

# VARIABILIDAD GENÉTICA EN EL GRANADERO DE PROFUNDIDAD *Macrourus holotrachys* GÜNTHER, 1878, CAPTURADO EN LA ZONA PESQUERA DE TALCAHUANO (PISCES, GADIFORMES, MACROURIDAE) \*

CIRO OYARZUN<sup>1</sup>, RICARDO GALLEGUILLOS<sup>1</sup> y JAVIER MONSALVES<sup>1</sup>

**ABSTRACT:** Oyarzún, C.; Galleguillos R.; & J. Monsalves. 1993. Genetic variability in the deep-sea grenadier *Macrourus holotrachys* Günther 1878, caught in the Talcahuano fishery zone (Pisces, Gadiformes, Macrouridae). Revista de Biología Marina, Valparaíso 28(2): 331-340.

The species *Macrourus holotrachys* is a deep sea fish that is caught simultaneously with *Dissostichus eleginoides* in Talcahuano zone, central Chile. Fourteen enzymes were screened through electrophoretic techniques, giving 22 presuntive loci.

Heterozygosity value is 0.055. This value is in agreement with the hypothesis of Smith & Fujio for species that are generalist in their habitat. At the same time it would be possible to say that Gadiform are fish with low levels of genetic variability.

Genetic distance is compared with the species *Antimora rostrata*, the value is 0.82 and the Genetic Identity 0.44.

These results are discussed within the context of speciation of deep sea fishes.

**Keywords:** Deep-sea fishes, electrophoresis, heterozygosity, Southeastern Pacific, Chile.

**RESUMEN:** Oyarzún, C.; Galleguillos R.; & J. Monsalves. 1993. Variabilidad genética en el granadero de profundidad *Macrourus holotrachys* Günther, 1878, capturado en la zona pesquera de Talcahuano (Pisces, Gadiformes, Macrouridae). Revista de Biología Marina, Valparaíso 28(2): 331-340.

Se presentan los resultados de una investigación sobre la variabilidad genética en peces de profundidad mediante electroforesis en gel de almidón. Se analizaron especímenes del granadero de profundidad *Macrourus holotrachys*, capturados como fauna concurrente en la pesca de profundidad de *Dissostichus eleginoides* de la zona de Talcahuano. Se logró visualizar los productos enzimáticos de 14 sistemas que dan cuenta de 22 loci presuntivos. De estos últimos, 19 se presentaron monomórficos en los 70 ejemplares analizados, en tanto que sólo los loci Pgi-1, Pgi-2 y Pgm mostraron polimorfismo.

Es notable la baja variabilidad genética encontrada si se considera el conjunto de sistemas evidenciados (heterocigosidad  $H = 0.055$ ). Por otro lado, si se consideran sólo los tres sistemas polimórficos el valor sube a  $H = 0.35$ . Lo encontrado calzaría con la hipótesis de Smith & Fujio (1982) que predice bajos valores de heterocigosidad en especies que fueran generalistas de hábitat. También existe coincidencia con informes previos que muestran a los Gadiformes como un grupo cuyas especies presentan bajos valores de variabilidad genética.

Se compara la Distancia Genética con la especie *Antimora rostrata*, el valor es 0.82 y la identidad Genética es de 0.44. Se discuten estos resultados en el contexto de la especiación de los peces de profundidad.

**Palabras claves:** Peces de profundidad, electroforesis, heterocigosidad, Pacífico Suroriental, Chile.

<sup>1</sup> Universidad Católica de la Santísima Concepción, Facultad de Ciencias, Casilla 297, Concepción, Chile.

\* Financiado por Proyecto FONDECYT 91-0820.

## INTRODUCCION

La familia Macrouridae constituye el grupo más grande dentro de los Gadiformes, con más de 300 especies, la mayoría de ellas son bentopelágicas. Estas especies son exclusivamente de aguas profundas y probablemente se han originado y evolucionado en esos dominios, ocupando exitosamente las profundidades que van desde la parte superior del talud continental hasta el piso del océano a más de 6000 m; sin embargo ningún ejemplar ha sido recolectado desde las trincheras más profundas (Iwamoto 1989).

En Chile, los macrúridos como familia, han sido investigados por Pequeño (1971), quien en ese trabajo reconoce la existencia de 5 géneros y 11 especies. Posteriormente, en su último listado de los peces de Chile (Pequeño 1989) reconoce 11 géneros y 28 especies, agregando que a pesar de que la literatura en la familia se ha enriquecido especialmente en los últimos años "La extensa lista de Macrouridae aconseja una nueva revisión de la familia en Chile". Esto es especialmente cierto para la especie *Macrourus holotrachys* Günther 1878, cuya presencia en aguas chilenas fue puesta en duda en la revisión mundial del grupo hecha por Cohen *et al.* (1990) quienes afirman que esta especie podría ser confundida con *M. carinatus* (Günther 1878). Sin embargo el trabajo de Ruiz & Oyarzún (1993a) registra claramente la captura de *M. holotrachys* en la pesca de profundidad de la costa central de Chile.

En las capturas de profundidad de las pesquerías del congrio dorado *Gemypterus blacodes* (Schneider 1801) y del nototénido *Dissostichus eleginoides* Smitt 1898, es habitual la aparición de varias especies de pejerratas y granaderos (Oyarzún *et al.* 1990<sup>1</sup>), algunas de las cuales llegan a ser importantes en número y biomasa, algo semejante ocurre con la pesca de arrastre a menores profundidades. En consecuencia, la familia Macrouridae representa un grupo con doble interés para ser estudiado, por un lado desde el punto de vista ecológico-pesquero y por otro lado como sustrato de estudio para entender los procesos de especiación en las aguas profundas desde el punto de vista de la diferenciación genética. La importancia de una adecuada base taxonómica para investigaciones microevolutivas, ecológicas y pesqueras es un hecho reconocido, eliminando la tendencia a suponer que una especie dada (o según el caso un stock) esté compuesta de individuos genéticamente similares que responderán en forma idéntica bajo todas las condiciones (Ferguson & Fleming 1983).

El análisis electroforético de proteínas y sobre todo enzimas ha sido utilizado en el estudio de varios aspectos de la taxonomía en organismos vivos a niveles intra e interespecífico. El control genético simple de variantes permite una aproximación directa de la variación genética dentro y entre especies (Ferguson & Fleming 1983). La electroforesis de proteínas es una de las técnicas dominantes para el estudio riguroso de dis-

<sup>1</sup> Oyarzún, C.; Leible, M. & J. Chong. 1990. Ictiofauna del Cañón del Bío-Bío y áreas adyacentes en la pesquería de *Dissostichus eleginoides* Smitt 1898. X Jornadas de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Chile, Resúmenes, pág. 76.

criminación poblacional en aves y vertebrados terrestres en que existen claras barreras al cruzamiento, aun cuando en alguna parte de su ciclo puedan coexistir (Sharp et al. 1983). La electroforesis enzimática es considerada como un importante método para comparar razas, especies e incluso géneros estrechamente relacionados (Buth 1984); se ha usado además para clarificar el estatus taxonómico de nivel de especies y las relaciones de parentesco genético entre poblaciones, especies, y taxa avanzados (Shaklee & Whitt 1981, Shaklee et al. 1982). Incluso para estimaciones de la diferenciación genética sobre el rango de distribución de las especies marinas (Koehn 1984) y por tanto, con utilidad para la biogeografía (Pierrot-Bults et al. 1986).

La fauna del talud continental de Chile, a pesar de lo poco explorada que está, ha mostrado ser bastante variada; en crucero exploratorio realizado entre 1981 y 1982, desde la costa de Arica a Isla Mocha, se encontraron 93 especies (Oyarzún et al. 1989<sup>2</sup>), siendo los macrúridos los que aportaron con la mayor biomasa y recurrencia en todo el sector estudiado, algunas especies más abundantes en el norte, otras en el sur. Cabe preguntarse ¿Qué factores del ambiente oceánico pueden haber sido importantes en producir la fauna tan diversa encontrada allí? ¿Cuanto es conocido acerca de la especiación en el mar profundo? De acuerdo con Wilson & Hessler (1987) es poco o nada lo que se sabe al respecto. Una posible hipótesis explicativa la proporciona White (1987) quien postula epi-

sodios de anoxias regionales como verdaderos agentes de alopatría; dichos eventos recurrentes habrían alterado el patrón de flujo génico entre las profundidades del talud y la plataforma, llevando de esa manera a la diversificación tanto de las comunidades bénticas como pelágicas. Es más, existen antecedentes para suponer que la fauna íctica que habita profundidades mayores de 300 m excede a las especies de aguas más someras por un factor de 5 a 1 (Cohen 1970).

Dentro de esos contextos, el conocimiento de la variabilidad genética de uno de los grupos más representativos (Macrouridae) puede entregar importante información al respecto. Una de esas especies es *M. holotrachys* de la cual la carencia de información biológica básica es casi absoluta, conociéndose al margen del reporte sobre su presencia, sólo un estudio sobre las apomorfias osteológicas de la especie (Ruiz & Oyarzún 1993b).

Los objetivos del presente trabajo son: a) conocer los niveles de variabilidad genética en *M. holotrachys* e incluir dicha información en el contexto de las hipótesis de especiación en el mar profundo, b) comparar la expresión de los distintos loci con aquellos del mórdo *Antimora rostrata* (Günther 1878) caracterizado como una de las posibles familias filogenéticamente hermana de Macrouridae (ver discusión en Cohen 1989) a fin de lograr una adecuada polarización de los caracteres genéticos como apomorfías de Macrouridae.

2 Oyarzún, C.; Kong, I. & P. Aroca. 1989. La asociación de peces del Talud Continental de Chile, entre Arica e Isla Mocha. IX Jornadas de Ciencias del Mar, U. de Antofagasta, Resumen C-42, pag. 105.

## MATERIALES Y METODOS

Los 70 individuos de *M. holotrachys* y los 5 ejemplares de *A. rostrata* usados para comparación, provienen de la pesca artesanal con espinel de profundidad entre los 800 y los 1200 m obtenidos entre los meses de abril y septiembre de 1991. Luego de la captura los ejemplares fueron llevados al Puerto de Talcahuano en donde se procedía a congelarlos de inmediato a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Luego, se procesó cada individuo, aún congelado, tomando una muestra de tejido del ojo, hígado, y músculo, rotulando y almacenando las muestras y los ejemplares, a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para su posterior uso en electroforesis.

Para desarrollar el trabajo electroforético, éste se dividió en dos etapas: a) Resolución de tejidos y sistemas electroforéticos en las dos especies y b) Obtención de los patrones genéticos, para cada especie.

Con este fin cada muestra de tejido fue homogenizada en un volumen (igual al de la muestra) de agua destilada, y centrifugada por 5 min a 3.000 g, luego se tomó una muestra del sobrenadante, usando para ello un papel Wathman, el que fue montado en un gel horizontal de almidón al 12 %. Este gel fue sometido a un campo eléctrico con voltaje y amperaje regulado por una fuente de poder Desaga por un período de 4 a 6 hrs.

A esta etapa siguió la tinción de las distintas enzimas, que se realizó según Harris & Hopkinson (1976). La nomenclatura de los alelos siguió a Richardson *et al.* (1986); se tomó como patrón a *M.*

*holotrachys* designando al alelo más frecuente como 100. El resto de los alelos fue numerado según su movilidad relativa al alelo patrón, en este último grupo se incluyó a los alelos de *A. rostrata*. Para las enzimas que presentaban más de un loci, estos se enumeraron consecutivamente a partir del loci con la mayor migración anódica. Con los datos así obtenidos, se calcularon frecuencias alélicas para las dos especies, y la heterocigosidad media (H) verificando el equilibrio de Hardy-Weinberg mediante el test de  $X^2$  (ver Tabla 3).

## RESULTADOS

El estudio de la actividad enzimática por electroforesis en distintos tejidos mostró que en la mayoría de los casos el mejor tejido resultó ser músculo, hígado, (o una mezcla de ambos), en buffers básicos (LiOH, TC8.0) (ver Tabla 1). Por otra parte los resultados del estudio de patrones genéticos por especies se muestran en las tablas 2 y 3 donde se calculan y comparan para las dos especie, las frecuencias alélicas, de los distintos loci, monomórficos (Tabla 2), y polimórficos (Tabla 3). Se analizó 22 loci presuntivos correspondiendo a 11 enzimas y proteínas totales. Los sistemas que mostraron polimorfismo fueron la fosfoglucoisomerasa (Pgi) y la fosfoglucomutasa (Pgm). La Pgi con dos loci, siendo Pgi-1 un locus muy polimórfico con tres alelos, a diferencia del locus Pgi-2 que si bien mostró 2 alelos, el más común está con una frecuencia de 0.97. En cuanto a la Pgm es notable la cantidad de alelos que presenta: 5 y el más común sólo alcanza la frecuencia de 0.43.

Tabla 1. Sistemas enzimáticos detectados, tejidos y buffer usados en el análisis electroforético de las especies *M. holotrachys* y *A. rostrata* (H= hígado, M= Músculo, O=Ojo).

E.C. N°	ENZIMA	LOCUS	TEJIDO	BUFFER
5.3.1.9	Fosfoglucoisomerasa	Pgi-1	M	TC 8
3.4.11.9	Leucil aminopeptidasa	Pgi-2	M	Poulik
		Lap-1		
		Lap-2		
3.4.11	Amino peptidasas	Lap-3	M	LiOH
		AP-1		
		AP-2		
3.1.2.6	Glioxalasa	Glio	M	Poulik
3.1.1.1	Esterasa	Est	M	LiOH
2.7.5.1	Fosfoglucomutasa	Pgm	M	TC 8
2.7.3.2.	Creatinquinasa	Ck	M	TC 6.9
1.1.1.49	6-Fosfogluco deshidrogenasa	6Pgdh	M	LiOH
1.1.1.47	Glucosadeshidrogenasa	Gdh	M	TC 8
1.1.1.42	Isocitratodeshidrogenasa	Idh-1	O	TC 8
		Idh-2		
1.1.1.40	Enzima Málica	ME	M	LiOH
1.1.1.27	Lactato deshidrogenasa	Ldh-A	O,M,H	LiOH
		Ldh-B	M,H	
		Ldh-C	H	
		Mdh-1	M	
1.1.1.37.	Malato deshidrogenasa Proteínas Totales	Pt-1	M	TC 8
		Pt-2	M	TC 8
		Pt-3		
		Pt-4		

Respecto de la comparación con *A. rostrata*, de todo los loci que se presentaron monomórficos (Tabla 2), 19 mostraron actividad en *M. holotrachys* en tanto 17 lo hicieron en *A. rostrata*. Con la misma movilidad en ambas especies se manifestaron 7 sistemas: PT-1, Ap-2, ME, Ldh-A, Lap-2 y Lap-3. Los loci que se les detectó actividad sólo en *M. holotrachys* corresponden a Est, PT-2, 6-Pgdh y Lap-1, y mostraron actividad sólo en *A. rostrata* PT-3 y PT-4.

De los sistemas polimórficos (Tabla 3), la Pgi-1 discrimina perfectamente aquellos alelos de una y otra especie, sin compartir ninguno. Finalmente la Pgm, altamente polimórfica en *M. holotrachys* también mostró polimorfismo en

*A. rostrata* pero con dos alelos distintos a la otra especie. Con todo lo anterior, el cálculo de la identidad genética de Nei entrega un valor de 0,44 con lo que el valor de Distancia genética es  $D=0,82$ .

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Hasta hace unos 20 años, el mar profundo (por bajo los 200 m) era considerada como una región con pocas especies, lo cual se debería a las difíciles condiciones para la vida en esos lugares, se presumía una ausencia de cambios o alteraciones relevantes para la operación de procesos evolutivos rápidos, suponiéndose que si existían cambios evolutivos estos deberían ser lentos. Relacionado con esta idea de evolución

lenta se visualizaba al mar profundo como un refugio para formas ancestrales, y su fauna era considerada como producto de la migración desde aguas más someras. Hoy se sabe que el ambiente de profundidad contiene comunidades con un número impresionante de especies y que ha servido como sitio para la evolución de importantes taxa superiores (Hessler & Wilson 1983). Hoy se piensa que la generación de nuevas especies en las profundidades marinas ha sido a lo menos tan activa como en otros dominios bióticos (Wilson & Hessler 1987). Esto contradice la creencia de que las especies de profundidad tendrían una distribución cosmopolita dada la supuesta ausencia de barreras de aislamiento y la uniformidad global de las condiciones ambientales básicas. De hecho la mayoría

de los granaderos bentopelágicos tienen distribuciones restringidas (Marshall 1979), siendo un buen ejemplo de ello el granadero *Coryphaenoides armatus* (Hector 1875), que previamente se le consideraba de distribución cosmopolita, incluye subespecies limitadas geográficamente y a especies estrechamente relacionadas (Wilson & Waples 1983 y 1984). De allí la necesidad de comparaciones geográficas cuidadosas de parámetros morfológicos y genéticos para determinar el grado de flujo génico y la variación entre poblaciones separadas. Wilson & Hessler (1987), proponen que una de las primeras cosas que deben realizarse, son estudios de variación geográfica y batimétrica usando técnicas tales como la electroforesis.

Tabla 2.- Comparación de los loci monomórficos encontrados en *M. holotrachys* y *A. rostrata*.

LOCUS	ALELO	<i>M. holotrachys</i>	<i>A. rostrata</i>
Lap-1	100	1.0	-
Lap-2	100	1.0	1.0
Lap-3	100	1.0	1.0
AP-1	100	1.0	1.0
AP-2	100	1.0	1.0
Glio	100	1.0	-
	200	-	1.0
Est	100	1.0	-
Ck	100	1.0	-
	200	-	1.0
6-Pgdh	100	1.0	-
Gdh	100	1.0	-
	200	-	1.0
Idh-1	100	1.0	-
	200	-	1.0
Idh-2	100	1.0	-
	200	-	1.0
ME	100	1.0	1.0
Ldh-A	100	1.0	1.0
Ldh-B	80	-	1.0
	100	1.0	-
Ldh-C	100	-	1.0
	-100	1.0	-
Mdh-1	100	1.0	-
	200	-	1.0
Pt-1	100	1.0	1.0
Pt-2	100	1.0	-
Pt-3	100	-	1.0
Pt-4	100	-	1.0

Tabla 3. Frecuencias alélicas de los loci polimórficos observados en *M. holotrachys* y *A. rostrata*.

LOCUS	ALELO	<i>M. holotrachys</i>	<i>A. rostrata</i>	$\chi^2$	p<0.01
Pgi-1	90	0.24	-	36.55	**
	100	0.53	-		
	110	0.22	-		
	190	-	0.1		
	200	-	0.6		
	210	-	0.3		
Pgi-2	100	0.97	-	34.95	**
	110	0.03	-		
	200	-	0.8		
	210	-	0.2		
Pgm	90	0.13	-	34.89	**
	95	0.01	-		
	100	0.43	-		
	105	0.16	-		
	110	0.15	-		
	200	-	0.5		
	210	-	0.5		
N		70	5		
Error Estandar		0.03	0.10		
Het.		0.34	0.4		
Het. Obs. (todos los loci)		(0.043)	(0.005)		

Además se deben realizar estudios filogenéticos cuidadosos sobre muchos grupos de organismos de profundidad, para someter a prueba hipótesis tanto de procesos de especiación (Cracraft 1982) así como aquellas concernientes con la mantención de la diversidad (Carney *et al.* 1983). Se necesita como mínimo conocer la composición de especies y la filogenia de algún clado monofilético en una sola cuenca oceánica, persistiendo para la comparación la necesidad de más estudios sobre otros taxa simpátricos, incluyendo estudios de taxonomía descriptiva básica (Wilson & Hessler 1987).

En lo que respecta al conocimiento de los procesos de especiación en el mar profundo, todavía persisten serios problemas epistemológicos y de dificultades técnicas para poder avanzar; y en cuanto a los macrúridos o a los Gadiformes en general, a pesar de todo lo hecho y avan-

zado en las metodologías, está muy claro que la sistemática del grupo se encuentra muy lejos de ser considerado un libro cerrado (Cohen 1989), más aun, la única posible apomorfía que le diera consistencia al grupo de los *Paracanthopterygii* provendría de la sistemática bioquímica del sistema LDH (Patterson & Rosen 1989).

Se ha propuesto que las especies que viven a mayor profundidad deberían presentar una menor variabilidad genética; por habitar un ambiente más homogéneo y uniforme (Siebenaller 1978). Una explicación alternativa para valores bajos de variabilidad ha sido propuesta por Smith & Fujio (1982) quienes postulan que entre un mosaico de factores, existiría una relación entre alta heterocigosidad con especialistas de hábitat por un lado y baja heterocigosidad con generalistas de hábitat por otro lado. Estos au-

tores junto con informar bajos niveles de variabilidad genética en Gadiformes, muestran también los mismos niveles para especies que habitan el mar profundo. La explicación para ello es que en el caso de las especies especialistas, alelos con un rango estrecho de funcionamiento serían los favorecidos, permitiendo con ello una sintonía fina al ambiente, con individuos adaptados a cada microhabitat; así la especie o la población representa una acumulación de varios alelos de rango estrecho y caracterizado entonces por una alta heterocigosidad. En las especies consideradas generalistas de habitat, la selección favorecería a aquellos individuos capaces de sobrevivir sobre un rango amplio de condiciones, por lo que se requiere alelos "flexibles" que puedan funcionar sobre un amplio rango de condiciones experimentadas por el animal de modo que la población o la especie consistiría de unos pocos alelos de rango amplio y estaría caracterizada por una baja heterocigosidad.

Lo anterior se correspondería con las condiciones descritas por White (1987) acerca de las anoxias recurrentes

en el mar profundo que estarían actuando como verdaderas barreras de alopatría, de ese modo grupos con muy baja variabilidad genética podrían ver incrementadas sus posibilidades de especiación. Tal es el caso de los Gadiformes y en particular de la familia Macrouridae, que aun cuando es una familia casi exclusiva del ambiente profundo incluye a más de 300 especies.

Nuestros resultados ratifican la característica del grupo en cuanto a presentar bajos niveles de variabilidad, comparable a lo encontrado para *C. armatus* tanto en el Pacífico Norte como en el Atlántico Norte (Wilson & Waples 1984) y para *C. yaquinae* del Pacífico Norte (Wilson & Waples 1983). Desafortunadamente, no contamos con información sobre la genética de peces de profundidad del Pacífico Sur Oriental ya sea de la misma familia o de otra. Los datos que aquí entregamos acerca de *A. rostrata* también muestran un muy bajo nivel de variabilidad, pero esa información proviene del análisis de sólo 5 ejemplares.

#### LITERATURA CITADA

- Buth, D.G. 1984. The application of electrophoresis data in systematic studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 501-522.
- Carney, R.S.; Haedrich, R.L. & G.T. Rowe. 1983. Zonation of fauna in the deep-sea. In: G.T. Rowe (ed.) *Deep-Sea Biology, The Sea*, 8: 371-398. New York, Wiley, 560 pp.
- Cohen, D.M. (ed.). 1989. *Papers on the Systematics of Gadiform fishes*. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series, 32, 262 pp.
- Cohen, D.M. 1970. How many recent fishes are there? *Proceeding California Academy of Sciences*, 38: 47-81.

- Cohen, D.M.; Inada, T.; Iwamoto, T. & N. Scialabba. 1990. FAO species catalogue. Vol. 10. Gadiform fishes of the world (Order Gadiformes). An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. FAO Fisheries Synopsis, 125 Vol 10, 442 pp.
- Cracraft, J. 1982. Geographic differentiation, cladistics, and vicariance biogeography: Reconstructing the tempo and mode of evolution. *American Zoologist* 22: 411-424.
- Ferguson, A. & C.C. Fleming. 1983. Evolutionary and taxonomic significance of protein variation in the Brown Trout (*Salmo trutta* L.) and other Salmonid fishes. In *Systematic Association Special Volume N° 24, "Protein Polymorphism: Adaptive and Taxonomic significance"*, Ed. by G.S. Oxford & D. Rollinson, Academic Press, London: 85-99.
- Harris, H., & D.A. Hopkinson. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. Am. Elsevier Publ. Co., N.Y.
- Hessler, R.R. & G.D.F. Wilson. 1983. The origin and biogeography of Malacostracan crustacean in the deep sea. in: R.W. Sims, J.H. Price & P.E.S. Whalley (eds.) *Evolution, Time and Space: The emergence of the Biosphere*. Systematics Association, Special Volume 23: 227-254.
- Iwamoto, T. 1989. Phylogeny of grenadiers (Suborder Macrouroidei): Another Interpretation. In: D.M. Cohen (ed.) *Papers on the systematics of Gadiform fishes*. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series 32: 159-173.
- Koehn, R.K. 1984. The application of genetics to problems in the marine environment: future areas of research. NERC, Swindon, U.K. 44 pp.
- Marshall, N.B. 1979. *Developments and Perspectives in Deep-Sea Biology*. Dorset Blandford, 566 PP.
- Patterson, C. & D.E. Rosen. 1989. The Paracanthopterygii revisited: Order and Disorder. In: D.M. Cohen (ed.) *Papers on the Systematics of Gadiform Fishes*. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series 32: 5-36.
- Pequeño, G. 1971. Sinopsis de Macrouriformes de Chile. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural, Chile* 32: 269-298.
- Pequeño, G. 1989. Peces de Chile. Lista Sistemática revisada y comentada. *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 24(2): 1-132.
- Pierrot-Bults, A.C.; Van Der Spoel, S.; Zahuranec, B.J. & R.K. Johnson. (Eds.). 1986. Pelagic Biogeography. Proceeding of an international conference, The Netherlands 29 May-5 June 1985. UNESCO Technical Papers in Marine Sciences 49: 1-295.
- Richardson, B.J.; Baberstock, P.R. & M. Adams. 1986. *Allozyme electrophoresis: A handbook for animal systematics and population studies*. Academic Press, Australia.
- Ruiz, V.H. & C. Oyarzún. 1993(a) Presencia de *Macrourus holotrachys* Günther, 1878 en Chile. *Gayana* 57(1): 57-59.

- Ruiz, V.H. & C. Oyarzún. 1993(b) Osteología de *Macrourus holotrachys* Günther, 1878 con énfasis en sus apomorfias (Pisces, Gadiformes, Macrouridae). (manuscrito no publicado).
- Shaklee, J.B. & G.S. Whitt. 1981. Lactate Dehydrogenase of gadiform fishes: Divergent patterns of gene expression indicate a heterogeneous taxon. *Copeia* 1981(3): 563-578.
- Shaklee, J.B.; Tamaru, C.S. & R.S. Waples. 1982. Speciation and evolution of marine fishes studied by the electrophoretic analysis of proteins. *Pacific Science* 36(2): 141-157.
- Sharp, G.D.; Csirke J. & S. García. 1983. Modelling Fisheries: What was the question?. In: G.D. Sharp & J. Csirke (Eds.). Actas de la consulta de expertos para examinar los cambios en la abundancia y composición por especies de recursos de peces neríticos. San José, Costa Rica, 18-29 Abril, 1983. FAO, Inf. Pesca, (291)3: 1177-1224.
- Siebenaller, J.F. 1978. Genetic variation in deep sea invertebrate populations: The bathyal gastropod *Bathymbibix bairdii*. *Marine Biology* 47: 265-275.
- Smith, P.J. & Fujio. 1982. Genetic Variation in marine Teleosts: High variability in habitat specialists and low variability in habitat generalists. *Marine Biology* 69: 7-20.
- White, B.N. 1987. Oceanic anoxic events and allopatric speciation in the deep-sea. *Biological Oceanography* 5: 243-259.
- Wilson, G.D.F. & R.R. Hessler. 1987. Speciation in the deep-sea. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 185-207.
- Wilson, R.R. & R.S. Waples. 1983. Distribution, morphology, and biochemical genetics of *Coryphaenoides armatus* and *C. yaquinae* (Pisces: Macrouridae) in the Central and eastern North Pacific. *Deep-Sea Research* 30: 1227-12245.
- Wilson, R.R. & R.S. Waples. 1984. Electrophoretic and biometric variability in the abyssal grenadier *Coryphaenoides armatus* of the western North Atlantic, eastern South Pacific and eastern North Pacific Oceans. *Marine Biology* 80: 227-237.