



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

Escuela Superior de Ciencias

**DETERMINACION DE LA VARIABILIDAD GENETICA DEL OSTION JAPONES
Crassostrea gigas EN PROTEINA MUSCULAR EN UNA POBLACION
CULTIVADA DE BAHIA DE SAN QUINTIN, B.C. MEXICO**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
BIOLOGO

PRESENTA

RUFINO RADILLA CAMACHO

Ensenada, B.C., Diciembre de 1988.

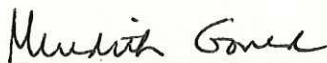
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

ESCUELA SUPERIOR DE CIENCIAS

DETERMINACION DE LA VARIABILIDAD GENETICA DEL OSTION JAPONES
Crassostrea gigas, EN PROTEINA MUSCULAR
EN UNA POBLACION CULTIVADA DE BAHIA SAN QUINTIN, B. C., MEXICO.

TESIS PROFESIONAL QUE PRESENTA:
RUFINO RADILLA CAMACHO.

Aprobado por:



Dr. Meredith Gould Ch.
Presidente del Jurado.



H. C. Carlos Marquez B.
SINODAL



H. C. José Luis Stephano H.
SINODAL



H. C. Rafael de J. Acosta R.
SINODAL



Dr. Jorge De la Rosa V.
SECRETARIO

DEDICATORIA

A MIS PADRES
Y
HERMANOS.

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a los señores M.C. Carlos Márquez y M.C. Manuel Acosta por su asesoramiento y apoyo incondicional para la realización de este trabajo.

A la Dra. Meredith Gould y al M.C. José Luis Stephano por su ayuda y colaboración.

Al Dr. Jorge De la Rosa por sus valiosas sugerencias y su amplia disposición.

A la Sociedad Cooperativa Bahía Falsa por las facilidades prestadas para la obtención de los organismos analizados, y en especial al Sr. Juan Guerrero por su gran hospitalidad.

Al Dr. Christopher Wills por el material y reactivos brindados durante los corrimientos preliminares.

A la M.C. Teresa Gutiérrez Wing, A la Biól. Carmen Paniagua y al P.B. Rodrigo Michel por su ayuda para la preparación del escrito, así como a los miembros del Centro de Cómputo del CICESE.

A Fabián Cabrera por la elaboración de tablas y figuras.

Por el apoyo económico brindado a través de las becas otorgadas agradezco al CICESE, UABC y Secretaría de Pesca.

Al Personal Docente y Administrativo de la E.S.C.

A mis compañeros en especial a la P.B. Socorro Chong, a Ana María Espinoza, Magali Peraaza, Lourdes Trujillo y al Ché Guillermo Aguad.

RESUMEN.

Se analizó el locus de la proteína muscular (Mp-1) de una población cultivada de ostiones Crassostrea gigas gigas de Bahía San Quintín, por medio del método de electroforesis horizontal en gel de almidón.

Las frecuencias genotípicas observadas mostraron una desviación significativa del equilibrio Hardy-Weinberg. Se evidenció una heterocigosidad del 89%. Los resultados sugieren la presencia de una condición de selección balanceadora. Se discuten eventos como son: la fase de desequilibrio gamético, la selección cíclica, la estratificación de la población y el tamaño de la muestra como procesos que pudieran explicar el exceso de heterocigotos.

ABSTRACT.

The muscle protein locus (Mp-1) was analyzed by means of starch gel electrophoresis in a cultured population of the Pacific oyster Crassostrea gigas from San Quintin Bay.

The genotypic frequencies were significantly deviated from Hardy-Weinberg equilibrium. Heterozygosity was 89%. Then results suggest a kind of balancing selection. Events such as linkage gametic disequilibrium, cyclic selection, population stratification and sample size are discussed as processes that may explain the heterozygote excess.

CONTENIDO

I. INTRODUCCION.....	1
II. ANTECEDENTES.....	5
III. OBJETIVO.....	9
IV. AREA DE ESTUDIO.....	10
V. MATERIALES Y METODOS.....	14
VI. RESULTADOS.....	17
VII. DISCUSION.....	22
VIII. CONCLUSIONES.....	43
IX. RECOMENDACIONES.....	44
X. ANEXO.....	48
XI. LITERATURA CITADA.....	50

I. INTRODUCCION.

La creciente demanda en la alimentación humana ha impulsado a las áreas del conocimiento, tales como la acuicultura cuyo objetivo es la producción masiva de alimentos a bajo costo y con un alto contenido de proteínas.

La domesticación de las especies utilizadas en esta área no será completa hasta que no se tenga el control de todos los aspectos de su biología, incluyendo su genética. Hoy se está lejos de obtener dicho control, no obstante se han producido avances significativos en la búsqueda del entendimiento de varios aspectos de la genética de los moluscos en años recientes (Newkirk, 1980).

El ostión japonés por poseer características de rápido crecimiento, y por su alta tasa de fecundación, es atractivo para ser cultivado (Iversen, 1968). Esta especie que es catalogada como exótica, porque ha sido introducida a varias localidades del mundo (Mann, 1979), ha llegado a ser el organismo marino cultivado de mayor relevancia en 14 países ostricultores, entre los cuales Japón ha encontrado un amplio mercado de exportación de semilla hacia Inglaterra, Canadá, Filipinas y los Estados Unidos de Norteamérica (Milne, 1972).

El año de 1973 se señala como la fecha de introducción del ostión japonés Crassostrea gigas a escala piloto en Bahía de San Quintín, donde posteriormente se estableció un cultivo comercial (Islas-Olivares, 1975).

Hoy a 15 años de su introducción a Baja California, se carece de un estudio global sobre la población de ostiones, que integre el conocimiento necesario para dirigirlo hacia la promoción de una alta producción de organismos con un costo reducido. Puede indicarse que la actividad acuicultural en Bahía San Quintín se encuentra en un nivel de baja eficiencia.

En países desarrollados como Japón y los Estados Unidos se han realizado diversos estudios genéticos tales como: marcadores bioquímicos, cruce y selección, que se han orientado a incrementar los niveles de producción en los aspectos cualitativos y cuantitativos (Buroker et al., 1975; Fujino y Nagaya, 1977a y b; Lannan, 1980a, b y c; Lannan et al., 1980; Hershberger et al., 1984; Allen, 1986). Este tipo de estudios también requieren de un fuerte apoyo en nuestro país, y con la información recabada se posibilitará el despegue hacia un estado de alta producción.

Dentro de los estudios citados participan con destacada importancia los trabajos de cruce y selección, y el éxito de cualquier programa para cualquier especie dependerá de la cantidad y clase de variabilidad genética presentes en los progenitores a cruzarse (Longwell, 1976).

Se ha probado que las técnicas electroforéticas son útiles en el estudio de la variabilidad genética ya que los fenotipos obtenidos en los zimogramas se pueden igualar con los genotipos, permitiendo enumerar las frecuencias génicas y detectar proteínas variables y no variables, posibilitando la cuantificación de la variación promedio en una muestra de loci seleccionados sin un conocimiento previo de su variabilidad (De la Rosa-Vélez, 1986).

La relación entre los rasgos fisiológicos que constituyen los fenotipos y su relación con el medio, dependen fuertemente de la estructura genética de la población (Gafney y Scott, 1984).

Con base en las capacidades adaptativas de las poblaciones a su ambiente, expresados en términos de variabilidad genética, será factible determinar las condiciones más adecuadas para su uso y manejo (De la Rosa-Vélez, 1986).

En el presente trabajo se estudió la variabilidad genética en una población cultivada por medio de un marcador bioquímico, ya que este método permite el análisis de un solo gen entre individuos (Buroker, 1979a) y además nos muestra datos del estado de variabilidad (Hedgecock, 1977). Esta información puede correlacionarse con datos de valor adaptativo que impactan el aspecto comercial de este organismo.

II. ANTECEDENTES.

La clasificación del ostión del Pacífico, conocido en Japón como "Mayaki", fué iniciada en el siglo XVIII y se le otorgó el nombre científico de Crassostrea gigas por Thunberg en el año de 1795 (Imai, 1982).

A partir de este hecho la sistemática y taxonomía de este organismo ha sido tema de gran controversia, en relación a las poblaciones geográficas pertenecientes a los cuatro distritos japoneses donde se distribuye la especie (Barker, 1979a). Estos desacuerdos entre los taxónomos han surgido por la difícil tarea de clasificar a los ostiones de manera satisfactoria en base a sus características morfológicas, ya que en ellos se producen cambios sustanciales por efecto de factores ambientales (Hirase, 1980; Numachi, 1982; Menzel, 1988).

Stauber (1950) propuso la existencia de especies fisiológicas de ostión; posteriormente Loosanoff y Nomejko (1951), sugirieron la existencia de varias razas de ostión, las que fueron evidenciadas a partir de métodos serológicos por Numachi (1959).

A mediados de la década de los sesenta, las técnicas electroforéticas fueron suficientemente refinadas para permitir el examen de un gran número de proteínas diferentes en un mismo organismo (Hubby, 1963; Harris, 1966; Lewontin y Hubby, 1966).

Fue así como estos estudios multi-loci mostraron en primer término datos valiosos en problemas sistemáticos (Avice, 1975). No fue sino hasta 1979 en que Buraker y colaboradores, en un estudio intraespecífico de Crassostrea gigas, intentaron determinar la similitud y distancia genética para las razas geográficas de este organismo, proponiendo una reclasificación en base al establecimiento de superespecies. Además, los estudios electroforéticos multi-loci fueron los prototipos de un nuevo método ventajoso para el análisis de la variabilidad genética y de la estructura poblacional (Gotlieb, 1971).

El método ha sido aplicado de manera amplia hacia todos los niveles de la escala biológica, y ha confirmado que las poblaciones naturales de la mayoría de los organismos poseen un gran reservorio de variabilidad genética.

Sin embargo, no todos los organismos son variables en igual magnitud. En los vertebrados el polimorfismo promedio es del 24.7% y la heterocigosis génica promedio es del 6.0%,

en los invertebrados es del orden del 47% y 13%, respectivamente (Ayala, 1983).

El análisis genético mediante técnicas electroforéticas en el locus de proteína muscular total de Crassostrea gigas ha sido abordados por Buraker y colaboradores (1975). En este estudio se intentó correlacionar la variabilidad presente en este y otros loci con la resistencia a enfermedades producidas por vibrios; y se detectó una variación alélica en 11 de 15 loci, lo cual evidenció un polimorfismo del 73% y una heterocigosidad del 50%. Torigoe e Inaba (1975), utilizaron el método de electroforesis en disco, y caracterizaron los patrones del musculo aductor con el objeto de utilizarlo como elemento de valor taxonómico. Fujino y Nagaya (1977a), emplearon para su estudio el mismo tipo de proteína, y determinaron que los fenotipos por ellos encontrados fueron idénticos a los reportados por Buraker y colaboradores (1975). Ellos detectaron una heterocigosidad del 27%; y observaron que las frecuencias alélicas de las poblaciones importadas de Japón y que fueron colocadas en Mud Bay (Washington) no mostraron diferencias significativas con respecto a las poblaciones naturales de Hirota y Ofunato en Japón. Fujino y Nagaya (1977a) recomiendan el uso de los marcadores bioquímicos para la identificación de poblaciones naturales, su aprovechamiento como fuente de germoplasma, la identificación de razos de valor adaptativo y heterosis con

características de interés comercial. Torigoe (1978), por su parte, utilizó electroforesis en disco, y describió fenotipos con 14 bandas, cuyas diferencias estriban en las bandas centrales. No obstante, señaló que su método evidenció fenotipos que se podrían asociar a los reportados por Fujino y Nagaya (1977a) y detectó una heterocigosidad del orden del 70%. Buraker (1979b) reportó una sobredominancia en el locus de proteína muscular total con una heterocigosidad del 53% en organismos cultivados sometidos a microambientes distintos, caracterizados por gradientes de temperatura y recomendó el uso de este marcador bioquímico dentro de una estrategia para promover la sobrevivencia de organismos producidos con fines comerciales.

III. OBJETIVO.

Determinar la variabilidad genética de el ostion japonés Crassostrea gigas en proteína muscular, por medio de un marcador bioquímico, en una población cultivada presente en Bahía San Quintín, B. C.

IV. AREA DE ESTUDIO.

Bahía San Quintín está localizada en la costa Noroccidental de Baja California, entre los $30^{\circ}24'$ y los $30^{\circ}30'$ latitud N. y los $115^{\circ}57'$ y $116^{\circ}01'$ de latitud W. Tiene un área de 41.6 Km^2 y se comunica con el mar a través de un canal estrecho. Está dividida en dos brazos (Barnard, 1964), al brazo Este se le denomina propiamente Bahía San Quintín y al Brazo Oeste, Bahía Falsa. Es en su extremo interno donde se encuentra el cultivo comercial de ostión (Fig. 1).

Con excepción de los canales estrechos de 7m de profundidad, la mayor parte de la bahía tiene menos de 3m (Alvarez et. al., 1975). Los sedimentos son extraordinariamente variados. Existen limos y arenas gruesas, los cuales se presentan uniformemente (Gorsline y Stewart, 1962).

No existe un aporte continuo de agua dulce a la bahía, con excepción de las épocas de lluvia en las estaciones de otoño e invierno. Bahía Falsa es básicamente una cuenca de evaporación, donde la salinidad aumenta de la boca hacia los extremos internos (Chavez de Nishikawa y Alvarez-Borrego, 1974).

En verano las condiciones climatológicas cambian y tres son los factores determinantes: Aumento de la temperatura y de las horas luz recibidas en un día, así como eventos de surgencias costeras del mar adyacente, la cual trae como consecuencia un incremento de la productividad primaria dentro de la laguna (Lara-Lara y Alvarez-Borrego, 1975).

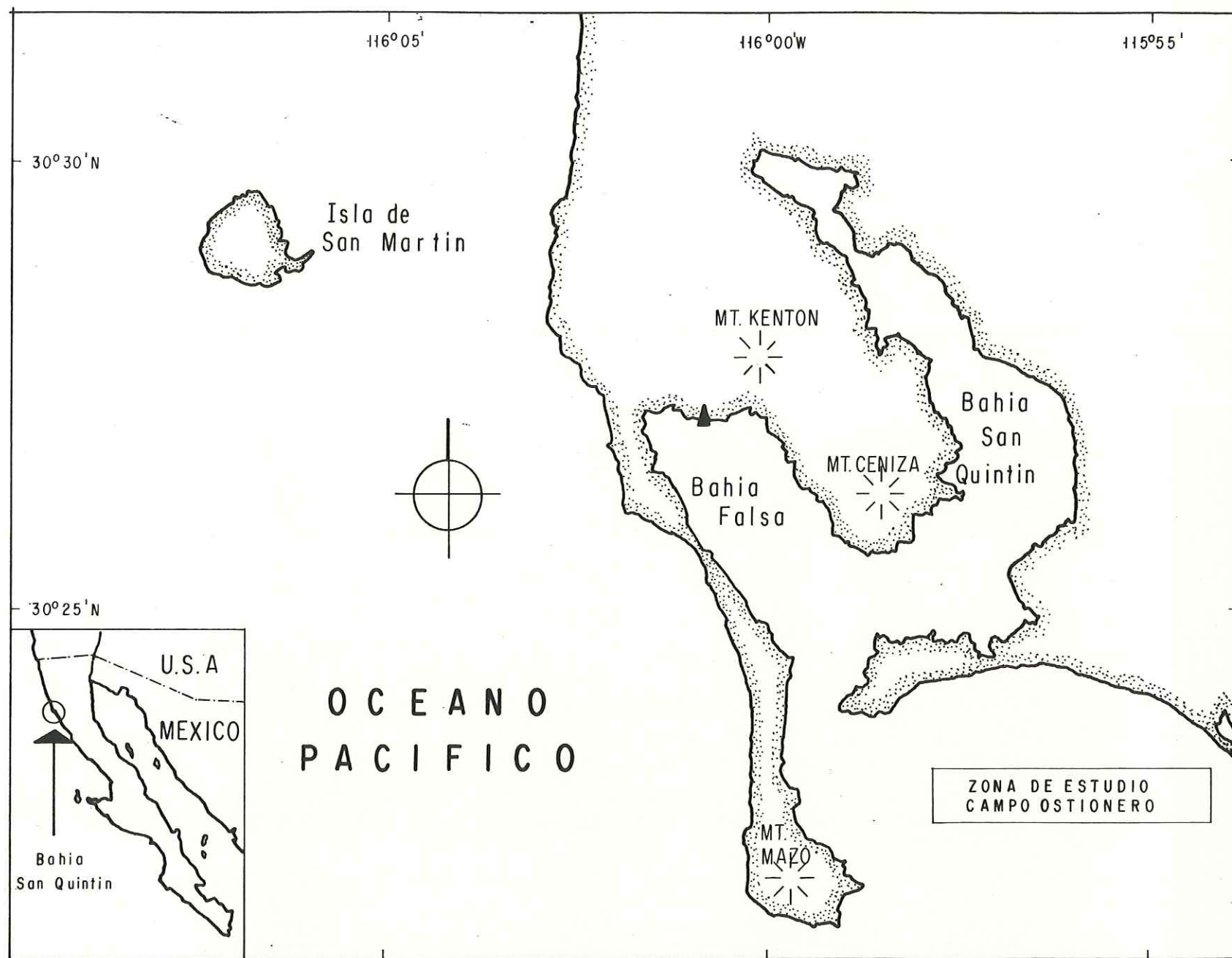
Se han evidenciado altas tasas de sedimentación en Bahía Falsa durante y después del florecimiento del plancton, con valores máximos en verano de 13.7 Kg/m²/mes; esto puede deberse a la gran concentración de células intactas de fitoplancton, detritus de pasto marino y a productos de excreción de ostiones cuya biodepositación promedio en organismos de talla comercial (9.0 cm) es de 0.5 gr/ostra/día (Carrillo-Sánchez, 1985).

Farfón y Alvarez-Borrego (1983) señalan que Bahía San Quintín, dependiendo de la dinámica del océano adyacente puede comportarse como una fuente de exportación de materiales o como un lugar de asentamiento de los mismos, con periodos de equilibrio en que la mayoría del agua que sale de la laguna en el reflujo, regresa en el flujo, provocando además un alto tiempo de residencia, en el brazo de Bahía Falsa.

Es posible que todo el material excretado por las

ostras alcance a sedimentarse en la laguna ya que la zona de cultivo se encuentra a una distancia aproximada de 2 Km de la boca de la bahía. La velocidad promedio de la corriente en la zona de cultivo es de 0.5m/seg. (Monreal, 1980), y la tasa de asentamiento de heces y pseudoheces de Crassostrea gigas varía de 0.6 a 1.0 cm/seg. (Nishikawa, 1978).

Villarreal (1987), describe las comunidades bentónicas presentes y bien delimitadas de Bahía Falsa y las caracteriza en tres tipos: La zona no afectada por los cultivos, que presenta una comunidad compleja tipificada por una pradera de Zostera marina en las porciones marginales de la bahía que hace que la fauna de invertebrados bentónicos esté presente en densidades altas y con gran diversidad. La zona adyacente a los cultivos, que se ha denominado zona de sombra, pues es aquella donde se extiende el detritus de los cultivos como consecuencia de las corrientes; y esta se caracteriza por tener una fauna de anélidos y moluscos de zonas eutróficas; y la zona inmediatamente debajo de los cultivos de ostión, que contiene una biota típica de áreas altamente contaminadas por materia orgánica, predominando en ella anélidos de la familia Capitellidae, en densidades y diversidad baja. Asimismo, prevé que los cambios en la ecología bentónica, aunados a la falta de oxígeno y presencia de ácido sulfhídrico afectarán en un plazo breve a la producción de ostión de la zona.



Localización geográfica de Bahia San Quintin y distribución de la estación de muestreo (▲)

V. MATERIALES Y METODOS.

- 1 - Se estudiaron 100 organismos en total, los cuales fueron colectados de sartas, provenientes de la localidad "Campo Estionero", lugar donde se cultiva el ostión a nivel comercial. La colecta se llevó a cabo durante los meses de agosto y septiembre de 1987.
- 2.- Los organismos, fueron disectados, y se tomó el musculo aductor como tejido de estudio.
- 3.- El material se envolvió en papel aluminio y se mantuvo congelado a una temperatura de -25°C , hasta su posterior análisis.
- 4.- El tejido se homogenizó en una proporción de 1:2 en agua destilada.
- 5 - El homogenizado se centrifugó a 10,000 r.p.m. durante 30 minutos a temperatura controlada de -4°C , en un rotor SS-34 de una centrifuga Sorval RC2-B.
- 6.- Se tomó el sobrenadante, que contiene las proteínas solubles unicamente.

- 7.- Se cuantificó la concentración de proteínas mediante el método de Lowry (Lowry et. al., 1951).
- 8.- Se empleó la modalidad de electroforesis horizontal en matriz de gel de almidón en baño de hielo, utilizando el sistema discontinuo (Poulik, 1957) como amortiguador para el corriento. (Las características y modificaciones al método se presentan en el anexo).
- 9.- La electroforesis se realizó en refrigeración por un tiempo de 11 horas, con una corriente constante de 30 mA, utilizando una fuente de poder Gelman D. P. S. con un rango de 0 a 100 mA.
- 10.- La tinción se llevó a cabo utilizando una mezcla de 50ml de agua destilada, 50ml de metanol absoluto y 10ml de ácido acético con 0.2gr de azul Coomassie; el gel se dejó teñir por espacio de 12 horas.
- 11.- El exceso de colorante fue removido con una mezcla de una parte de ácido acético, 5 partes de metanol y 5 partes de agua; se hicieron cambios sucesivos hasta observar bandas.
- 12.- Para las lecturas de los electroforegramas se utilizó la notación "100" si la banda presentó una movilidad relativa

lenta en el locus Mp-1, y a la mas rápida "105", de acuerdo con los patrones reportados por Buroker y colaboradores (1975). Cuando un organismo exhibió sólo una banda en el electroforegrama se interpreta que éste solamente presenta el gen que codifica para un alelo, ya sea para el "100" o el "105", de esta forma los genotipos que pueden producir son el homocigoto 100/100 o el 105/105; si otro individuo exhibió dos bandas, la primera con una migración igual a la banda "100" y la segunda a la banda "105" entonces se interpreta como heterocigoto, el cual posee los genes que codifican para el alelo "100" y "105", por lo cual su genotipo es 100/105.

- 13.- La prueba utilizada para determinar el nivel de significancia estadística de las diferencias entre las frecuencias genotípicas observadas y esperadas, fue la de chi cuadrada, los grados de libertad, son calculados a partir de la diferencia del numero de genotipos menos el numero de alelos (Ayala y Kiger, 1984), o sea $3 - 2 = 1$.

VI. RESULTADOS.

En el presente estudio se evidenciaron dos zonas en el electroforegrama, la primera caracterizada por la presencia de proteínas con movilidad electroforética relativa más rápida, en la que se observa variabilidad (Mp-1), y la segunda, una zona con migración electroforética relativa más lenta en la que se aprecia una zona de alta densidad de bandas proteico y no se observó variabilidad. (Mp-2) (Fig. 2).

Se evidenciaron tres genotipos en el locus de la proteína total (Mp-1): 100/100, 100/105 y 105/105, donde el heterocigoto se clasifica como la suma de sus alelos correspondientes (Manwell y Baker, 1970) (Fig. 2).

Existen algunas observaciones que conviene mencionar, con el propósito de descartar la posibilidad de que se hubiesen registrado artefactos. La primera observación es que al analizarse el musculo aductor completo o bien alguna de sus partes, tales como la región blanquecina o la semitransparente, siempre se obtuvo el mismo patrón de bandas.

La segunda apreciación es que el patrón de bandas de cada muestra se mantuvo constante, aun cuando se corriera en

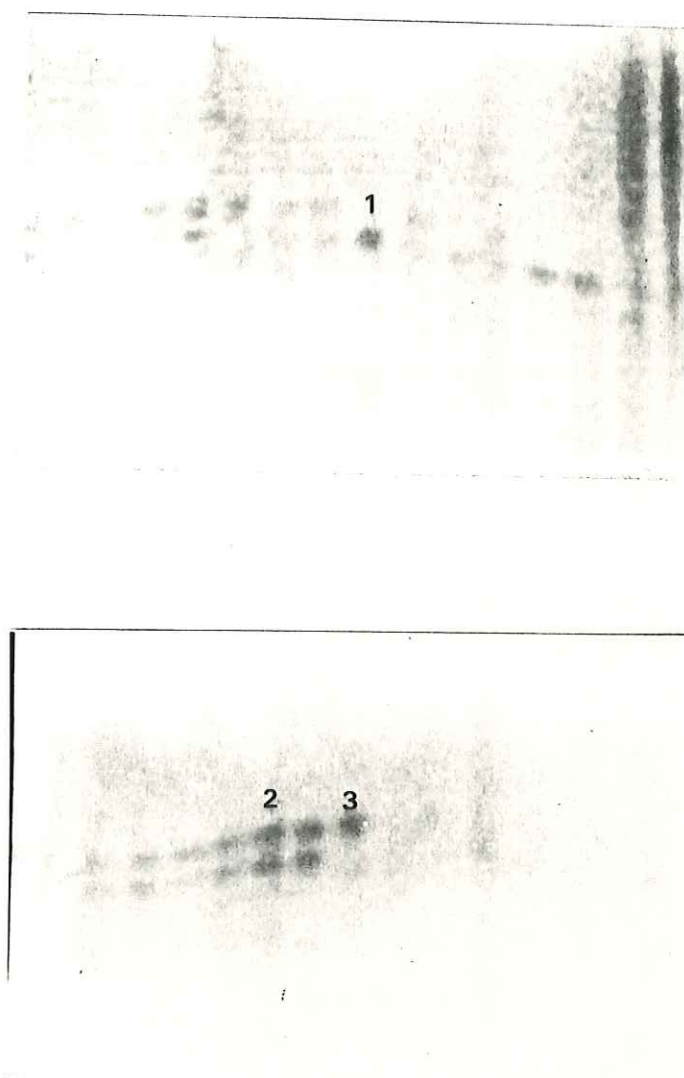


Fig. 2. Electroforegramas con los genotipos Mp-1 100/100 (1), Mp-1 100/105 (2) y Mp-1 105/105 (3).

intervalos de tiempo de varios días y hasta de semanas. Inclusive prescindiendo de inhibidores de proteasas.

Acimismo cabe destacarse que se repitieron los corrimientos electroforéticos, cuando los patrones de bandas fueron poco claros o bien en los casos en que se presentaron situaciones imprevistas tales como: sobrecalentamiento, fallas en el suministro de energía eléctrica o frentes irregulares en el gel.

Una aclaración adicional es que cuando no fue posible repetir el corrimiento de un organismo por falta de muestra, entonces se procedió a reemplazarlo por otro individuo. Pero el total de reemplazos no superó el 10%.

Se detectó una heterocigosidad del 89% para el locus estudiado. Al comparar los valores de las frecuencias genotípicas (Tabla 1), se aprecia una diferencia significativa entre las frecuencias observadas y las esperadas. En base a la prueba de chi cuadrada se puede rechazar la hipótesis de que no existe una desviación significativa de las frecuencias genotípicas esperadas bajo la asunción de no selección, con una confiabilidad del 99.99%. Por otro lado también se observa una baja frecuencia de ambos homocigotos y un exceso de heterocigotos.

Genotipo	p^2	$2pq$	q^2	Total
	100/100	100/105	105/105	$p^2 + 2pq + q^2$
F. O	4	89	7	100
F. E	23.52	49.95	26.52	99.99
χ^2	16.2	30.52	14.32	61.08
Prob (1g.1)	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	10.83

TABLA 1. Valores genotípicos observados y esperados (Hardy-Wienberg), valores de Chi cuadrada para la bondad de ajuste de los genotipos observados y esperados y los niveles de probabilidad estadística para el estudio electroforético de proteína muscular en Ostión Japonés.

Se determinaron las frecuencias génicas y genotípicas observadas del locus Mp-1 de acuerdo con este criterio:

Dado que las determinaciones electroforéticas de los 100 organismos analizados se observó que los genotipos se presentaron en las frecuencias siguientes:

Mp-1 100/100	Mp-1 100/105	Mp-1 105/105
04	89	07

Sus frecuencias relativas son entonces para el Mp-1 100/100 $4/100 = 0.04$, para Mp-1 100/105 $89/100 = 0.89$ y para Mp-1 105/105 $7/100 = 0.07$.

El número de genes "100" en la muestra se obtiene contándolos directamente, y es igual a:

$$2\{(4)\text{Mp-1 } 100/100\} + 1\{(89)\text{Mp-1 } 100/105\} = 97$$

debido a que los individuos homocigotos son portadores de dos genes Mp-1 "100" y los heterocigotos, de uno.

La frecuencia relativa de los genes Mp-1 "100", que es un estimador de la frecuencia en la población es:

$$97/2(100) = 0.485 = p.$$

Aquí $2(100)$ indica que cada uno de los 100 individuos posee dos genes, dado que $(p + q)^2 = 1$, la frecuencia de Mp-1 "105" es $q = 1 - p$, de esta forma $q = 1 - 0.485 = 0.515$.

VII. DISCUSION.

La interpretación adecuada de la variabilidad de las formas vivientes que ocurre en la naturaleza y que permanece a través de generaciones, se basa en el conocimiento de los mecanismos que operan en la evolución. La existencia de la diversidad no solo implica la multiplicidad de los individuos distintos, sino de sistemas biológicos con un grado de complejidad que puede asociarse por una parte a un rango de diferencias cualitativas en las posibilidades de existir y reproducirse dentro de la variación ambiental (De Caray, 1978).

Los resultados encontrados en el presente trabajo muestran que las frecuencias genotípicas no se encuentran en equilibrio estable.

Existen dos clases de procesos a través de los cuales se pudieran producir cambios en las frecuencias genotípicas de la población estudiada. Estos cambios la desvían de el equilibrio H-W, y son, por un lado, los procesos sistemáticos, los cuales tienden a modificar las frecuencias genotípicas en forma predecible, tanto en magnitud como en dirección. Dentro de estos se encuentra la migración, la mutación y la selección. El otro proceso es el llamado dispersivo y resulta de la dinámica génica en poblaciones pequeñas o finitas y es debida a efectos de muestreo. El

cambio al que conduce es predecible unicamente en cantidad pero no en dirección, y a este se le denomina deriva génica (Falconer, 1982).

La desviación del equilibrio H-W detectada en la población estudiada, pudiera estar influida por la migración, más específicamente si se presentara el efecto del intercambio génico, el cual implica cierta alteración en las poblaciones cuando de manera ocasional, algunos organismos irrumpen en otros grupos mas estables, dando lugar al ingreso de nuevos gametos en la población recipiente (De Garay, 1978). Este efecto pudo haberse presentado en la población de ostiones en las ocasiones en las que se hicieron introducciones masivas de larvas provenientes de los laboratorios de producción de Washington de los Estados Unidos de Norteamérica hacia la población local.

El fenómeno pudo ocurrir bajo dos situaciones: la primera estaría dada por la introducción de nuevas variantes a la población recipiente, y la segunda en términos de la modificación de las frecuencias génicas y genotípicas, si es que los organismos introducidos (inmigrantes) poseyeran en conjunto frecuencias génicas diferentes a las de la población original.

Se considera que este proceso pudiera provocar cambios,

pero por ahora no es posible determinar su magnitud y dirección, dado que se carecen de muchos datos, tales como: estructura genética de las poblaciones local y de Washington, características genéticas de las larvas introducidas, así como su cantidad; por ello no es posible recurrir a modelos cuantitativos que pudieran mostrar una imagen más precisa del efecto del intercambio génico sobre la estructura genética de la población estudiada.

Otra de las fuerzas microevolutivas que pueden alterar las frecuencias genotípicas de la población estudiada es la mutación, sin embargo este proceso es aleatorio en las poblaciones. En eucariontes un gene presenta una tasa de mutación promedio de 1×10^{-5} (Ayala y Kiger, 1984). En osiciones la frecuencia con que el alelo 100 muta a 105 no ha sido aun determinada. Luego, para que en la población de osiciones el efecto de este proceso fuera significativo, la mutación debería presentarse con una alta tasa y la población tendría que ser pequeña. Estas condiciones parecen no existir en la población estudiada, ya que la población es grande, del orden de varias decenas de miles de organismos, y para que la tasa de mutación sea excepcionalmente alta, son necesarios varios requisitos; uno de ellos es que los organismos estén expuestos a un agente mutagenico que este actuando constantemente sobre la población. Este aspecto no ha sido estudiado en Bahía San Quintín. Sin embargo, aunque fuera detectado un agente de

tal naturaleza, su acción mutagénica sería aleatoria y no exclusiva para los alelos 100 y 105. Por lo tanto se considera poco probable que este proceso, aislado, pudiera sacar a las frecuencias genotípicas de su equilibrio.

Ciertos estudios de genética de poblaciones, especialmente aquellos realizados por Sewall Wright, llevaron a la identificación de la tercera fuerza evolutiva básica: la deriva génica, que también puede provocar una alteración en las frecuencias génicas y genotípicas de las poblaciones y romper el equilibrio H-W.

La deriva génica es el proceso general de fluctuación génica al azar y se presenta en todas las poblaciones, pero en las poblaciones pequeñas puede conducir a la pérdida o fijación de un gene (alelo) con características selectivas neutras o no adaptativas (Savage, 1979). Bajo este contexto se entiende por fijación a la situación donde un alelo ha alcanzado la frecuencia máxima (1.0).

En la población estudiada de Bahía San Quintín lo que se observó fue que los dos alelos estaban presentes en frecuencias aproximadamente similares. Por consiguiente es difícil plantear que se estuviese presentando un proceso de fijación o pérdida de alelos.

Cabe aclarar que la población tiene las siguientes

características: Es una población grande (miles de individuos), con entrada y salida de organismos (larvas importadas de Washington y ostiones que van al mercado, respectivamente). Dadas estas características, es difícil que el fenómeno de deriva tenga un efecto evidente, ya que algunos investigadores de citada fuerza evolutiva en los que se destaca Cavalli-Sforza (1969), han establecido que la deriva podrá tener gran impacto sobre las poblaciones, si estas cumplen con los requisitos de ser muy pequeñas (50 o menos individuos) y estar aisladas o con migración mínima.

De manera complementaria se puede indicar que un fenómeno relacionado con la deriva es la endogamia. Esta se pudo haber fomentado en la población estudiada, en las temporadas en las que se realizaron los cruces para la producción de juveniles de ostión, como consecuencia del manejo del cultivo.

Estos organismos tienen una elevada producción de gametos, una hembra libera al medio de 40 a 50 millones de ovocitos durante el ciclo anual. El manejo de la población propicia que sean pocos los organismos que participen como progenitores de la siguiente generación. Luego en las generaciones sucesivas, es posible que hubieran participado organismos emparentados, de tal suerte que conforme transcurrieran las siguientes generaciones, el número de homocigotos se hubiese incrementado. Tanto los efectos de

la deriva génica, como los de la endogamia, tienden a favorecer el incremento de homocigotos y a la formación de subpoblaciones homoalélicas en ostiones (Zouros et. al., 1980; Fujio, 1982). Sin embargo la información lograda a partir de este estudio evidenciaba un déficit de homocigotos.

Debe considerarse que aunque la migración, la mutación y la deriva génica, tienen su efecto sobre la composición de la pila génica, la estructura genotípica final de la población estudiada, podría definirse bajo el efecto de la presión de selección. La fuerza de selección actúa sobre la variación, facilitando las combinaciones genéticas favorables y eliminando aquellas que no lo son. El resultado es siempre el mismo: el desarrollo de una relación adaptativa mas eficiente entre la población y su ambiente (De Caray, 1978).

Uno de los avances más significativos que auxilió a la investigación experimental de los cambios evolutivos en las poblaciones, se logró mediante el descubrimiento y la adquisición de procedimientos destinados a precisar los valores del cambio genético y del efecto de selección. Una contribución clásica, que hasta la fecha es una referencia fundamental se debe a Ronald Fisher (1930), quien descubre el acceso cuantitativo al efecto de la selección natural, mediante el establecimiento de un teorema matemáticamente riguroso. considerando la existencia de un par de alelos, el

cual establece que "El incremento en la eficacia biológica de una población en un tiempo dado es directamente proporcional a la varianza genética en la eficacia biológica de sus miembros".

Al tipo de selección que favorece el éxito de los heterocigotos en comparación con los homocigotos, se le denomina selección natural balanceadora o equilibradora (Dobzhanski et al., 1977). Como consecuencia de tal proceso se presenta la situación designada como sobredominancia o superdominancia (Kimura y Ohta, 1971; Nei, 1975; Wills, 1981; Falconer, 1982; Ayala y Kiger, 1984; Kimura, 1984). Otros autores se han referido a este fenómeno denominándole heterosis positiva (Manwell y Baker, 1970).

La sobredominancia conduce a un equilibrio polimórfico estable, donde las frecuencias alélicas están determinadas por los coeficientes de selección contra ambos homocigotos (Tabla 2).

	p^2	$2pq$	q^2	a
Genotipo	100/100	100/105	105/105	Total
Frec. Obs.	.04	.89	.07	1 q
Eficacia relativa (w)	.0449 (1-S ₁)	1.00	.0786 (1-S ₂)	
Contrib a la prox. Generacion	.008 $p^2(1-S_1)$	.89 $2pq$	.0055 $q^2(1-S_2)$	$\bar{w} = 1 - S_1p^2 - S_2q^2 = .8974$
Frec. Normalizada	0.002	.9917	0.006	.9998
Cambio en la frecuencia Alélica.				$p_1 = \frac{p - S_2p^2}{1 - S_1p^2 - S_2q^2}$ = .4978
				$\Delta q = \frac{(S_1 + S_2)(p - \hat{p})(pq)}{1 - S_1p^2 - S_2q^2}$.0031

TABLA 2. Tabla de los cambios en la frecuencia alélica después de una generación de selección cuando existe sobredominancia.

Si esta condición se presentara, en la población estudiada, el cambio en la frecuencia alélica debido a la selección (Ayala y Kiger, 1984) sería:

$$\Delta q = pq (s_1 p - s_2 q) / (1 - s_1 p^2 - s_2 q^2) \quad (1.1)$$

La condición de equilibrio, $\Delta q = 0$, será satisfecha solo cuando el numerador sea 0.0. Pero si ambos alelos están presentes en la población (p y $q > 0$), esto solo ocurrirá cuando:

$$s_1 p = s_2 q \quad (1.2)$$

de esta forma:

$$s_1 (1-q) = s_2 q \quad (1.3)$$

$$s_1 = q(s_2 + s_1) \quad (1.4)$$

el valor de q (en equilibrio) que llamaremos $\hat{q}$ se define como:

$$\hat{q} = s_1 / (s_1 + s_2) \quad (1.5)$$

Entonces el valor de la frecuencia del alelo "q" en el equilibrio es igual al coeficiente de selección contra p^2 dividido por la suma de los coeficientes de selección contra p^2 y q^2 . De manera correspondiente la frecuencia del alelo "p", que se indicará como $\hat{p}$ es:

$$\hat{p} = s_2 / (s_1 + s_2) \quad (1.6)$$

Estas dos frecuencias en equilibrio son estables, ya que la selección cambiará las dos frecuencias alélicas hasta

que los valores del equilibrio sean alcanzados:

Si $s_1 = .9551$ y $s_2 = .9214$, (Tabla 2.) tenemos que

$$\hat{q} = .5089$$

$$\hat{p} = .4911$$

La curva de la figura 3 representa el sentido del cambio esperado de las frecuencias génicas, en la población estudiada, si la selección favorece a los heterocigotos y los coeficientes de selección permanecen constantes, desde el caso en el cual $q = 0$ ($p = 1$), hasta $q = 1$ ($p = 0$), obtenidos a partir de la ecuación $Aq = pq(s_1p - s_2q)/\bar{w}$ (Ayala y Kigger, 1984), donde $\bar{w} = 1 - s_1p^2 - s_2q^2$ y es la eficacia promedio de la población en el locus estudiado. El cambio de p está dado por la expresión $Ap = -(s_1 + s_2)(p - \hat{p})(pq)/\bar{w}$ (Kimura, 1984) si p es mayor que su valor de equilibrio ($\hat{p}$), esto es, si $p > s_2/(s_1 + s_2)$, entonces $s_1p > s_2q$, luego Ap será negativo (Fig. 3). Consecuentemente, q se incrementará a expensas de p hasta que $s_1p = s_2q$. Por otro lado si $p < s_2/(s_1 + s_2)$, entonces $s_1p < s_2q$ y Aq será negativo, decreciendo el valor de q hasta que sea alcanzada la frecuencia de $\hat{q}$.

En la sobredominancia el valor de las frecuencias en equilibrio depende de las magnitudes relativas de los dos coeficientes de selección, no de sus valores reales.

Entonces en base al conocimiento de p y q sólo es

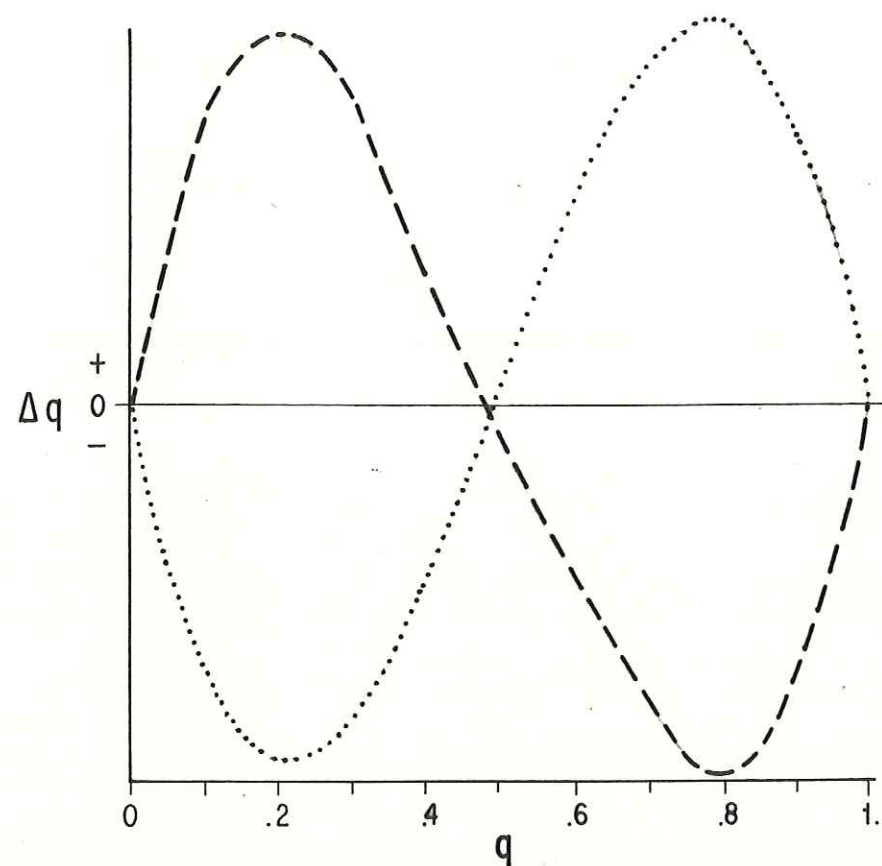


FIG.3. Gráfica de el cambio en las frecuencias alélicas cuando la selección favorece a los heterocigotos. (---) Δq ; (.....) Δp .

posible determinar las magnitudes relativas de s_1 y s_2 , si al grupo de heterocigotos se le otorga un coeficiente de selección igual a "0".

El valor del cambio de "p" en la próxima generación, que se indicará como " p_1 " así como la magnitud de su cambio en la tendencia al equilibrio para la población estudiada, puede ser calculado de acuerdo a lo indicado en la tabla 2.

De esta forma:

$$p_1 = .4978$$

$$\Delta p = .0031$$

Como $p_1 > \hat{p}$, se observa que la magnitud del cambio esperado rebasa a el equilibrio, necesitaría la población entonces menos de una generación para alcanzar el equilibrio. De acuerdo con Falconer (1982), puede estimarse el tiempo en generaciones (t), para que p llegue a $\hat{p}$, esto se calcula como:

$$t = (1/p_1) - (1/p_0) \quad (1.7)$$

$$\text{entonces } t = -0.025$$

Esto es consistente con el cálculo de las frecuencias alélicas observadas, y de acuerdo a lo antes planteado se

considera que las frecuencias génicas del locus de la proteína total en la población estudiada están en equilibrio, aunque este podría romperse si actuara alguna fuerza sistemática o dispersiva.

Los electroforegramas obtenidos en el presente estudio son comparativamente iguales a los reportados por Buroker y colaboradores (1975), y Buroker (1979a y b), no obstante que los métodos difieren en las características de alcalinidad de las soluciones amortiguadoras. En el estudio realizado en la población de Bahía San Quintín se utilizó un método discontinuo (Poulik, 1958) con un amortiguador para el gel a pH de 8.65 y 8.1 para la cámara, en los trabajos antes citados se utilizó una solución de pH de 8.3. En un estudio preliminar a este trabajo, bajo las condiciones citadas por Buroker y colaboradores (1975), no fue posible reproducir sus resultados.

Fujino y Nagaya (1977a), en el análisis de este locus mediante la utilización de matriz de almidón, amortiguador con un pH de 7.8 y una solución reveladora de negro amido, evidenciaron variabilidad en el locus más anódico y reportaron 3 fenotipos; en cuanto al locus menos anódico, detectaron que en éste, es factible evidenciar 4 bandas, aunque estas no exhibieron variabilidad. A partir de otro estudio preliminar en el que se intentó reproducir el

análisis de Fujino y Nagaya (1977a), tampoco fue posible lograr los resultados encontrados por los citados autores, esto pudo deberse a: la utilización de matriz de almidón diferente, la cantidad de proteína corrida, el grosor del gel.

Torigoe (1978) usó para el análisis del locus de la proteína muscular una matriz de poliacrilamida con un pH de 8.2 a 8.4 y reportó 14 bandas. En dicho trabajo se detectó polimorfismo en la porción central del electroforegrama debido a la presencia de dos bandas variables, cuya combinación produce tres fenotipos, y señala que este sistema polimórfico no es equivalente al sistema reportado por Fujino y Nagaya, (1977a), ya que éste presenta otras proteínas con comportamiento electroforético diferente, sin embargo se remarca que estas podrían tener relación.

Es importante indicar que en las técnicas usadas para el estudio del locus, se han utilizado soluciones para tinción general de proteínas, ignorando las funciones y propiedades bioquímicas de éstas. Debido a su comportamiento electroforético puede pensarse que se trata de proteínas con carga neta negativa a pH de 8.

Los panseleccionistas han intentado asociar la alta frecuencia de los heterocigotos en las poblaciones como un

evidencia de su eficacia biológica, y ver esto como una estrategia para el mantenimiento de la variabilidad genética (Kimura, 1984). Bajo este criterio Berger (1976), propone un esquema molecular de acuerdo al cual, un locus heterocigótico contribuye más a la fuente de energía que es utilizada como combustible en funciones anabólicas que cuando este locus se encuentra en estado homocigótico. Fincham (1972) sugiere que en un medio con condiciones menos favorables para los organismos, aquellos que poseen sistemas enzimáticos no eficaces, o menos controlados pueden tener una oportunidad de la combinación heterótica de alelos codominantes, pueden conferir una ventaja selectiva. Propone que en la primera forma el nuevo alelo en combinación con el antiguo, producen una cantidad enzimática cercana al óptimo en el ambiente prevaleciente, en tal caso el efecto es puramente cuantitativo y opera sin distinción de la proteína producto del heterocigoto; la otra alternativa es la posibilidad de que la interacción del alelo antiguo y el nuevo, se pudiera producir una enzima cualitativamente distinta, con propiedades ventajosas únicas.

La heterocigosis encontrada en el locus analizado fue del 87%, este resultado es diferente del valor esperado para los invertebrados, cuya estimación promedio es del 15 y 13% (Selander y Kauffman, 1973; Ayala, 1983).

Los distintos estudios del locus de la proteína muscular en Crassostrea gigas han revelado, no obstante que el polimorfismo detectado es único para la especie y destacan que es la excepción y no la regla para 11 loci polimórficos, ya que se ha detectado una heterocigosis del locus en poblaciones naturales del orden del 53% (Buroker, 1977b), 57% (Fujino y Nagaya, 1977a), 53% (Torigoe e Inaba, 1975), de 47 y 50% en poblaciones cultivadas en Washington (Buroker et. al., 1975; Buroker, 1979b) y del 49% en Japón (Fujino y Nagaya, 1977a).

Los reportes de heterocigosidad similares a las encontradas en Bahía San Quintín no son abundantes en la literatura, sin embargo existen estudios en Crassostrea gigas realizados en poblaciones cultivadas que han evidenciado en el locus de la enzima catalasa heterocigosis del orden del 84% (Fujio, 1979).

Buroker (1979b), propuso que el polimorfismo en el locus de la proteína total es mantenido por sobredominancia; tal hipótesis se fundamenta en el estudio de la eficacia relativa de los tres genotipos en poblaciones naturales con gradientes de temperatura en Japón (Buroker, 1979 a) y en poblaciones cultivadas de Washington (Buroker, 1979 b), donde aparentemente se evidenció una ventaja selectiva de los alelos 100 o 105, favorecidos por ciertas condiciones de

temperatura. El sugiere que existe una clina de temperatura en Japón evidenciable en varios loci, entre estos, el Mp-1, pero al revisarse su información, se detectó que sitios con temperaturas similares, como son Hiroshima y Kumamoto, presentan frecuencias en el alelo 105 totalmente diferentes (Hiroshima 0.276 y Kumamoto 1.0) en tanto que en Miyagi, que presenta temperatura distinta en los dos sitios anteriores, la frecuencia es de 0.693.

Las diversas condiciones que producen un equilibrio genético son hoy bien entendidas desde el punto de vista matemático (Fisher, 1922; Kimura, 1956; Haldane, 1962). El entendimiento teórico tiene un gran apoyo en el conocimiento de este campo y es difícil, no obstante, aseverar que tan adecuadamente representan los modelos matemáticos a la situación real de las poblaciones (White, 1973).

Wills (1981) y Falconer (1982), señalan que la observación de un exceso de heterocigotos en un locus en una generación, pudiera ser un hecho desvirtuado si para tal observación se analizan solo los genotipos de los adultos, y no se analizan sus diferencias de fertilidad.

Tal fenómeno pudiera explicarse más ampliamente en los siguientes términos. Si los progenitores difieren en su fertilidad, entonces la contribución relativa de gametos por

los distintos genotipos sería diferencial, de tal manera que al efectuarse el cruce al azar, la probabilidad de producción para ciertos genotipos sería mas factible. En base a esta observación, y de manera convencional se ha ostentado que la apreciación de las viabilidades relativas de los genotipos, pueden ser deducidas de sus desviaciones partiendo de sus frecuencias esperadas, y particularmente ver el exceso de los heterocigotos como una evidencia de su ventaja. Sin embargo esta no es una deducción válida por la siguiente razón:

Las frecuencias esperadas son calculadas a partir de las frecuencias observadas y estas constituyen expectativas basadas en la suposición de que las frecuencias genotípicas en los cigotos son las mismas que las observadas en los adultos. Esta suposición puede no ser correcta y las frecuencias esperadas podrían, por lo tanto, estar mal calculadas.

La consecuencia de calcular mal las frecuencias esperadas pueden producir un aparente exceso de heterocigotos y este ser el resultado de la selección actuando sobre solo un homocigoto (i. e., de un gene que es completamente recesivo con respecto a la eficacia biológica).

La única situación en la cual puede inferirse un exceso de heterocigotos es cuando la población está en equilibrio, las frecuencias genicas no cambian y cuando no existen diferencias de fertilidad entre los progenitores, solamente entonces la frecuencia génica de los cigotos y adultos serán iguales (condiciones que aun no han sido estudiadas en la población).

Por otra parte, algunos autores han considerado que el exceso aparente de heterocigotos, puede ser explicado de acuerdo con otros mecanismos, entre ellos están los siguientes:

A) La fase de desequilibrio gamético: Es posible que el gen estudiado no otorge directamente al organismo portador una mayor eficacia biológica, sin embargo este gen puede estar encadenado con otro en la misma condición de estado alélico, confiriéndole al portador una ventaja selectiva, ambos pudieran conformar parte de lo que se ha denominado "Supergen", el cual tiene un comportamiento de segregación a manera de bloque o paquete (Ford, 1975)

B) Selección Cíclica: Si la selección es alterna, esto es,

en el caso de un ambiente con fluctuación drástica, siempre y cuando la selección actuara en contra de un homocigoto primero y después en contra del otro; esto desviaría a las frecuencias genotípicas de el equilibrio, favoreciendo el incremento de los heterocigotos. Esta situación pudiera presentarse en Bahía San Quintín, ya que los organismos suspendidos en las artes de cultivo denominadas "sartas", experimentan temperaturas templadas en mareas altas, debidas al medio acuoso donde se encuentran inmersos, y en marea baja durante el día, los organismos están expuestos a la desecación por el viento, experimentando hipoxia por un lado y un incremento considerable de la temperatura del medio por el otro.

C) Estratificación de la población: Robertson (1965, citado por Manuelli y Baker, 1970) propone que en una población puede generarse un exceso de heterocigotos sin una ventaja implícita en su eficacia biológica. Esto puede generarse cuando entre sexos existe una diferencia entre las frecuencias génicas (v.g. considerando el caso extremo en que todos los machos fueran 100/100 y , todas la hembras sean 105/105, obviamente toda la descendencia sería entonces 100/105). Esto también ha sido argumentado para

explicar el exceso de heterocigotos en el locus Aat-2 de salmónidos cultivados (Stahl, 1982). En el caso de la población de ostiones de Bahía San Quintín, esto desde luego es poco probable que ocurriera, ya que se emplean 200 o mas organismos por desove.

D) Tamaño de la muestra: Si el numero de organismos estudiados es pequeño, la desviación inherente al error de muestreo puede presentarse (Wright, 1938). En el presente estudio se analizaron 100 organismos, esta cantidad representa un numero adecuado de organismos para el objetivo perseguido.

VIII. CONCLUSIONES.

- 1.- El locus de la proteína muscular (Mp-1) de la población cultivada de ostiones Crassostrea gigas de Bahía San Quintín, se encontró en estado polimórfico.
- 2.- Se evidenció una heterocigosidad del 69% en la población de ostiones, dicha magnitud representa el valor más alto reportado en la literatura para este locus.
- 3.- Las frecuencias genotípicas observadas no se encontraron en equilibrio Hardy-Weinberg.
- 4.- Los valores de las frecuencias génicas se adecuaron a un modelo de sobredominancia.

IX. RECOMENDACIONES.

Dentro de las principales metas hacia las cuales los grandes países ostricultores han encaminado sus esfuerzos para promover un incremento sostenido en la producción, ya sea en su aspecto cuantitativo o cualitativo, se encuentran la alta sobrevivencia larval y la disposición y mantenimiento de sementales con razgos de valor adaptativo e interés comercial (Mahon, 1983).

Para lograr dichos fines, es necesario obtener datos de variabilidad genética poblacional ya que los razgos fisiológicos que constituyen a los fenotipos y su relación con el medio, dependen fuertemente de la estructura genética de dicha población (Gaffney y Scott, 1984).

A partir del hecho de la presencia de variabilidad en el locus analizado, la teoría de la genética poblacional, en el caso de la aplicación de modelos de selección actuando sobre un gen, puede brindar datos de situaciones de interés para el acuicultor, esta podría ser la condición de la determinación de la carga genética, mas particularmente de la carga segregacional, situación que para Buroker (1979a),

implica una muerte genética.

La carga genética como una medida de la intensidad de selección genotípica fué definida por Crow (1958), como la fracción mediante la cual la eficacia biológica de una población es reducida en comparación al genotipo óptimo. En símbolos esto se expresa como:

$$L = w_{op} - \bar{w} / \bar{w} \quad (2.1)$$

Donde $\bar{w}$ es la eficacia promedio de la población y w_{op} es la eficacia del genotipo óptimo.

A la carga que se produce cuando el genotipo óptimo no es fijable se le denomina carga segregacional (Wills, 1981; Kimura, 1984). Asumiendo panmixia en la población estudiada, situación que no necesariamente se presenta, ya que durante el proceso de producción de larvas, se eligen los organismos progenitores que posean rasgos de interés comercial. Suponiendo además que un par de alelos se segregan con una frecuencia p y q , considerando a su vez que $1 - s_1$, 1 y $1 - s_2$ (Tabla 2) respectivamente sean las eficacias relativas de los genotipos 100/100, 100/105 y 105/105. Si s_1 y s_2 son los coeficientes de selección contra ambos

homocigotos (100/100 y 105/105) y se mantienen constantes; dado que se mostro (ver 1.6) que $\hat{p} = s_1 / (s_1 + s_2)$ y que es estable si $s_1 > 0$ y $s_2 > 0$. Entonces sustituyendo en (2.1) y notando que $w_{op} = 1$, obtenemos que la carga segregacional es:

$$L_s = s_1 s_2 / (s_1 + s_2) \quad (2.2)$$

$$L_s = .4669$$

cuando

$$s_1 = .9551 \text{ y } s_2 = .9214$$

Esto significa que de cada 100 organismos producidos por generación en la población estudiada de ostiones Crassostrea gigas, aproximadamente 47 tendrán muerte genética. De acuerdo con este modelo, el costo sería demasiado elevado para la población, como pago por el mantenimiento de sólo este locus polimórfico.

La carga segregacional estimada, no necesariamente indica que esta se esté presentando en el cultivo de Bahía San Quintín. Sin embargo sería de utilidad investigar a fondo este aspecto, ya que se podría manejar, por ejemplo en el caso de que se presentara la selección en contra de los homocigotos, entonces se recomendaría que se evitaran los cruces entre homocigotos iguales (100/100 X 100/100 ó 105/105 X 105/105) y que se favorecieran los cruces 100/100 X 105/105.

Mediante un análisis puntual de la población en el tiempo, es difícil precisar el proceso fundamental que pudiera establecer el exceso de heterocigotos; para tener una idea más definida y precisa de las condiciones que originaron dicha situación, puede sugerirse:

a) La determinación de los genotipos de los progenitores.

b) Un estudio de fertilidad.

c) Hacer un seguimiento del locus en el tiempo.

d) Realizar un análisis de otros loci, así como los fenómenos de ligamiento.

e) Hacer estudios del locus en otras localidades.

X. ANEXO.

- 1.- De el tejido de músculo aductor fué elegida la porción blanca, ya que esta presenta una mayor facilidad para su homogenización y, dado que no varió su patrón electroforético, que fué similar al de la porción semitransparente y/o musculo entero.
- 2.- Se determinó que una solución que contiene de 200 a 300 μ gr de proteína en un mililitro es suficiente para ser evidenciada en el electroforegrama para un gel de 0.5cm de espesor, agregando 150 μ l de muestra.
- 3.- Se utilizó un peine de acrílico para hacer en el gel compartimientos, donde posteriormente se dispuso la muestra. Al iniciar el corrimiento cuando la muestra se integre en la matriz del gel, deberá agregarse un volumen igual de el amortiguador de la cámara en el compartimiento de la muestra.
- 4.- El gel se cubrió con plástico auto-adherente (Wrap plastic) y sobre éste se puso hielo dentro de una bolsa de plástico con objeto de mantener baja la temperatura del gel.

- 5.- Gel de corrimiento: Almidón de papa hidrolizado (Sigma).
- 6.- Amortiguador del gel: Una solución que contenga Tris 0.076 M - ácido cítrico 0.005M, ajustando a un pH de 8.65.
- 7.- Amortiguador de la cámara: Una solución que contenga ácido bórico .3M - hidróxido de sodio 0.05M, ajustando a un pH de 8.1.
- 8.- La lectura y registro de los electroforegramas se hizo bajo los siguientes criterios:
 - a) Se observaron los geles a trasluz roja.
 - b) La muestra sin alelos definidos se volvió a correr.
 - c) Si la muestra no presentó patrones definidos no fueron registrados y se utilizó otra muestra en su lugar.
- 9.- El agua utilizada para el presente estudio fué desionizada en un aparato Sybron/Barnstead con cartucho 24823-007.

XI. LITERATURA CITADA.

- Allen, S. K. Jr. 1986. Genetic manipulations. EIFAC/FAO. Symposium on selection, hybridization and genetic engineering in aquaculture of fish and shellfish for consumption and stocking. Bourdeaux (France). 38pp.
- Alvarez-Borrego. J. 1981. Variabilidad especial y temporal de temperatura en dos lagunas costeras. Tesis profesional. Esc. Sup. C. Marinas. U.A.B.C.
- Alvarez-Borrego. S., G. Ballesteros-Grijalva. y A. Chee-Barragón. 1975. Estudio de algunas variables fisicoquímicas superficiales de Bahía San Quintín, en verano, otoño e invierno. Ciencias Marinas. 2 : 1-9.
- Ayise, J. C. 1975. Systematic value of electrophoretic data. Syst. Zool. 23 : 465-481.
- Ayala, F. J. 1983. Genetic polymorphism: from electrophoresis to DNA sequences. Experientia. 39: 813-822.
- Ayala, F. J., y J. A. Kiger Jr. 1984. Modern Genetics. Benjamin-Cummings press. 2a. Edición. U.S.A. 923 pp.
- Barnard, L. 1964. Marine Amphipoda of Bahia San Quintin. B. C. Pacific Naturalist. 4 : 55-139.
- Berger, E. 1976. Heterosis and the maintenance of enzyme polymorphism. The American Naturalist. 975: 823-839.
- Buroker, M. E. 1979a. Population genetics of the family Ostreidae. Mar. Biol. 54 : 154-159.
- Buroker, M.E. 1979b. Overdominance in muscle protein (Mp-1) locus in the japanese oyster Crassostrea gigas (Ostreidae). J. Fish. Res. Board. Can. 36 : 1313-1319.
- Buroker, M. E., W. K. Hershberger y K. K. Chew. 1975. Genetic variation in the pacific oyster, Crassostrea gigas. J. Fish. Res. Board. Can. 32: 2471-2477.
- Carrillo. S. C. 1985. Variación estacional del contenido de materia orgánica en sedimentos y biodepositación en Bahía San Quintín, B. C. México. Tesis Profesional. Ciencias Marinas. Ensenada. 55pp.
- Cavalli-Sforza, L. L. 1969. Genetic drift in an Italian population. Scientific American. 221 : 30-37.

- Crow, F. J. 1958. Some possibilities for measuring selection intensities in man. *Human Biology*. 30:1-13.
- Chavez-De Nishikawa, M., y S. Alvarez-Borrego. 1974. Hidrología de la Bahía de San Quintín, B. C., en invierno y primavera. *Ciencias Marinas*. 2: 31-62.
- De Garay, A. L. 1978. Genética de la evolución. U. N. A. M. Mexico. 247pp.
- De la Rosa-Vélez, J. 1986. Variabilidad genética poblacional en ostiones de la especie Crassostrea virginica del Golfo de México. Tesis Doctoral. Colegio de Ciencias y Humanidades. U.N.A.M. 124 pp.
- Dobzhanski, T., F. J. Ayala., G. L. Stebbins., y J. W. Valentine. 1977. Evolution. Freeman. San Francisco.
- Falconer, D. S. 1982. Introduction to quantitative genetics. Oliver and Boyd. 2a. Ed. Edinburg. 430pp.
- Farfán, B. C., y S. Alvarez B. 1983. Variability and fluxes of nitrogen and organic carbon at the mouth of the coastal lagoon. *Est. Coast and Shelf Science*. 17:599-619.
- Fincham, J. 1972. Heterozygous advantage as a likely general basis for enzyme polymorphisms. *Heredity*. 28: 387-391.
- Fisher, R. A. 1922. On the dominance ratio. *Proc. Roy. Soc. Edinburg*. 42: 321-341.
- Fisher, R. A. 1930. The genetical theory of natural selection. Oxford Univ. Press. 2a. Ed. Dover Publications. 272 pp.
- Ford, E. B. 1975. Ecological genetics. 4a. Ed. Halsted press. New York. 422pp.
- Fujino, K. y N. Nagaya. 1977a. Biochemical polymorphism in the pacific oyster. I. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 43: 983-989.
- Fujino, K. y N. Nagaya. 1977b. Biochemical polymorphism in the pacific oyster. II. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 43: 1554-1560.
- Fujio, Y. 1982. A correlation of heterozygosity with growth rate in the pacific oyster, C. gigas. *Tohoku Jour. Agr. Res.* 33: 66-75.
- Fujio, Y., Y. Nakamura y M. Sugita. 1979. An overdominant genotype at Catalase locus. *Jap. J. Genet.* 54: 359-366.

- Caffney, P. M. y T. M. Scott. 1984. Genetic heterozygosity and production traits in natural and hatchery population of bivalves. *Aquaculture*. 42 : 289-302.
- Corsline, D. F. y R. A. Stewart. 1962. Benthic marine exploration of Bahia San Quintin, B. C., 1960-1961. Marine and quaternary geology. *Pacific Naturalist*. 2 : 939-944.
- Cotlieb, L. D. 1971. Gel electrophoresis: New approach to the study of evolution. *Bioscience*. 21: 283-319.
- Haldane, J. B. S. 1962. Conditions for stable polymorphism at an autosomal locus. *Nature*. 193: 1108.
- Harris, H. 1966. Enzyme polymorphism in man. *Proc. Roy. Soc. Ser. B*. 164 : 298-310.
- Hedgecock, D. 1977. Biochemical genetic markers for broodstock identification in aquaculture. 9th. Annual Meeting World Mariculture. Atlanta Ga. 523-531.
- Hershberger, W. K., J. A. Purdue. y H. Beatie. 1984. Genetic selection and systematic breeding in the pacific oyster. *Aquaculture*. 39 : 237-245.
- Hirase, S. 1930. On the clasification of the pacific oyster. *Jap. J. Zool.* 3: 1- 65.
- Hubby, J. L. 1963. Protein differences in *Drosophila*. I. *Genetics*. 54 : 577-594.
- Imai, T. 1982. Evolution of oyster culture. En Aquaculture in shallow seas. Pauls Press. India. 425pp.
- Islas-Olivares, R. 1975. El ostion japonés Crassostrea gigas en Baja California. *Ciencias Marinas*. 2 : 58-59.
- Iversen, S. E. 1968. Farming the edge of the sea. Garden City Press. London. 290 pp.
- Kinura, M. 1956. Rules for testing stability of a selective polymorphism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 42: 336-340.
- Kinura, M. 1984. The neutral theory of molecular evolution. Cambridge Univ. Press. England. 367 pp.
- Kinura, M., y T. Ohta. 1971. Theoretical aspects of population genetics. Princeton Univ. Press. N. J. 219pp.
- King, R. C., y W. D. Stanfield. 1985. A dictionary of genetics.

3a. Ed. Oxford Univ. Press. New York. 480pp.

- Lannan, J. E. 1980a. Broodstock management of Crassostrea gigas. I. Aquaculture. 21 :323-336
- Lannan, J. E. 1980b. Broodstock management of Crassostrea gigas. III. Aquaculture. 21:347-351.
- Lannan, J. E. 1980c. Broodstock management of Crassostrea gigas. IV. Aquaculture. 21:353-356
- Lannan, J. E., A. Robinson y W. P. Breese. 1980. Broodstock management of Crassostrea gigas. II. Aquaculture. 21 : 337-345.
- Lara-Lara, R., y S. Alvarez-Borrego. 1975. Ciclo anual de clorofilas y productividad orgánica primaria en Bahía San Quintín, B. C. Ciencias Marinas. 2: 77-98.
- Leuontin, R. C., y J. H. Hubby. 1966. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Genetics. 54:577-594.
- Longwell, A. 1976. Review of genetic and related studies on commercial oysters and other pelecypod mollusks. J. Fish. Res. Board. Can. 33: 1100-1107.
- Loosanoff, V. y C. A. Nomejko. 1951. Existence of physiologically different races of oysters. Crassostrea virginica. Biol. Bull. 47:82-94.
- Loury, O. H., M. J., Rosenbrought., A. L. Farr y R. J. Randall. 1951. Protein measurement with phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- Mahon, C. A. 1983. Selection goals in oyster breeding. Aquaculture. 33: 141-148.
- Mann, R. 1979. Exotic species in mariculture. The Massachusetts Institute of Technology. U. S. A. 363 pp.
- Manwell, C. y A. Baker. 1970. Molecular biology and the origin of species Univ. Wash. Press. Seattle Wash. 394pp.
- Menzel, R. 1968. Chromosome number in nine families of marine pelecypod mollusks. Nautilus. 82:45-58.
- Milne, P. H. 1972. Farming the edge of the coastal waters. The White Friars Press. U.S.A. 236 pp
- Monreal, C. A. 1980. Aplicaciones de un modelo de dispersión en

- Bahía San Quintín, B. C. Tesis de Maestría. C.I.C.E.S.E. Ensenada, B. C. 88 pp.
- Newkirk, C. 1960. Review of the genetics and the potential for selective breeding of commercially important bivalves. *Aquaculture*. 19:209-228.
- Nei, T. 1975. Molecular population genetics and evolution. Neuberger and Tatum Ed. North Holland Publ. Co. U. S. A. 288 pp.
- Nishikawa, K. A. 1978. Trace elements in oyster biodeposits. Tesis de maestría. Oregon St. Univ. 93pp.
- Numachi, K. 1959. Serological studies on relationship among oysters of different genus, species and races. *Tohoku. J. Agr. Res. Jap.* 10:313-319.
- Numachi, K. 1962. Serological studies of species and races in oysters. *Am. Nat.* 66:211-217.
- Poulik, M. D. 1957. Starch gel electrophoresis in a discontinuous systems of buffers. *Nature*. 180 : 1477-1479.
- Savage, M. J. 1979. Evolución. Compañía Editorial Continental. 178pp.
- Selander, K. R. y D. W. Kauffman. 1973. Genetic variability and strategies of adaptation in animals. *Proc. Natnl. Acad. Sci.* 70:1875-1877.
- Stahl, C. 1982. Differences in the amount and distribution of genetic variation between natural population and hatchery stocks of atlantic salmon. *Aquaculture*. 33 : 23-32.
- Stauber, L. 1950. The problem of physiological species with special reference to oysters and oyster drills. *Ecology*. 31:109-120.
- Torigoe, K. 1978. Electrophoretic variants of adductor muscle proteins. *VENUS*. 37: 241-244.
- Torigoe, K. y A. Inaba. 1975. Electrophoretic studies on some oysters. *VENUS*. 33: 177-183.
- Villarreal, G. 1987. Comunicación personal.
- White, M. J. D. 1973. Animal cytology and evolution. 3a. Ed. Cambridge Univ. Press. Londres. 961pp.
- Wills, C. 1981. Genetic variability Clarendon press. Oxford.

312 pp.

Wright, S. 1938. Size of population and breeding structure in relation to evolution. Science. 87 : 430-431.

Zouros, E., S. M. Singh y H. E. Miles. 1980. Growth rate in oysters. An overdominant phenotype and its possible explanations. Evolution. 34: 856-867.