van-Alphen, 1998. The effect of male coloration on female mate choice in closely related Lake Victoria cichlids (*Haplochromis nyererei* complex). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 42 (1): 1-8.

Shaklee, J.B., F. W. Allendorf, D. C. Morizot & G.S. Whitt, 1990. Gene Nomenclature for Protein-Coding Loci in Fish. *Transactions of the American Fisheries Society*, 119: 2-15.

Shaklee, J.B, T.D. Beacham , L. Seeb & B.A. White, 1999. Managing fisheries using genetic data: case studies from four species of Pacific salmon. *Fisheries Research*, 43: 45-78.

Shapiro, D.Y. & M.B. Rasotto, 1993. Sex differentiation and gonadal development in the diandric, protogynous wrasse, *Thalassoma bifasciatum* (Pisces, Labridae). *J. Zool., Lond*, 230: 231-245

Sheaves, M., 2006. Is the timing of spawning in sparid fishes a response to sea temperature regimes? *Coral Reefs*, 25: 655-669.

Shervette, V. R, N. Ibarra & F. Gelwick, 2007. Influences of salinity on growth and survival of juvenile pinfish *Lagodon rhomboides* (Linnaeus). *Environ Biol Fish*, 78:125–134

Sinclair, M., 1988. *Marine populations: an Essay on Population Regulation and Speciation*. University of Washington Press, Seattle.

Smith, P.J., A. Jamieson & A. Birley, 1990. Electrophoretic studies and the stock concept in marine teleosts. *Journal du Conseil International d'Exploration de la Mer*, 47: 231-245.

Smith, P.J., R.I. Francis & L.J. Paul, 1978. Genetic variation and population structure in the New Zealand snapper. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 12: 343-350.

Smith, P.J. & Y. Fujio, 1982. Genetic Variation in Marine Teleosts: High Variability in Habita Specialists and Low Variability in Habitat Generalists. *Marine Biology*, 69: 7-20.

Sneath, P.H.A. & R.R. Sokal, 1973. *Numerical taxonomy*. Freeman, San Francisco.

Sosa- Henríquez, P., 1991. Estudio de la variabilidad y diferenciación genética de *Gelidium arbuscula*, *Gelidium canariensis* y *Gracilariaria ferox* por Electroforesis Isoenzimática . Tesis Doctoral, Departamento de Biología, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 277pp.

Stransky, C., C.-Dieter-Schönberg & D. Günther, 2005. Geographic variation and juvenile migration in Atlantic redfish inferred from otolith microchemistry. *Marine and Freshwater Research*, 56: 677-691.

Stobutzki, I.C. & D.R. Bellwood, 1997. Sustained swimming abilities of the late pelagic stages of coral reef fishes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 149, 35-41.

Stockley, B.G. Menezes, M.R. Pinho & A.D. Rogers, 2005. Genetic population structure in the black spot sea bream (*Pagellus bogaraveo* Brunnich, 1768) from the NE Atlantic. *Marine Biology*, 146(4): 793-804.

Swofford, D.L. & R.B. Selander, 1981. BYOSIS-1: a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *Heredity*, 72: 281-283.

Takashima, F. & T. Hibiya, 1995. An atlas of fish histology. Normal and pathological features(2nd edition). Kodansha Ltd Tokyo (eds), Stuttgart.

Taniguchi, N. & Y. Okada, 1980. Genetic study on the biochemical polymorphism in red sea bream. *Bull. Jap. Soc. scient. Fish*, 46: 437-443.

Taniguchi, N. & K. Sugama, 1990. Genetic variation and population structure of red sea bream in the coastal waters of Japan and The East China Sea. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56 (7): 1069-1077.

Thresher, R.E., C.H. Proctor, J.S. Gunn & I.R. Harrowfield, 1994. An evaluation of electron probe microanalysis of otoliths for stock delineation and identification of nursery areas in a southern temperate groundfish, *Nemadactylus macropterus* (Cheilodactylidae). *Fish Bull.* 92, 817-840.

Torres-Villegas, J. R., 1997. *La reproducción de la sardina Monterrey Sardinops caeruleus (Girard, 1854) en el noroeste de México y su relación con el ambiente*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Barcelona. 344 pp.

Tudela, S., J.L. Garcia-Marin & C. Pla. 1999. Genetic structure of the European anchovy, *Engraulis encrasicolus* L., in the north-west Mediterranean. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 234, no. 1, pp. 95-109.

Tuya, F.; A. Boyra, P. Sanchez-Jerez, C. Barbera, & R.J. Haroun, 2004a. Relationships between rocky-reef fish assemblages, the sea urchin *Diadema antillarum* and macroalgae throughout the Canarian Archipelago *Marine ecology progress series* Vol. 278, pp. 157-169.

Tuya, F.; A. Boyra, P. Sánchez-Jerez; C. Barbera & R. Haroun. 2004b. Can one species determine the structure of the benthic community on a temperate rocky reef? The case of the long-spined sea-urchin *Diadema antillarum* (Echinodermata: Echinoidea) in the eastern Atlantic. *Hydrobiologia*, Vol. 519, no. 1-3, pp. 211-214.

Tuya, F., R.J. Haroun, A. Boyra & P. Sanchez-Jerez, 2005. Sea urchin *Diadema antillarum*: different functions in the structure and dynamics of reefs on both sides of the Atlantic *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 302, pp. 307-310.

Tyler, C.R. & J.P. Sumpter, 1996. Oocyte growth and development in teleosts. *Review in Fish Biology and Fisheries* 6: 287-318.

Uiblein, F., F. Bordes & R. Castillo, 1996. Diversity, abundance and depth distribution of demersal deep-water fishes off Lanzarote and Fuerteventura, Canary Islands. *Journal of Fish Biology* 49 (Supplement A), 75-90.

Uiblein, F., Bordes, R. Castillo & A. G. Ramos, 1998. Spatial distribution of shelf- and slope- dwelling fishes collected by bottom longline off Lanzarote and Fuerteventura, Canary Islands. *Marine Ecology*, 19(1): 53-66.

Utter, F.M., 1991. Biochemical genetics and fishery management: an historical perspective. *J. Fish Biol.*, 39: 1-20.

Utter, F.M., P. Aebersold & G. Winans, 1987. Interpreting genetic variation detected by electrophoresis. In: N. Ryman and F.M. Utter (eds.): *Population Genetics and Fishery Management*. pp. 21-45. University of Washington Press.

Utter, F.M., H.O. Hodgins & F.W. Allendorf, 1974. Biochemical genetic studies of fishes: potentialities and limitations. In: D. Marlin (ed.): *Biochemical and biophysical perspective in marine biology*. Pp. 213-237. San Francisco.

Van Heukelen, W.F., 1979. Environmental control of reproduction and life span in Octopus: an hypothesis. In: *Reproductive ecology of marine invertebrates* (ed. S.E. Stancyk), pp. 123-133. Columbia: University of South Carolina Press. (The Belle W. Baruch Library in Marine Science, no 9).

Van der Horst, G. 1976. Aspects on the reproductive biology of *Liza dumerili* (Steindacher, 1869) (Teleostei: Mugilidae) with special reference to sperm. Ph Thesis, Univ. Port Elizabeth, Cape Province, South Africa.

Vigliola, L., 1997. Validation of daily increment formation in otoliths for three *Diplodus* species in the Mediterranean sea. *J. Fish Biol.* 51, 349-360.

Vigliola, L., M.L. Harmelin-Viven, F. Biagi, R. Galzin, A. Garcia-Rubies, J.-G. Harmelin, J.-Y. Jouvenel, L. Direach-Boursier, E. Macpherson & L. Tunesi, 1998. Spatial and temporal patterns of settlement among sparid fishes of the genus *Diplodus* in the northwestern Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 168, 45-56.

Waldman, J.R., 1999. The importance of comparative studies in stock analysis. *Fish. Res.* 43, 237-246.

Ward, R.D., M. Woodward & D.O.F Skibinski, 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. *J. Fish Biol.*, 44: 213-232.

Wassef, E.A., 1985. Comparative biological studies of four *Diplodus* species (Pisces, Sparidae). *Cybium*, 9 (2): 203-215.

Weatherley, A.H. and H.S. Gill, 1987. The Biology of Fish Growth. Academic Press, London.

- Weinberg, W., 1908. Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. *Jahresh. Verein. F. Vaterl. Naturk. In Wruttemberg*, 64: 368-382.
- Weir, B.S., 1996. *Genetic data analysis II*. Sinauer Publ., Sunderland, MA.
- Weir, B.S., 1996. Intraespecific differentiation. In: Hillis, D.M. Moritz, C. And Mable, B.K. (Edts). *Molecular Systematics*, second edition. Pag. 385-394.
- West, G. 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 41:199-222.
- Whitt, G.S., 1970. Developmental genetics of the lactate dehydrogenase isozymes of fish. *Journal of Experimental Zoology*, 175: 1-36.
- Winans, Gary A., M. M. Paquin, D.M. Van Doornik, B.M. Baker, P. Thornton, D. Rawding, A. Marshall, P. Moran & S. Kalinowski. 2004. Genetic stock identification of steelhead in Columbia River Basin: an evaluation of different molecular markers. *North American Journal of Fisheries Management*, Vol. 24, no. 2, 672-685.
- Winemiller, K.O., 1991. Ecomorphological diversificatin in low-land freshwater fish assemblages from five biotic regions. *Ecol Monogr* 61: 343-365.
- Wootton, R.J., 1990. *Ecology of Teleost Fishes*. Chapman & Hall, London.
- Wright, S. 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. *Am. Nat.* 56: 330-338.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16:97-159.
- Wright, S., 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.*, 15: 323-354.
- Wright, S., 1969. *Evolution and the genetics of populations*. Vol. II. Chicago University Press, Chicago.

Yamamoto, K., 1957. Studies on the formation of the fish eggs. XI The formation of a continuous mass of yolk and the chemical nature of the lipids contained in it in the oocyte of the flounder, *Liopsetta obscura*. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI Zool.* 13: 344-351.

Yamamoto, K. 1999. Studies on sex-manipulation and production of cloned populations on hirame, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquaculture*, 173: 235-246.

Yamamoto, K. & H. Yoshioka. 1964. Rhythm of development in the oocyte of the Medaka, *Oryzias latipes*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 15: 5-19.

Yoneda, M., M. Tokimura, H. Fujita, N. Takeshitas, K. Takeshitas, M. Matsuyama & S. Matsuura, 1998. Reproductive cycle and sexual maturity of the anglerfish *Lophiomus setigerus* in the East China sea with a note on specialized spermatogenesis. *J. Fish. Biol.* 53: 164-178.

Zapata, C. 1987. La variabilidad genética de las poblaciones. En: *Genética en acuicultura*. J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta (eds). CAICYT. Págs. 33-53.

Zohar, Y., M. Abraham & H. Gordin, 1978. Gonadal cycle of captivity reared hermaphroditic teleost *Sparus aurata* (L.) during the 1st 2 years of life. *Annales de Biologie animale biochimie biophysique* 18 (4): 877-882.

Zohar, Y., R. Billard & C. Weil. 1984. La reproduction de la daurade (*Sparus aurata*) et du bar (*Dicentrarchus labrax*): connaissance du cycle sexuel et contrôle de la gamétogenèse et de la ponte. In: Barnábe G., Billard R. (eds). *L' aquaculture du Bar et des Sparidés*. INRA Publ., Paris, pp. 3-24.

Zolotniskij, A.P. & V.L. Monin, 1990. Individual fecundity and generative production in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from Black Sea. *Biologia Morya*, 6, 24-30. (In Russian).

