

Variabilidad Genética Enzimática y Flujo de Genes del Pulpo *Octopus maya* en la Península de Yucatán

Enzyme Genetic Variability and Gene Flow in *Octopus maya* from the Yucatan Peninsula

Enzyme Variabilite Genetique et Flux de Genes dans *Octopus maya* Peninsule du Yucatan

JORGE TELLO^{1*}, ENRIQUE ORAMAS¹, LUIS RODRIGUEZ¹, LETICIA ARENA²,
SANCHEZ ESCAMILLA¹, y JOSEFINA SANTOS³

¹Instituto Tecnológico de Mérida, Av. Tecnológico s/n, A.P. 9-11, Mérida, Yucatán, México. *jorgegigas1@gmmail.com.

²Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, UNAM Puerto de Abrigo s/n Sisal, Yucatán, México.

³Crip Lerma-Campeche. Km 5 Carr. Lerma- Campeche S/N, México. jsantosv@hotmail.com.

RESUMEN

La electroforesis de isoenzimas fue utilizada para investigar la variabilidad genética en 26 loci codificando a las enzimas correspondientes dentro y entre nueve muestras de *Octopus maya* colectadas en la península de Yucatán, México. El número medio de alelos por locus, porcentaje de loci polimórficos, la heterocigosis promedio y directa de este molusco fue de: 1.08 ± 0.05 hasta 1.15 ± 0.04 . $P_{99} = 26.9231$ hasta 34.6154 %, $H_{prom} = 0.1142$ hasta 0.1390 $H_{dir.} = 0.0354$ hasta 0.0938 respectivamente.

Los parámetros determinados fueron: Estadística descriptiva, Estadística F, Distancias genéticas, Equilibrio de Hardy - Weinberg, UPGMA y el número de migrantes como indicador del flujo de genes.

Los valores de heterocigosis, en un rango de 0.3506 para la G6PDH y de 0.4793 para la ARGK, con un valor de heterocigosis promedio de 0.1824, los de Fis un valor promedio de 0.5313 y los de Fst de 0.0140 indican una deficiencia de heterocigotos pero que se encuentran dentro de los rangos reportados para especies de invertebrados marinos. El número de migrantes derivado de la ecuación de Slatkin resultó de 1.824 por generación, lo que en forma global indica un cierto grado de variabilidad entre las poblaciones y es consistente con los bajos valores de distancia genética de Nei encontrados, particularmente el nodo que sugiere la separación de la población de Rio Lagartos y de Dzilam Bravo de las otras poblaciones estudiadas, con un valor obtenido de 0.0004. Por los resultados de este estudio, se concluye que las poblaciones de *Octopus maya* presentan un cierto grado de variabilidad genética interpoblacional que no refleja fragilidad en la subsistencia de estas poblaciones.

PALABRAS CLAVE: Estructura genética, variación genética, flujo de genes, isoenzimas, *Octopus maya*

INTRODUCCIÓN

En años recientes, la determinación de la diversidad genética dentro y entre poblaciones ha alcanzado un papel relevante en los diversos programas que tienen como objetivo el conservar las unidades genéticas y prevenir la erosión genética de las poblaciones naturales comercialmente explotadas. De hecho, si una especie en un área dada consiste de distintos grupos, el criterio a ser adoptado para lograr su manejo, debería de relacionarse con todas las unidades genéticas presentes y por otra parte desde que grandes poblaciones de organismos marinos pueden perder su diversidad alelica durante evento de declinación, es vital el establecer un programa de monitoreo del impacto de la cosecha y el desarrollo de medidas apropiadas para la conservación de la diversidad genética de las mismas. (Ferrito 2003, Maltagliati y Camilli, 2000).

Dentro de los cefalópodos, la existencia de moderadas o fuertes barreras al flujo de genes afectando la diferenciación genética se han documentado en calamares y otras especies, empleando técnicas de aloenzimas y marcadores de DNA mitocondrial.

El pulpo *Octopus maya* Voss y Solís, (1966) cefalópodo marino del Phylum mollusca, es una especie litoral propia de la Península de Yucatán, que viven en resquicios de rocas y oquedades del fondo y en algunas ocasiones ocupando conchas de gasterópodos y diversos objetos sumergidos que le sirven de madriguera. La pesquería de *Octopus maya*, comúnmente llamado pulpo rojo, es de gran importancia en las costas del Estado del Yucatán en donde compite por su gran volumen de captura con la pesquería de mero (*Epinephelus morio*) y en Campeche con la pesquería de camarón (*Penaeus* sp.) (Solís y Chávez 1986, SEPESCA 1994).

La presión de pesca a la que ha estado sometido el recurso, ha propiciado una caída en los volúmenes de extracción de biomasa en los últimos años, lo cual dio pauta para la implementación de un periodo de veda que abarca del 16 de diciembre al 31 de julio, periodo en el que supuestamente se le da oportunidad a las hembras de poner sus huevos y a los juveniles de crecer.

En el caso de *O. maya*, punto importante lo representa el hecho de que cuando eclosiona del huevo ya es un pulpo con todas las características de sus congéneres adultos, lo cual a final de cuentas incide en su poca dispersión ya que desde pequeño tiende a guarecerse y a no moverse mucho. Lo anterior conlleva a establecer entonces si las poblaciones de *O. maya* en los estados en los que se le captura son aisladas o bien pertenecen a una sola población ampliamente distribuida.

En vista del desconocimiento de la información fundamental sobre la genética de las poblaciones de *Octopus maya* en la Península de Yucatán, que sirva como criterio para la mejor explotación y complemente las normas de la pesquería de

este recurso dada su elevada importancia comercial. Así el principal objetivo de este trabajo consiste en obtener información acerca de la estructura genética poblacional del pulpo *Octopus maya* y poder de ello cuantificar los niveles de variabilidad enzimática dentro y entre las poblaciones naturales en diferentes localidades de la península de Yucatán, que aunados a los datos biológicos y atributos ecológicos tales como su potencial de dispersión podrían ser relacionados a su nivel de variabilidad genética, el flujo de genes y la posterior implementación de medidas de manejo del recurso.

MATERIALES Y MÉTODOS

La obtención de los organismos se realizó en nueve sitios en las costas de la Península de Yucatán. Veinticinco organismos de todas las tallas de cada sitio fueron colectados con la ayuda de pescadores de cada lugar.

Muestras de manto se homogeneizaron en un volumen igual de buffer de extracción consistente de Tris HCl 12.1 g, EDTA 336 mg, NAD⁺ 20 mg y ajustado a un pH de 7 (Shaklee y Keenan 1986), se centrifugaron a 10,000 rpm por 10 min. a 7°C en una centrífuga refrigerada. Geles de poliacrilamida al 7.7%, preparados para ser utilizados con el sistema nativo (Brewer 1970), se utilizaron para efectuar el corrido electroforético, el revelado histoquímico y la determinación fenotípica de las muestras. La presencia fenotípica se determinó siguiendo los procedimientos de Shaw y Prasad (1970), Brewer (1970) y Shaal y Anderson (1974). Loci presumidos y alelos fueron designados por medio del sistema de nomenclatura utilizado por Shaklee y Keenan (1986). Múltiples loci de una enzima en particular se designaron numéricamente (1, 2, 3, etc.) considerando el de más rápida a más baja movilidad anodal. Alelos de un locus en particular fueron designados por su movilidad anódica relativa y nombrando al alelo más frecuente como 100 y los demás por arriba y por debajo de éste con los valores respectivos. Loci y alelos fueron designados de acuerdo al sistema de nomenclatura propuesto por Shaklee y Keenan (1986). Un locus se consideró polimórfico si el alelo más frecuente tiene una probabilidad menor que 95 %. (Towsend y Shing, 1984) y el nivel de Heterocigosis se determinó con relación a la ley del Equilibrio de Hardy-Weinberg. Se utilizó el programa denominado TFPGA versión 1.3 (Tools for population genetic analyses), para efectuar el análisis de datos genéticos de aloenzimas de poblaciones (Miller, 2000). Los diversos parámetros determinados fueron: Estadística descriptiva, Estadística F, Distancia Genética, Pruebas de robustez para Hardy - Weinberg y UPGMA. Se estimó el número de migrantes entre poblaciones aplicando la fórmula dada por Stobart y Benzie (1994). La utilización de esta metodología es la adecuada para la obtención de resultados que sean congruentes con los objetivos planteados, ya que de la expresión fenotípica de las fracciones enzimáticas en los geles se tiene la posibilidad de inferir la expresión génica de los organismos la cual traducida en números nos da la

pauta a establecer, la posible variación genética del recurso, así como el posible flujo de genes y de ello derivar la estructura poblacional de *Octopus maya* en las costas de la Península de Yucatán.

RESULTADOS

Con el análisis isoenzimático efectuado en el manto de *Octopus maya* y con el programa TFPGA, como herramienta para realizar este, se encontró que de los 30 sistemas enzimáticos utilizados para este estudio, 19 presentaron actividad enzimática y de estos 8 presentaron niveles de heterocigosis.

La no expresión de las enzimas puede deberse a diversas razones como podría ser la baja concentración de estas en el tejido analizado, ciclo celular incompleto o por errores químicos de laboratorio (Maltagliati et al. 2004).

Se utilizaron únicamente los loci que no fueron monomórficos para determinar el nivel de polimorfismo. En la Tabla 1, se presentan los resultados promedio de los valores de heterocigosis, así como los de polimorfismo en tres formas diferentes.

Se presentan los valores de polimorfismo, 45.8333% para Celestún y de 36.3636% para Sabancuy con un valor global promedio de 39.6083% en todas las poblaciones, Estos valores indicaron diversidad intrapoblacional con poca heterogeneidad interpoblacional.

Los niveles de estructuración y divergencia genética fueron cuantificados para todos los loci mediante el estadístico F usando los estimadores insesgados de remuestreo de Weir y Cockerham's (1984), la *F_{is}* o mejor conocida como coeficiente de entrecruzamiento entre cada población, se presenta como *f* y el índice de fijación, *F_{st}*, o también conocido como medida de variación entre poblaciones también conocido como θ o coeficiente de coancestridad (Tabla 2). Este parámetro puede variar desde 0, cuando las poblaciones poseen las mismas frecuencias de alelos en el locus en cuestión hasta 1 cuando las poblaciones se fijan para deferentes alelos.

El estadístico F fue probado para establecer las diferencias de cero realizando 5,000 replicas de permutaciones de los alelos dentro de las muestras (*f*) y de los alelos entre las muestras (θ) sobre todos los loci.

En la Tabla 3, se puede ver que el índice de fijación, *f*, no difiere significativamente de cero en cualquiera de las muestras y de ello se puede asumir que cada muestra es el resultado de una unidad sencilla de cruzamiento y no se desvía de la condición de equilibrio de Hardy-Weinberg. El valor de *F_{st}* o θ , presento un valor de 0.1205, el cual está dentro del rango de los valores de especies semejantes y que nos señala que un 12.2 % de la variación genética resulta de las diferencias entre poblaciones y con un 87.95 % resultado de la variación dentro de las poblaciones (Maltagliati et al. 1998).

Los valores promedio obtenidos en estos análisis nos dan la pauta para inferir que efectivamente existe un grado de variación entre las poblaciones, y algún grado de agregación dentro de la estructuración genética dentro de

Tabla 1 . Resultados de estadística descriptiva para las poblaciones y el total en manto de *Octopus maya*.

Poblacion	Tamaño de Muestra	Heterocigosis Promedio	Heterocigosis Promedio Insegada	Heterocigosis Promedio Directa	% Loci Polimórficos sin Criterio	% Loci Polimórficos 95%	% Loci Polimórficos 99 %
Progreso	25	0.1321	0.1348	0.0938	30.7962	30.7962	30.7962
Sisal	25	0.1355	0.1382	0.0785	30.7962	30.7962	30.7962
Isla Arena	25	0.1374	0.1403	0.0569	30.7962	30.7962	30.7962
Campeche	25	0.1280	0.1306	0.0585	34.6154	34.6154	34.6154
Celestun	25	0.1390	0.1418	0.0523	30.7962	30.7962	30.7962
Sabancuy	25	0.1142	0.1165	0.0415	26.9231	26.9231	26.9231
Dzilam de Bravo	25	0.1182	0.12.07	0.0354	26.9231	26.9231	26.9231
Champoton	25	0.1145	0.1168	0.0585	26.9231	26.9231	26.9231
Rio Lagartos	25	0.1270	0.1296	0.0736	28.0000	28.0000	28.0000

Tabla 2. Resultados de estadístico F en manto de *Octopus maya*.

Loci	Alelo	F	θ	f
ARGK	Totales	0.1795	0.0988	0.2020
EST1	Totales	0.2419	-0.0255	0.2505
G6PDH1	Totales	0.2686	-0.0213	0.1542
MDH	Totales	0.0977	0.0698	0.3898
ME	Totales	0.1688	0.0898	0.1525
OCTDH1	Totales	0.2372	-0.0269	0.2020
OCTDH2	Totales	0.2140	-0.0388	0.1956
PGM1	Totales	0.0968	-0.0254	0.1255
Promedio		0.1880	0.1205	0.2091

las mismas. Con los resultados anteriores es posible entonces establecer que se presenta un nivel de flujo de genes al poder estimar en función de la ecuación de Reynolds et al. (Slatkin 1985) $Nm = (1/F_{st} - 1)/4$ y el índice de fijación, F_{st} , el número de migrantes por generación, que en nuestro caso es de: 1.824 migrantes por generación, señalándonos un bajo nivel de flujo de genes entre las poblaciones.

Relaciones jerárquicas entre todas las poblaciones basadas en los diferentes modelos de determinación de distancias genéticas se efectuaron mediante un análisis Cluster UPGMA o Dendrograma (Ward y Andrews 1995).

En la Figura 1 se presentan el análisis Cluster y el Dendrograma obtenido de Nei, se mantiene la relación entre las localidades y estas se diferencian claramente, sin embargo en ninguno de los casos se puede apreciar claramente un patrón geográfico de diferenciación genética entre las poblaciones investigadas.

DISCUSION

Se determinó que una moderada variabilidad genética fue detectada dentro de las muestras de *Octopus maya*. El porcentaje de polimorfismo, desde un 26.9361 a 34.6154 %, estuvo dentro de los valores normales detectados en invertebrados marinos (Selander 1977), mientras que la heterocigosis media estuvo debajo del rango de 0.15 reportada para el mismo grupo de organismos (Nevo et al. 1984). La presencia de un número de alelos a bajas frecuencias es un indicativo de la estabilidad de la especie o sea que la población de *Octopus maya* es demográficamente estable, siendo esto la indicación de que esta población no ha sido sujeta a eventos genéticos recientes, como lo pueden ser haber estado sujeta a un efecto fundador o recurrentes cuellos de botella, de hecho, uno de los aspectos que hace a esta especie deseable para ser explotada es su elevado tamaño poblacional. Esta característica le permite el poseer los niveles de heterocigosis dentro de la población detectados en este organismo. Una generalizada ocurrencia de deficiencia de heterocigosis relativa a las expectativas de la ley de Hardy-Weinberg ha sido plenamente reportada en estudios de isoenzimas en moluscos marinos y otros invertebrados (Oosthuizen 2004). Los valores de heterocigosis promedio para las poblaciones en *O. maya* están entre 0.1142 y 0.1394 y las salidas de la ley de equilibrio de Hardy-Weinberg son sustentadas principalmente por algunos loci fijados como son la EST1 y la G6PDH1 en la mayoría de las poblaciones. La deficiencia de heterocigotos en algunos loci de algunas localidades determinadas en este estudio nos permiten establecer la exclusión de algunos fenómenos semejantes a la endogamia y el efecto Wahlund a causa de que ellos deberían de afectar de manera semejante a todos los loci examinados y si por el contrario se tiene la idea de que las causas puedan ser una limitada capacidad de dispersión de los gametos o larvas o de endogamia, incluyendo la autofertilización (Ayre et al. 1997).

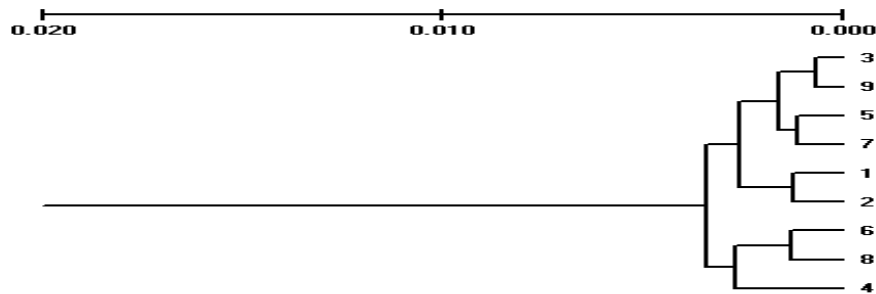


Figura 1. Dendrograma señalando las distancias genéticas de las cuatro poblaciones muestreadas.

1.- Progreso 2.- Sisal 3.- Celestún 4.- Campeche 5.- Isla Arena 6.- Sabancuy
7.- Dzilam de Bravo 8.- Champotón 9.- Rio Lagartos

Argumentos tales como la fecundidad y la mortalidad de *O. maya* pueden ser razones de peso para pensar en el papel de la selección en la determinación de la estructura genética y de este modo presiones selectivas en el primer estado de vida del molusco podrían contribuir o ser responsables de las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (Casu et al. 2002).

Wright (1978) estableció una escala de clasificación para el estadístico F para establecer el análisis de la diferenciación genética, utilizando los valores de F_{is} , F_{it} y F_{st} que aportan la evidencia suficiente para establecer que las frecuencias de los alelos estudiados varían en un amplio rango y escalas locales entre y dentro las poblaciones. Los valores pueden estar entre el rango de 0 y 1, donde el cero es la homogeneidad completa de la población y el valor de 1 representa la completa heterogeneidad genética, es decir que una población no presenta ningún alelo en común y así cualquier valor arriba de 0.25 es indicativo de una gran diferenciación genética (Maltagliati 1998). Los valores obtenidos para este estadístico en el análisis de las poblaciones de *Octopus maya* fueron de 0.2091 para F_{it} , 0.1880 para F_{is} y de 0.1205 para F_{st} respectivamente.

Los valores positivos y significativos para F_{is} indican un apartamiento del equilibrio de Hardy-Weinberg debido a un déficit de heterocigotos, pudiendo deberse esto a una fertilización entre parientes, sin embargo las presiones selectivas contra los heterocigotos, la presencia de alelos nulos y errores de muestreo no pueden ser totalmente excluidos. De hecho, la ocurrencia de fuerzas selectivas podrían causar el post asentamiento de la divergencia genética aun en escalas microgeográficas, distancias de menos de 150 Km, y podría ser asumido que la selección natural actuaría contra los genotipos de heterocigotos, aun si más tarde se presentan diferencias funcionales relativas al genotipo o desfavorables a los niveles de actividad enzimática exhibida (Camilli et al. 2001).

El valor medio de F_{st} de 0.1205 o valor de varianza estandarizada en la frecuencia de los alelos no se aparta significativamente de cero y de ello la evidencia de un cierto grado de estructuración, dando a entender que el

12.05 % de la variación genética total resulta de las diferencias entre las poblaciones y el restante 87.95% es el reflejo de la variación dentro de las poblaciones y una relativa cohesividad y conespecificidad de las mismas (Maltagliati et al. 1998, Casu et al. 2002).

Sobre la base de estos resultados, la estimación del número promedio de migración efectiva N_m fue de 1.824. los valores de flujo de genes mayores de 1 no reflejan necesariamente que el intercambio de genes sea suficiente para evitar la divergencia genética debida a la deriva genética y que el intercambio de genes esta en concordancia para la moderada estructuración de las poblaciones. Un valor de $N_m > 1$ es interpretado como una evidencia de suficiente flujo genético para prevenir la diferenciación de las poblaciones debido a la deriva genética (Ferrito et al. 2003).

En este caso y específicamente tratándose de una especie donde los adultos son relativamente sedentarios como lo es *Octopus maya*, la diferenciación de las poblaciones en escalas geográficas relativamente cercanas se debe principalmente al movimiento de sus larvas (Burton 1983).

Análisis para la diferenciación genética de la población de *O. maya* se llevaron a cabo usando los estimadores de Nei's, Roger's y Reynold's. Los análisis Cluster UPGMA, reflejan el grado de estructuración de la población y no expresan un claro patrón de geográfico en la distribución de la variación genética de esta especie. Los valores de distancia e identidad obtenidos para *O. maya* indican que son valores típicos para especies o poblaciones que se encuentran bien mezcladas.

A pesar de los relativos bajos valores obtenidos de distancia genética, 0.0006, 0.0077 y -0.0163, determinados por los estimadores mencionados, existen signos de cierta subestructuración como se demostró con los valores determinados de F_{st} y corroboran la idea de ver a la población desde la perspectiva de ser una unidad genética sencilla. Desde una perspectiva taxonómica es generalmente asumido que valores de Identidad arriba de 0.9 o de distancia debajo de 0.1 indican conespecificidad y con

valores de Identidad debajo de 0.8 y distancia arriba de 0.22 corresponden a una diferenciación interespecifica con una zona oscura entre estos valores (Ferrito et al. 2003). Los dendogramas generados por las medidas de distancia de Nei y el análisis UPGMA, fueron similares pero no idénticos al agrupar las poblaciones. Los valores de distancias fueron diferentes en todos los casos, sin embargo, en ninguno se cambió la distribución de las poblaciones en el análisis Cluster.

LITERATURA CITADA

- Ayre, D.J., J. Read, and J. Wishart. 1991. Genetic subdivision within the eastern australian population of the sea anemone. *Actinia tenebrosa*. *Marine Biology* **109**:379-390.
- Brewer, G.Y. 1970. *An Introduction to Isozyme Techniques*. Academic Press, New York, New York USA. 186 pp.
- Burton, R.S. 1983. Protein polymorphism and genetic differentiation of marine invertebrate populations. *Marine Biology Letters* **4**:193-206.
- Camilli, L., A. Castello, C. Lardicci, and F. Maltagliati. 2001. Evidence for high levels of genetic divergence between populations of the bivalve *Mytilaster minimus* from a brackish environment and adjacent marine sites. *Journal of Molluscan Studies* **67**:506-510.
- Casu, M., F. Maltagliati, M. Meloni, G. Benelli, and M. Curini-Galletti. 2002. Genetic structure of *Octopus vulgaris* (Mollusca Cephalopoda) from the Mediterranean sea as revealed by a microsatellite locus. *Italian Journal of Zoology* **69**:295-300.
- Ferrito, V., F. Maltagliati, A. Mauceri, and A.D. Conceta. 2003. Morphological and genetic variation in four Italian populations of *Lebas fasciata* (Teleostei, Cyprinontidae). *Italian Journal of Zoology* **70**:115-121.
- Maltagliati, F. and L. Camilli. 2000. Temporal genetic variation in a population of *Aphanius fasciatus* (Cyprinodontidae) from a brackish water habitat at Elba Island (Italy). *Environmental Biology of Fishes* **57**:107-112.
- Maltagliati, F., L. Camilli, F. Biagi, and M. Abbiati. 1998. Genetic structure of Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (L) (Crustacea: Nephropidae), from the Mediterranean sea. *Science Marine* **62**:91-99.
- Maltagliati, F., M. Casu, and A. Castelli. 2004. Morphological and genetic evidence support the existence of two species in the genus *Ophelia* (Annelida, Polychaeta) from the Western Mediterranean. *Biological Journal of the Linnean Society* **83**:101-113.
- Miller, M. 2000. *TTPGA, A Windows Program for the Analyses of Allozyme and Molecular Population Genetic Data. Version 1.3*. Department of Biological Sciences. Northern Arizona University, Flagstaff, Arizona USA.
- Miller, R.R. 1982. Geographical distribution of american freshwater fishes. *COPEIA* **4**:773-802.
- Maltagliati, M. Meloni, G. Benelli, and M. Curini-Galletti. 2002. Genetic structure of *Octopus vulgaris* (Mollusca Cephalopoda) from the Mediterranean sea as revealed by a microsatellite locus. *Italian Journal of Zoology* **69**:295-300.
- Nevo, E., A. Beiles, and R. Ben-Shlomo. 1984. The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates. Pages 13-213 in: G.S. Mani (ed.) *Evolutionary Dynamics of Genetic Diversity*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Oosthuizen, A., M. Jiwaji, and P. Shaw. 2004. Genetic analysis of the *Octopus vulgaris* of South Africa. *South Africa Journal of Science* **100**:603-607.
- Palumbi, S.R. 2003. Population genetics, demographic connectivity and the design of marine reserves. *Ecological Applications* **13**:5146-5158.
- SEPESCA. 1994. Diagnostico pesquero del estado de Yucatán. Documento técnico, Mérida, Yucatanán, México.
- Shaal, B.A. and W.W. Anderson. 1974. An outline of techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from the american oyster *Crassostrea virginica*. Georgia Technical Report Series. *Georgia Marine Science* **74**:3.
- Shaklee, J.B. and C.P. Keenan. 1986. A practical laboratory guide to the techniques and methodology of electrophoresis and its application to fish fillet identification. CSIRO. Marine Research Laboratories, Hobart, Tasmania, Australia.
- Shaw, R. and R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochemical Genetics* **4**:297-320.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16**:393-430.
- Solis, R.M.J. y E.A. Chávez. 1986. Evaluación y régimen optimo de pesca del pulpo en la península de Yucatán, México. *Anales del Instituto Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autonoma de Mexico* **13**:1-18.
- Stobart, B. and J.A.H. Benzie. 1994. Allozyme electrophoresis demonstrate that the Scleratinian coral *Montephora digitata* is two species. *Marine Biology* **118**:183-190.
- Towson, D.R. and R.S. Shing. 1984. Genetic variation for a monomer and dimer equilibria of Esterase 5 in *Drosophila pseudoobscura*, *D. Persimilis* and *D. miranda*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* **28**:374-381.
- Ward, R.D. and J. Andrews. 1995. Population genetics of the northern pacific sea star *Asterias amurensis* (Echinodermata : Asteroidea): allozyme differentiation among Japanese, Russian, and recently introduced Tasmanian populations. *Marine Biology* **124**:99-109.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations, Volume 4. Variability Within and Among Natural Populations*. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois USA. 580 pp.