CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTIFICA Y DE EDUCACION SUPERIOR

DE ENSENADA

DIVISION DE OCEANOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ACUICULTURA

Análisis genético de *Haliotis rufescens* en "Abulones Cultivados S.A. de C.V.".

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS presenta:

BIOL. ANA LIVIA LICONA CHAVEZ

Ensenada, Baja California, noviembre de 1999.

DEDICATORIA

A mis padres, quienes siempre apoyan y respetan mis decisiones, y gracias a su constante superación han hecho de mí lo que soy hasta ahora.

A mi pequeña Zyanya, lo mas hermoso que me ha pasado en la vida, y a quien debo esas ganas de enfrentarme ante todo con seguridad y amor.

A Alberto, quien cree en mi y me apoya para alcanzar nuestras metas, pero sobre todo, por su amor.

A mis hermanos y sobrinos, porque luchan para ser mejores cada día.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, Dr. Miguel Angel del Río Portilla, por sus enseñanzas, dedicación, confianza y comprensión, sin las cuales no hubiera podido conocer y concluir con éxito esta etapa tan importante de mi vida.

Al Dr. Jorge de la Rosa Vélez, por sus valiosas aportaciones, las cuales me permiten recordar que entre más conocimientos se tienen, más sencillez se debe mostrar en este campo de la investigación.

Al Dr. Francisco Correa Sandoval, por sus sugerencias, dedicación y por darme la oportunidad de continuar en este campo.

A la Dra Diana Tentori Santacruz, por darme otro punto de vista de la ciencia.

A mis profesores durante la Maestría: M. C. Benjamín Barón Sevilla, Dra. Beatriz Cordero Esquivel, Dra. Pilar Sánchez Saavedra, Dr. Jorge Cáceres Martínez y especialmente al Dr. Fernando Díaz Herrera, a quienes agradezco infinitamente el haber contribuído a mi formación profesional y a quienes reitero mi admiración y respeto.

A mis amigas, Miriam Liz Gracida V., Diana E. Rodríguez C., Velia Morales P., Claudia Montalvo P., Juanita Sánchez F., Adriana Guzmán E., Ruth Pérez y Haydee Olavide O. (qepd) por sus consejos y cariño.

Especialmente a la Familia Guzmán Espinosa, por su valiosa ayuda, apoyo, comprensión, y cariño, sin los cuales no hubiera podido superar los grandes obstáculos.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca-crédito y por apoyar el esfuerzo de miles de jóvenes que queremos hacer de este país un lugar digno para nuestros hijos.

RESUMEN de la Tesis de la Biól. Ana Livia Licona Chávez presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS con especialidad en ACUICULTURA. Ensenada, Baja California, México. Octubre de 1999.

Análisis genético de *Haliotis rufescens* en Abulones Cultivados S.A. de C.V.

Resumen aprobado por:

Dr. Miguel A. del Río Portilla

El abulón rojo *Haliotis rufescens* es una de las especies que se ha podido cultivar y comercializar con éxito en Estados Unidos de América y en México. En la actualidad se han realizado pocos estudios a nivel genético y morfométrico con esta especie, por lo que el presente trabajo incrementa el conocimiento en estas áreas y su aplicación en el cultivo.

Con el fin de tener una visión general de las características genéticas de *H. rufescens* cultivado por la Empresa "Abulones Cultivados S. A de C. V.", se muestrearon 5 lotes, con un total de 298 abulones procedentes del área de engorda, ubicado en las Islas de Todos Santos, B. C. (longitud de la concha entre 1.6-9.5 cm) y 2 lotes, con un total de 416 abulones del Laboratorio de Producción de semilla, ubicado en el Ejido Eréndira, B. C. (longitud de la concha entre 0.49-1.42 cm) los cuales estaban separados en grupos de 6, 8 y 10 mm.

Se analizaron las medidas morfométricas y los resultados revelaron un crecimiento de tipo alométrico negativo (alto-largo y peso de la concha-largo) e isométrico (ancho-largo, peso total-largo y peso desconchado-largo) que coincide con lo reportado para organismos en crecimiento: inicialmente incrementan en talla y posteriormente en masa corporal. Las ecuaciones obtenidas se pueden aplicar para determinar la cantidad de alimento que se va a proporcionar y como comparación para constatar si los organismos se han alimentado adecuadamente.

Por medio de la electroforesis de alozimas se analizó la variabilidad genética de los 7 lotes muestreados. De 32 sistemas enzimáticos ensayados, 12 produjeron resultados positivos correspondientes a 13 loci, de los cuales tres fueron monomórficos (*Idh, Mdh-1* y *Ldh*). De 74 análisis, 25 casos presentaron deficiencia de heterocigotos, mientras que en 43 casos se observó exceso de heterocigotos. Del total de análisis, solamente 2 loci mostraron desviación significativa del Modelo de Hardy-Weinberg debido a un exceso de heterocigotos y solamente 1 locus se desvió del modelo debido a una deficiencia de heterocigotos. A pesar de que en los lotes de Eréndira hubo tendencia a la deficiencia de heterocigotos, ésta no fue significativa. La heterocigosidad esperada (He) tuvo valores superiores a los reportados para abulón rojo cultivado en California. En ambos lotes de Eréndira, la He fue menor en el grupo de 6 mm que en el de 8 y 10 mm, lo que podría

sugerir un efecto de heterosis. Sin embargo, al correlacionar la heterocigosidad y la talla sólo se encontraron resultados positivos en el análisis global del lote J, en el cual el tamaño efectivo de la población (Ne) fue de 51.4, este hecho coincide con la literatura en que existe una correlación entre heterocigosidad-talla cuando el Ne>40.

De manera general, se puede considerar que los lotes analizados están cercanos al equilibrio de Hardy-Weinberg, pero si se desea sostener elevado el grado de heterocigosidad en abulón cultivado, se debe mantener el número de reproductores por arriba de 40 en futuros desoves, así como abastecerse de reproductores de diferente origen geográfico y grado de hetorocigosidad alto.

Palabras clave: abulón, alozimas, genética, *Haliotis rufescens*.

ABSTRACT.

"Genetic analysis of *Haliotis rufescens* in "Abulones Cultivados S. A. de C. V.".

Ana Livia Licona Chávez.

The red abalone *Haliotis rufescens* has been succesfully cultivated and marketed in the United States of America and in México. At present, few studies on genetic and morphometry have been carried out with this species, therefore the present work aims to increase the knowledge in these areas and its aplication in abalone aquaculture.

A total of 714 abalones from "Abulones Cultivados S. A.de C. V." marine and inland facilities were morphometricaly and geneticaly analysed. The cultured population was analizad with 5 batches from the marine facilities in the Islas de Todos Santos, B. C. (298 abalones, mean shell length 1.6-9.5 cm) and two batches from the inland facilities (416 abalones, mean shell length 0.49-1.42 cm) localized in the Ejido Eréndira, B. C. The two inland facilities were divides in 6, 8 and 10 mm groups and analized separately.

The morphometry analyses showed a negative alometry growth (height-length and shell weight-length) and isometric growth (width-length, total weight-length and unshell weight-length), these relationships agreed with the reported for growing organisms: an initial increment in length and then an increment in body weight. The obtained equations can be used to determine the quantity food ratio or as a comparison to verify whether the organisms have been properly feed.

The genetic variability of the 7 abalone batches were analized with allozymes electrophoresis. Twelve out of 32 allozymes systems tested produced positive results corresponding at 13 loci, of which three were monomorphic (*Idh, Mdh-1* and *Ldh*). Twenty five out of 74 cases, showed heterozygote deficiency, while in 43 cases there was a heterozygote excess. From all analyses, only 2 loci showed deviation from Hardy-Weinberg Equilibrium (HW) due to an heterozygotes excess and only 1 locus showed deviation of the (HW) due to a heterozygotes deficiency. In the batches from Eréndira there was trend to the deficiency of heterozygotes, but it was not significant. The expected heterozygosity (He) had higher values in comparison with those reported for red abalone cultivated in California. In both batches from Eréndira, the He was smaller in the group of 6 mm that in that of 8 and 10 mm, suggesting an effect of heterosis.

The correlation beteween individual heterozigosity and size showed only were shown positive results in the total analysis of the batch J, in the one which the effective number of the population (Ne) was of 51.4, this fact coincides with the reported in which exists correlation between heterozygosity - size when the Ne> 40.

In general, it can be considered that the analyzed batches were close to the equilibrium, without either excess or deficiency of heterozygotes. If the goal in abalone aquaculture is to mantain a high degree of heterozygosity, it is recommended to spawn over 40 broodstock organisms (1:1 sex ratio) in future spawnings, and to use broodstocks from different geographic origin and high heterozigosity.

Key words: abalone, allozymes, genetics, *Haliotis rufescens*.

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCION.	1
I.1. Generalidades.	1
I.2. El abulón rojo.	2
I.2.1. Distribución del abulón rojo.	2
I.3. Pesquería y Cultivo de abulón en México.	3
I.4. Evaluación genética de un cultivo.	5
I.5. Antecedentes.	10
I.5.1. Estudios sobre la biología del abulón en México.	10
I.5.2. Estudios sobre genética de abulón.	11
II. OBJETIVO GENERAL.	13
II.1. Objetivos Particulares.	13
III. MATERIALES Y METODOS.	14
III.1. Origen de los organismos.	14
III.2. Muestreo.	14
III.3. Electroforesis en gel de almidón.	16
III.4. Revelado de alozimas.	19
III.5. Procesamiento de los datos.	20
IV. RESULTADOS.	23
IV.1. Análisis Morfométrico.	23
IV.2. Análisis Genético.	28
IV.2.1 Frecuencias alélicas.	28
IV.2.1.1 Lotes de las Islas de Todos Santos.	29
IV.2.1.2 Lotes de Eréndira: J y K.	33
IV.2.2. Medidas de variabilidad genética.	36

CONTENIDO (continuación). Página

IV.2.3. Deficiencia de heterocigotos, Indice de Fijación y ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg 38
IV.2.3.1. Lotes de las Islas de Todos Santos. 38
IV.2.3.2. Lotes de Eréndira: J, K y análisis globales. 41

IV.3. Heterocigosidad individual y Relación heterocigosidad-talla. 43
IV.3.1 Relación genotipos-talla. 47

V. DISCUSION. 49

V.1 Análisis Morfométrico. 49

V.2. Análisis Genético. 53
V.2.1. Utilización de la Técnica. 53
V.2.2. Frecuencias alélicas. 54
V.2.3. Medidas de variabilidad genética. 57
V.2.4. Deficiencia de heterocigotos, Indice de Fijación y ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg. 60
V.2.5. Relación heterocigosidad-talla y genotipos-talla. 63

VI. CONCLUSIONES. 69

VII. RECOMENDACIONES. 71

LITERATURA CITADA. 73

APENDICES. 84

APENDICE 1. 84

APENDICE 2. 96

APENDICE 3. 98

APENDICE 4. 103

APENDICE 5. 108

LISTA DE FIGURAS.

Página

1. Regresión lineal del peso total (g) contra el largo (cm) en los análisis globales de los lotes a) D al H y b) Global J y K8 de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V." 27

2. Regresión lineal de la heterocigosidad por conteo directo contra el largo (cm) en el análisis global del lote J de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V.". r^2=0.1413. 46

3. Regresión lineal de la heterocigosidad por conteo directo contra el peso total (g) en el análisis global del lote J de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V." r^2=0.1437. 46

LISTA DE TABLAS

		Página
I.	Diseño del muestreo en las Islas de Todos Santos.	14
II.	Sistemas enzimáticos que se probaron para abulón rojo *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V.".	17
III.	Promedios de las medidas morfométricas (mm, g). desviación estándar (d.e.) y parámetros de la regresión lineal de organismos de los lotes D, E, F, G y H de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."	25
IV.	Promedios de las medidas morfométricas (mm, g). desviación estándar (d.e.) y parámetros de la regresión lineal en los lotes J y K de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."	26
V.	Promedios de las medidas morfométricas (mm, g). desviación estándar (d.e.) y parámetros de la regresión lineal en los análisis globales de los lotes D al H, Global J y K8 de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."	26
VI.	Frecuencias alélicas de los lotes D, E, F, G y H de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."	31
VII.	Frecuencias alélicas de los lotes J, K y Global de cada lote de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."	34
VIII.	Medidas de variabilidad genética (error estándar entre paréntesis) de los lotes D, E, F, G y H de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."	36
IX.	Medidas de variabilidad genética (error estándar entre paréntesis) de los lotes J, K y Análisis Globales de estos lotes, de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."	37
X.	Coeficientes para la deficiencia o exceso de heterocigotos y valores de probabilidad para el ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg (HW) en los lotes D al H de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."	39

LISTA DE TABLAS (continuación)

Página

XI. Coeficientes para la deficiencia o exceso de heterocigotos y valores de probabilidad para el ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg (HW) en los lotes J y K de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V." 42

XII. Valores promedio de la heterocigosidad individual de los lotes D al K8 de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V." 44

XIII. Parámetros de la regresión lineal de la heterocigosidad individual por conteo directo contra la marca de clase del largo (mm) y valor de probabilidad de que la pendiente sea igual a cero, para los organismos de los lotes D, E, F, G, H, J y K de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

XIV. Parámetros de la regresión lineal de la heterocigosidad individual por conteo directo contra la marca de clase del peso total (g) y valor de probabilidad de que la pendiente sea igual a cero, para los organismos de los lotes D, E, F, G, H, J y K de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V." 45

XV. Genotipos y tallas promedio del largo (mm) y peso total (g) en el lote J10 de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V." 45

XVI. Comparación de los resultados obtenidos en diferentes loci para varias especies de abulón con los resultados de abulón rojo en el presente estudio. 56

ANALISIS GENETICO DE *Haliotis rufescens* EN "ABULONES CULTIVADOS S.A. DE C.V.".

I. INTRODUCCION.

I.1. Generalidades.

Los abulones son gasterópodos marinos cuya distribución abarca ambos hemisferios, contando con el mayor número de especies en las zonas templadas del Pacífico Centro-Sur y del Océano Indico, disminuyendo hacia las zonas tropicales y árticas, excepto en Sudamérica y Noreste de América (Hahn, 1989).

La mayoría de los abulones tienen sexos separados, aunque en *H. gigantea, H. tuberculata* y *H. fulgens* adicionalmente se han encontrado casos de hermafroditismo. En los machos maduros la gónada es de color blanco o marfil, mientras que en las hembras es de color verdoso y en ocasiones presentan variaciones desde el café hasta el azul (Fallu, 1991).

En la naturaleza, el desove se realiza de manera sincrónica cuando los organismos maduros perciben cambios favorables en el ambiente o la presencia de huevos o esperma en el medio (Fallu, 1991). Una vez que la fertilización ha ocurrido, se origina la larva trocófora (1 día), seguida de la veliger (4 a 15 días). Transcurrida una semana o más, dependiendo de la especie, las larvas se asientan y ocurre la metamorfosis. Posteriormente se forma el primer poro respiratorio y ya se pueden denominar como juveniles, los cuales tienen forma idéntica a la adulta. La fase juvenil finaliza aproximadamente a los 2 años de edad cuando empiezan a madurar sexualmente, dando lugar a la etapa de preadulto y a los 3

ó 4 años ya se consideran adultos (Fallu, 1991).

1.2. El abulón rojo.

El abulón rojo, *Haliotis rufescens*, Swainson 1822, alcanza longitudes de más de 27.5 cm y biomasas de hasta 1.7 kg. La concha exterior es de color gris rojizo ladrillo con el borde de la concha rojo, y posee tres o cuatro poros respiratorios abiertos. El interior de la concha es iridiscente con colores verde, rosa y cobre, tiene una gran cicatriz muscular que comúnmente tiene marcas verde oscuro (Cox, 1962). El cuerpo es negro, pero puede tener algunas rayas con bandas oscuras o claras en algunos individuos. El epipodio es ondulado con tentáculos que se extienden mas allá del borde de la concha (Hahn, 1989). El abulón rojo, en su etapa juvenil y adulta, se alimenta de macroalgas, principalmente de *Macrocystis* spp. y de *Nerocystis* spp.

1.2.1. Distribución del abulón rojo.

La mayor abundancia se presenta en zonas de oleaje activo, raramente habitan en bahías protegidas. Las mayores densidades se han encontrado desde la zona intermareal hasta los 20 ó 25 m con un rango térmico de entre 7 y 16° C (Hahn, 1989), aunque su temperatura preferida es de 18.8° C (Díaz *et al.*, 1999). La mayor talla que se ha reportado es de 31.2 cm en el Norte de California (Hahn, 1989).

Su distribución geográfica comprende desde Oregon, E. U. A. hasta Bahia Tortugas, B. C. S., México (Cox, 1962); sin embargo, Guzmán del Próo (1992) reportó una distribución más restringida para México, desde Islas Coronado hasta Punta Baja en Bahía del Rosario. Batimétricamente se distribuye desde la zona intermareal inferior hasta más de

180 m (Guzmán del Próo, 1994; Maeda-Martínez *et al.*, 1994). Debido a su elevado valor comercial, principalmente en el mercado internacional, los bancos naturales han sido sobreexplotados, lo cual ha sido evidente desde finales de los años 70 (Ramírez-Granados, 1992; Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1992).

I.3. Pesquería y Cultivo de abulón en México.

En 1992, Guzmán del Próo hizo una revisión de la situación de las pesquerías de abulón en Baja California y reportó el aporte de abulón rojo a la captura global en la Zona I (desde Ensenada hasta Rosaliita) correspondia a un 23% en 1965, 16% en 1969 y 27% en 1970, mientras que en la Zona III (Desde Punta Eugenia hasta Punta Prieta) se reportó el 12% en 1969. El abulón amarillo *(H. corrugata)* y el azul (*H. fulgens*) son los que sostienen la mayor parte de las pesquerías en Baja California. Otras especies de abulón que se distribuyen a lo largo de las costas de Baja California pero con menor importancia comercial son el negro *(H. cracherodii)* y el chino (*H. sorensenl*) (Guzmán del Próo, 1992; Maeda-Martínez *et al.*, 1994).

En años recientes ha surgido el interés en recuperar las poblaciones naturales mediante la construcción de laboratorios de producción de larvas y de engorda, donde se profundiza en el conocimiento acerca de su biología, repoblamiento y se desarrolla tecnología para su cultivo; adicionalmente, las Cooperativas de Pescadores participan en estas actividades en apoyo a la investigación (Ramírez-Granados, 1992; Maeda-Martínez *et al.*, 1994).

Guzmán del Próo (1992) menciona que los programas de cultivo, que iniciaron desde 1970, habían tenido como principal obstáculo para su desarrollo la baja

sobrevivencia de larvas y el asentamiento de juveniles. También afirma que la dirección de las investigaciones futuras se debe encaminar al conocimiento de los ciclos reproductivos, frecuencia e intensidad del desove y los factores que los afectan, identificación y clasificación de los bancos naturales, composición de las dietas de juveniles y adultos, así como las tasas de crecimiento; además de los depredadores y parásitos que pueden afectar a los bancos naturales.

Ramírez-Granados (1992) afirmó que el cultivo es una alternativa para recuperar los bancos abuloneros de Baja California, adecuando la tecnología proveniente de otros países (Japón, E.U.A., Francia y Australia) a las necesidades y a la realidad de México. Además mencionó que la investigación se debe orientar al repoblamiento de los bancos naturales y al desarrollo en cautiverio.

Actualmente el cultivo de abulón en México se está desarrollando por: el Laboratorio de Cultivo de abulón de la S.C.P.P. "Pescadores Nacionales de Abulón", el Laboratorio de Cultivo de Puerto Nuevo, B.C.S. de la S.C.P.P. Emancipación que pertenece a la Federación Regional de Sociedades Cooperativas de la Industria Pesquera (F.R.S.C.I.P.), por "Aqua Farming International" en el Ejido Eréndira, B. C., de iniciativa privada y por la Empresa también de iniciativa privada"Abulones Cultivados S. A. de C. V." ubicada en el Ejido Eréndira, B. C., siendo esta última donde se desarrolló el presente trabajo.

El cultivo comercial en "Abulones Cultivados" empezó en enero de 1993 con 500,000 semillas de abulón originario de Ab Lab Inc. y de Bodega Farms en California (Flores-Aguilar, R., "Abulones Cultivados", comunicación personal).

La corporación obtuvo una conseción en Eréndira, a 80 Km al Sur de Ensenada,

Baja California, para construir una granja y producir semilla, en donde la primera producción de larvas se obtuvo en diciembre de 1993.

Hasta principios de 1999 la Empresa, había estado conformada por dos sistemas de cultivo: I) La producción terrestre de juveniles ubicada en el Ejido Eréndira, que inicia con la inducción al desove de los organismos maduros y termina aproximadamente a los 4.5 meses de edad de la semilla, y II) La producción oceánica, que se transladó a Eréndira en enero de 1999, se ubicaba en las Islas de Todos Santos, B. C., en la cual se crecían los juveniles provenientes de Eréndira hasta la talla comercial (76 a 82 mm) en un periodo de entre 2.5 a 3.5 años (hasta alcanzar aproximadamente 100 g cada uno). En el presente trabajo, se hará referencia a estos dos sistemas de cultivo.

Los reproductores se tienen agrupados de acuerdo a su origen en: 1) Silvestres de Santa Bárbara California, 2) Cultivados de California, 3) Supercrecedores obtenidos dentro de la misma granja (cuyos padres son originarios de Santa Bárbara Ca.) y 4) Silvestres de la Isla de Cedros (abulón azul).

I.4. Evaluación genética de un cultivo.

En los cultivos comerciales, los organismos están sujetos a determinada selección artificial por varias características tales como la velocidad de crecimiento, el tamaño, la calidad y la cantidad de carne, etc., por lo que sería adecuado que la elección de los reproductores, además de basarse en características morfológicas y fisiológicas, considerara aspectos genéticos para tener mayor rendimiento en la producción.

La genética cuantitativa y la de poblaciones tiene importancia especial en Acuicultura, ya que se pueden mejorar directa o indirectamente los resultados mediante la

utilización de diferentes técnicas, por ejemplo, de manipulación de la ploidía, estudios y análisis de loci alozímicos (Espinosa de los Monteros y Labarta, 1987), o bien para conocer el efecto genético de someter poblaciones silvestres a condiciones de control doméstico o las consecuencias de la liberación de crías producidas en laboratorio al medio natural (Beaumont, 1994).

La evaluación genética de los organismos utilizados en Acuicultura deberá emplear la técnica más adecuada dependiendo de las necesidades y requerimientos del productor (Parker *et al.*, 1998).

Una de las técnicas más utilizadas es la electroforesis de alozimas en gel de almidón. Esta consiste en la migración de proteínas a través de un campo eléctrico en una matriz de gel para distinguir alelos diferentes en un locus. Debido a que las proteínas son moléculas con carga eléctrica, éstas pueden migrar en el campo eléctrico de acuerdo a su forma, tamaño y carga; así, las proteínas de diferente composición y conformación migran a velocidades diferentes. Las enzimas se detectan con la inmersión del gel en un medio que contiene las condiciones de reacción para una enzima en particular (Hoelzel y Dover, 1991 y Parker *et al.*, 1998).

Para entender como se puede aplicar la genética para evaluar un cultivo, se deben mencionar algunos conceptos básicos.

Los genes que codifican a las enzimas y a las proteínas en general se denominan habitualmente loci alozímicos o loci proteicos. Debido a sus características, se pueden usar como marcadores de poblaciones, y/o especies, para la cuantificación de la variabilidad genética intrapoblacional y la diferenciación genética entre poblaciones (Espinosa de los Monteros y Labarta, 1987).

La unidad básica de la herencia es el gen. Los genes se encuentran localizados dentro de los cromosomas, en regiones específicas llamadas loci. Los genes pueden ocurrir en una o más formas, cada una de las cuales se le denomina alelo. Dentro de una población puede haber 1, 2, o más alelos por locus. Los individuos que tienen sólo un tipo de alelo en un locus se denominan homocigotos para ese locus. Los individuos que tienen más de un alelo por locus se denominan heterocigotos (Tave, 1986).

En una población, un gen puede tener un alelo (monomórfico) o puede tener más de uno (polimórfico) (Tave, 1986). El estudio de los polimorfismos enzimáticos ha ayudado a entender los fenómenos de adaptación de los organismos al ambiente en términos de procesos bioquímicos y fisiológicos (Espinosa de los Monteros y Labarta, 1987).

El grado de heterocigosidad en un locus se puede obtener mediante: el conteo directo (Ho) de la proporción de individuos que son heterocigotos. La heterocigocidad esperada (He) basada en el Modelo de Hardy-Weinberg y está dada por:

$$He = 1-\Sigma x_i^2 \qquad (1)$$

donde x_i^2 es la frecuencia del alelo i en el locus dado (Nei, 1987).

La heterocigosidad en una población es el promedio de todas las Ho sobre el número total de loci muestreados (r) (Nei, 1987):

$$H = \frac{Ho}{r} \qquad (2)$$

Algunos estudios revelan que existe una correlación entre la heterocigosis para loci proteicos y algunos caracteres cuantitativos como la velocidad de desarrollo y la viabilidad

en los individuos de una población (Espinosa de los Monteros y Labarta, 1987).

La deficiencia de heterocigotos (D) se calcula de la siguiente manera:

$$D = \frac{(Ho-He)}{He} \quad (3)$$

donde Ho es el número de heterocigotos observado y He el número de heterocigotos esperado considerando el Modelo de Hardy-Weinberg. Si D>0 significa que hay exceso de heterocigotos mientras que si D<0 existirá una deficiencia de heterocigotos (Selander, 1970). La deficiencia de heterocigotos está ampliamente documentada en la literatura científica, principalmente en moluscos (Raymond *et al.*, 1997).

El Modelo de Hardy-Weinberg hace referencia al tipo de equilibrio que se alcanza en una población mendeliana que cumple con las siguientes condiciones ideales: 1) Los individuos son diploides y se reproducen sexualmente, 2) Las generaciones son discretas o separadas, 3) El apareamiento es al azar (panmixia), 4) La población es lo suficientemente grande para que no ocurran cambios en las frecuencias génicas por efectos del muestreo, 5) No existe migración, 6) No se producen mutaciones, 7) No opera la selección natural.

En el caso de un locus autosómico con dos alelos A_1 y A_2, cuyas frecuencias son p y q respectivamente (p+q=1), la ley de Hardy-Weinberg establece que las frecuencias génicas permanecerán estables a lo largo de las generaciones, y después de una generación de apareamiento al azar, los tres genotipos posibles estarán presentes de la siguiente manera:

$$(pA_1 + qA_2)^2 = p^2A_1A_1 + 2pqA_1A_2 + q^2A_2A_2 \quad (4)$$

La extensión para un número de n alelos es inmediata. La existencia de proporciones Hardy-Weinberg no implica necesariamente que se cumplan todas y cada una de las condiciones; de hecho alguna o varias de estas condiciones pueden ser violadas y las frecuencias genotípicas seguir presentando las proporciones Hardy-Weinberg.

A partir de este modelo se pueden derivar ciertas propiedades básicas de la estructura genética de las poblaciones que vienen impuestas por la herencia mendeliana (Espinosa de los Monteros y Labarta, 1987).

El tamaño efectivo de la población se puede definir como aquel que produciría la misma varianza de frecuencias génicas que se observaría si el tamaño de la población se mantuviese constante y está afectado por la proporción de sexos de los reproductores. Si la población está formada por Nm machos y Nh hembras, el tamaño efectivo Ne (Hoelzel y Dover, 1991; Falconer y Mackay, 1996) es:

$$Ne = \frac{4NmNh}{Nm + Nh} \qquad (5)$$

En varios cultivos de moluscos se han hecho estimaciones del Ne usando la varianza temporal en las frecuencias alélicas. Hedgecock *et al.* (1992) al respecto afirmaron que los métodos de estimación temporal de esta varianza son una buena herramienta para monitorear la deriva genética y estimar el tamaño efectivo en poblaciones de organismos cultivados. El caso particular en que Nm=Nh, se tiene que Ne=N, el número total de organismos en la población.

Otro aspecto importante en el desarrollo de cultivos es evitar las cruzas consanguíneas. La consanguinidad es una desviación de la panmixia o del aparemiento

aleatorio y se presenta cuando los apareamientos se producen entre individuos emparentados, produciendo un incremento en la frecuencia de homocigotos y reducción de los heterocigotos (Espinosa de los Monteros y Labarta, 1987).

I.5. Antecedentes.

I.5.1. Estudios sobre la biología del abulón en México.

Los trabajos de investigación científica sobre la biología del abulón en México, se han desarrollado por el Instituto de Investigaciones Oceanológicas (I.I.O.-UABC), la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias (UABC), el Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) y el Instituto Politécnico Nacional (ENCB). Las principales áreas de estudio han sido: madurez gonadal (Andrade, 1971), fecundación artificial y desarrollo embrionario (Cota, 1971), crecimiento (Guzmán del Próo y Marín, 1976), fecundidad (Molina, 1983), repoblamiento (Searcy-Bernal y Salas-Garza, 1985), madurez, índice gonadal y fecundidad (González y Ortiz, 1986), crecimiento y talla en la madurez sexual (Shepherd *et al.*, 1991), abundancia (León y Ramírez, 1992), producción de semilla (Mazon-Suastegui *et al.*, 1992; Searcy-Bernal *et al.*, 1992), desarrollo y estado actual del cultivo en México (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1992), crecimiento (Turrubiates-Morales y Castro-Ortiz, 1989), elaboración de dietas artificiales (Viana *et al.*, 1994; Viana *et al.*, 1996), entre otros.

Debido a la falta de estudios genéticos de abulón en México, es necesario encaminar las investigaciones a este campo, para contribuir a un mejor manejo, tanto en las

poblaciones naturales como en los cultivos.

1.5.2. Estudios sobre genética de abulón.

En México, se ha trabajado poco en relación a aspectos genéticos del abulón, a pesar de la importancia que esto implica. Rodríguez (1996) determinó la estructura genético-poblacional de *H. fulgens* en la península de Baja California mediante el análisis de siete loci génicos con electroforesis en gel de almidón. En los cinco bancos muestreados observó una homocigosidad alta, es decir, poca variabilidad genética, además de que las poblaciones analizadas fueron independientes, es decir no existe mezcla.

A nivel internacional los trabajos de genética de abulón han cobrado gran importancia en años recientes y tienen varios enfoques, entre ellos destacan: los de mini y microsatélites (Hanna *et al.*, 1997; Huang *et al.*, 1997; Wang y Hanna, 1998; Huang y Hanna, 1998; Kirby *et al.*, 1998), manipulación cromosómica (Arai *et al.*, 1984a; Arai *et al.*, 1986; Fujino *et al.*, 1990a; Kudo *et al.*, 1991; Sun *et al.*, 1992; Sun *et al.*, 1993; Guofan *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 1997; Fujino *et al.*, 1987), transgénesis (Powers y Chen, 1995), Powers *et al.*, 1997), variación genética (Jonasson *et al.*, 1997; Kawahara *et al.*, 1997), cariotipos (Arai *et al.*, 1984b; Jarayabhand y Yom-la, 1998), genética de poblaciones (Brown y Murray, 1992; Murray y Brown, 1992), entre otros.

En Japón, Fujino y sus colaboradores han realizado varios trabajos en genética de abulón, entre los que destacan: variaciones en la termoestabilidad de múltiples loci (Okomura *et al.*, 1981), asociación entre la edad y las proporciones genotípicas de isoenzimas (Fujino y Sasaki, 1984), tasa de recombinación del centrómero para los genes de *Lap, Me, Pgm* y *αGdh* (Fujino *et al.*, 1989), *αGdh, Sod* y *Est* (1990b); relaciones de los

genotipos entre los progenitores y la progenie diploide y triploide inducida (Fujino *et al.*, 1991).

A la fecha, se tiene conocimiento solamente de los siguientes trabajos sobre genética en granjas de cultivo de abulón:

Smith y Conroy (1992) analizaron la variación genética en abulón *H. iris* producido en granjas de Nueva Zelanda mediante electroforesis de alozimas en gel de almidón y en acetato de celulosa. Encontraron diferencias genéticas entre las poblaciones silvestres y las cultivadas, cambio en las frecuencias alélicas, pérdida de alelos raros así como reducción en la heterocigosidad para el locus de la fosfoglucomutasa *(Pgm)* de abulones cultivados, comparado con el de abulones silvestres y para el locus superóxido dismutasa (*Sod*) encontraron una baja variación genética.

Mgaya *et al.* (1995) estimaron la variación alozimática de tres loci polimórficos (*Gpi, Pgm* y *Mdh*) en abulones silvestres de Guernesey, Channel Islands y en cultivados, y encontraron similitud en términos del número efectivo de alelos por locus y en el nivel de heterocigosidad.

Gaffney *et al.* (1996) estudiaron el efecto genético de la semilla de abulón rojo propagada artificialmente sobre las poblaciones silvestres y encontraron cambios en la composición genética y pérdida de alelos raros en las poblaciones cultivadas comparadas con las silvestres.

II. OBJETIVO GENERAL.

Caracterizar genéticamente a la población de abulón rojo *Haliotis rufescens* en el cultivo comercial de la Empresa "Abulones Cultivados".

II.1. Objetivos Particulares.

Establecer el tipo de crecimiento (isométrico o alométrico) que presentan los organismos en diferentes edades.

Calcular las frecuencias alélicas y el grado de polimorfismo de los diferentes lotes de abulón rojo en el cultivo comercial de la Empresa "Abulones Cultivados" por medio de electroforesis de alozimas.

Determinar si las poblaciones de abulón rojo en el cultivo se ajustan al Modelo de Hardy-Weinberg.

Evaluar si existe deficiencia o exceso de heterocigotos en las poblaciones de abulón rojo en el cultivo comercial.

Determinar si existe correlación entre la heterocigosidad y el crecimiento en juveniles de las poblaciones de abulón rojo en el cultivo comercial.

III. MATERIALES Y METODOS.

III.1. Origen de los organismos.

Los organismos analizados en el presente estudio provienen de la Empresa "Abulones Cultivados" cuya unidad de producción oceánica se localizaba hasta enero de 1999, en las Islas de Todos Santos (31° 48' N; y 116° 47' O), y de la unidad de producción terrestre que se ubica en el Ejido Eréndira, Baja California, México (31° 24' N; 16° 24' O).

III.2. Muestreo.

Con el fin de contar con un análisis amplio de la población cultivada, se tomó una muestra de organismos en crecimiento de las jaulas localizadas en las Islas de Todos Santos, así como del grupo de reproductores y organismos en crecimiento provenientes del Ejido Eréndira.

Considerando las generaciones existentes en las Islas de Todos Santos se seleccionaron aleatoriamente cinco de ellas y se tomó una muestra total de 298 organismos, la información acerca del número y origen de los progenitores de cada lote se presenta en la Tabla I.

Tabla I. Diseño del muestreo en las Islas de Todos Santos.

Generación	Edad (meses)	lote	hembras progenitoras / origen*	machos progenitores / origen*	Ne	organismos muestreados
Eréndira 18	27	D	5/s	2/s, 3/c	10	53
Eréndira 20	27	E	3/s	1 s, 2/c	6	54
Eréndira 25	21	F	18/c	18/c	36	54
Eréndira 30	20	G	10/s	10/c	20	56
Eréndira 34	17	H	8/s	23/c	24	81

* origen: s= silvestre de Santa Bárbara, Ca, E. U., c= cultivado de Ab Lab Inc.

Los organismos provenientes de las Islas de Todos Santos (lotes D al H) se transportaron vivos (dentro de hieleras provistas de bolsas con gel refrigerante) al Laboratorio de Genética del Departamento de Acuicultura del CICESE. Se midió la longitud, altura y largo de la concha, peso total, peso de la concha y peso desconchado. De estos lotes se tomaron las muestras destinadas al análisis electroforético (glándula digestiva y branquia) y se colocaron individualmente en tubos eppendorf de 1.5 ml, almacenándose en un ultracongelador a -70 °C. De estos lotes se conservaron las conchas completas.

Del cultivo en Eréndira, se tomó una muestra de 416 organismos provenientes de dos lotes que se denominaron J y K, correspondientes a los desoves del 3 y 24 de febrero de 1998, respectivamente (7 y 6 meses de edad, respectivamente). El lote J tuvo como progenitores 36 hembras y 20 machos, ambos cultivados (Ab Lab Inc.) (Ne=51.4), mientras que el lote K provino de 15 hembras y 8 machos ambos cultivados (Ab Lab Inc.) (Ne= 20.8). Estos organismos se transportaron vivos en hieleras hasta el Laboratorio de Genética, ahí se les midió el largo, se pesaron y se colocaron individualmente en tubos eppendorf para almacenarse en el ultracongelador a -70°C.

Adicionalmente se tomaron muestras de 3 a 6 tentáculos (epipodios) de los reproductores (anotando su origen), colocándolos individualmente en tubos eppendorf dentro de nitrógeno líquido para transportarlos al laboratorio y almacenarlos de igual manera en el ultracongelador a -70° C.

III.3. Electroforesis en gel de almidón.

Para determinar las soluciones amortiguadoras así como las enzimas adecuadas para obtener resultados positivos en la electroforesis, se probaron tres sistemas de corrimiento electroforético para 32 sistemas enzimáticos (Tabla II). Los sistemas continuos fueron: TME (0.1 M Tris, 0.1 M ácido maleico, 0.01 M EDTA y 0.01 M $MgCl_2$) pH 7.8 y Tris-Citrato (0.15M) pH 8.0, mientras que el sistema discontínuo consistió en TME pH 7.4 para electrodo y Citrato-Fosfato pH 7.4 para gel. De estos tres sistemas se seleccionó al TME pH 7.8 debido a que resolvía bien para las enzimas que se seleccionaron (Tabla II). La preparación de los amortiguadores se cita en el Apéndice 1.

Los geles se prepararon en placas de vidrio con dimensiones de 270 x 180 x 6 mm. con marcos de acrílico de 250 x 150 x 9 mm (medidas internas).

La concentración de almidón para el estudio fue del 12%. Para un gel de 9 mm de grosor se necesitaron: 54.12 g de almidón, 410 ml de agua destilada y 41 ml de amortiguador TME ajustado a un pH de 7.8. Los ingredientes se mezclaron perfectamente en un matraz Erlenmeyer de 1 litro, colocando la mezcla en el horno de microondas (700W) a potencia máxima. Inicialmente se movió la mezcla cada 30 segundos durante los primeros dos minutos, posteriormente se movió cada 15 segundos durante los siguientes minutos. Cuando el almidón empezó a hervir se sacó del horno para proceder a la desgasificación con una bomba de vacío por espacio de 20 a 30 segundos. En seguida se destapó lentamente para evitar la formación de burbujas y se procedió a vertirlo de inmediato sobre las placas de vidrio con los marcos sujetos con ligas de plástico. Para facilitar el corte se utilizó un segundo marco sobrepuesto sobre el primero y se ajustó con las ligas.

Tabla II. Sistemas enzimáticos que se probaron para abulón rojo *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V.".

Nombre de la enzima y número de la C. E.	Abreviación	Estructura	Resultados
1. Aconitasa ó Aconitato hidratasa (4.2.1.3)	ACON	Monómero	No tiñó
2. Adenilato kinasa ó Miokinasa (2.7.4.3)	AK	Monómero	No tiñó
3. Adenosina desaminasa (3.5.4.4)	ADA	Monómero	No tiñó
4. Alcohol deshidrogenasa (1.1.1.1)	ADH	Dímero	No tiñó
5. Aldolasa (4.1.2.13)	ALD	Tetramero	No tiñó
6. Aspartato aminotransferasa o Glutamato oxaloacetato transaminasa (2.6.1.1)	AAT* ó GOT	Dímero	Polimórfica
7. Diaforasa (1.6.2.2)	DIA	Monómero	No tiñó
8. Enzima Málica (1.1.1.40)	ME*	Tetrámero	Polimórfica
9. Esterasa D (3.1.1.1))	ESD	Dímero	No interpretable
10. Esterasas (3.1.1.-)	EST*	Dímero	Se comporta como monómero
11. Fosfo-glucomutasa (2.7.5.1)	PGM*	Monómero	Polimórfica
12. 6-Fosfogluconato deshidrogenasa (1.1.1.44)	PGD	Dímero	Manchas barridas
13. Fumarasa o fumarato hidratasa (4.2.1.2)	FUM ó FH	Tetrámero	No tiñó
14. Glicerato deshidrogenasa (1.1.1.29)	G2DH	❖	No tiñó
15. Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (1.1.2.12)	GAPDH ó GPD	Tetrámero	No tiñó
16. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (1.1.1.49)	G6PD ó GD	Dímero	Manchas barridas
17. Glucosa-6-fosfato isomerasa (5.3.1.9)	GPI*	Dímero	Polimórfica
18. Glucosa deshidrogenasa (1.1.1.47)	GDH	Dímero	No tiñó
19. Glutation reductasa (1.6.4.2)	GSR	Dímero	Manchas barridas
20. Hexoquinasa (2.7.1.1)	HK*	Monómero	Poco polimórfica
21. 3-Hidroxibutirato deshidrogenasa(1.1.1.30)	HBDH	Dímero	No tiñó
22. Isocitrato deshidrogenasa (1.1.1.42)	IDH*	Dímero	Monomórfica
23. L-Lactato deshidrogenasa (1.1.1.27)	LDH*	Tetrámero	Polimórfica
24. Leucin amino peptidasa (3.4.11.-)	LAP*	Dímero	Polimórfica
25. Malato deshidrogenasa (1.1.1.37)	MDH*	Dímero	MDH-1 Monomórfica MDH-2 Polimórfica
26. Manosa-fosfato isomerasa (5.3.1.8)	MPI	Monómero	No tiñó
27. Oxidasa hidroxiácida ó L-2 oxidasa hidroxiácida (1.1.3.1)	GOX	Tetrámero	No tiñó
28. Purina nucleósido fosforilasa (2.4.2.1)	NP	Trímero	No tiñó
29. Pirofosfatasa inorgánica (3.6.1.1)	IPP*	Dímero	Polimórfica
30. Sorbitol deshidrogenasa (1.1.1.14)	SDH ó SORDH	Tetrámero	No tiñó
31. Superóxido dismutasa (1.15.1.1)	SOD	Dímero	No tiñó
32. Triosa fosfato isomerasa (5.3.1.1)	TPI*	Probablemente Dímero	Polimórfica

*Se seleccionó para los análisis posteriores, ❖No determinado.

La mezcla se vació rápidamente para evitar que se enfriara y solidificara, dejando que sobresaliera del primer marco de acrílico. Una vez que el almidón se enfrió, se cubrió con una tapa de acrílico y se colocó en refrigeración al menos durante una hora antes de ser utilizado. Preferentemente se prepararon los geles de 1 a 3 horas antes de usarlos para evitar su deshidratación.

Previo al sembrado de las muestras, los geles se prepararon de la siguiente manera: las orillas se separaron del marco con ayuda de un bisturí procurando cortar la totalidad de las esquinas. La parte superior, donde sobresalía el almidón, se eliminó con un "cortador de queso", dejando la superficie plana. Se procedió a hacer un corte vertical a lo largo del gel con ayuda de un marco de acrílico, a unos 2.5 cm de una de las orillas y se separaron las dos partes con ayuda de papel secante para poder colocar las muestras.

Los tubos eppendorf que contenían las muestras se sacaron del ultracongelador y, durante todo el tiempo que se mantuvieron fuera de él, se colocaron en hielo picado. A cada tubo se le agregó amortiguador TME a pH 7.8 en las siguientes cantidades:

- lotes D, E, F, G y H entre 0.3 y 0.4 ml, dependiendo de la cantidad de muestra
- lotes J y K Talla 6 mm se les adicionó 0.1 ml
- lotes J y K Talla 8 se les agregó 0.15 ml
- lote J Talla 10 se le adicionó 0.2 ml.
- Reproductores 1 gota de amortiguador, equivalente aproximadamente a 0.05 ml.

A todos los tubos se les colocaron unos cuantos granos de arena de cuarzo para homogeneizar el tejido. Una vez homogeneizados, se colocaron en la centrífuga a 10,000 rpm por espacio de 5 minutos a temperatura ambiente.

El sobrenadante del homegeneizado de la muestra se absorbió con mechas de papel filtro del número 1, con dimensiones de 2 x 9 mm, quitando el exceso de muestra con papel secante. Cada mecha se colocó en el corte del gel con ayuda de pinzas de disección. Para evitar la contaminación entre muestras, las pinzas se lavaron y secaron antes del manejo de la siguiente muestra. El espaciamiento entre éstas se hizo con ayuda de una reglilla.

Se colocó una muestra estándar (marcador) a cada lado del gel, con la finalidad de observar posibles corrimientos desiguales en el mismo, así como para comparar entre corridas. Asimismo, la ferritina (proteína indicadora) se colocó para evaluar a simple vista el progreso del corrimiento de electroforesis.

En una charola de electroforesis se colocó el gel entre 65 y 80V/cm por espacio de 18:30 horas, anotando las condiciones de miliamperaje y wataje de los geles.

III.4. Revelado de alozimas.

De los 32 sistemas enzimáticos probados solamente en 12 se obtuvieron datos interpretables (Tabla II).

Las recetas de Tinción se presentan en el Apéndice 1. Una vez que solidificó la mezcla de tinción, el marco se cubrió con una placa de vidrio y se colocó en incubadora a 36°C.

Conforme se fue apreciando visualmente la tinción de los alelos para cada locus se procedió a copiar en acetato plástico con marcador indeleble cada una de las manchas que aparecieron en el gel, colocándolo sobre un transiluminador. Se registró el avance de la ferritina, del marcador y de las muestras, indicando origen de la electroforesis (del organismo 1 al 40), así como la fecha y enzima correspondiente. Se tuvo cuidado de que no

transcurriera mucho tiempo de tinción, ya que de ser así, se podía dificultar la identificación entre manchas.

Se fotografió el gel con película a color ISO 200, cámara réflex, filtro 2+ y filtro azul evitando así la coloración amarilla. Se colocó una reglilla en el margen del gel que señaló el origen de la electroforesis. En un portaobjetos se escribió el origen y colocación de las muestras, la fecha y la enzima en cuestión.

III.5. Procesamiento de los datos.

Los datos morfométricos de los lotes D, E, F, G y H, se analizaron individualmente, mediante la correlación lineal simple (Statistica versión 4.5) ajustando al modelo logarítmico para probar si la relación de los pares de dimensiones era isométrica o alométrica. En los lotes J y K se analizaron de la misma manera los datos, pero separando las tallas 6, 8 y 10 mm, y 6 y 8 mm respectivamente y también se realizó un análisis global de las tallas para cada lote.

El contraste de la pendiente para determinar si la relación era alométrica se realizó calculando el valor de "t" de la siguiente manera:

$$t = \frac{b_1 - \beta_1}{\sqrt{\frac{CME}{SCx}}} \qquad (6)$$

donde b_1= pendiente en la regresión, β_1= 1 ó 3, según el caso, CME= cuadrado medio del error (del ANDEVA de la Regresión) y SCx= suma de cuadrados de x (largo) (Daniel, 1992).

Para el caso de relaciones entre medidas lineales (alto-largo y ancho-largo) se probó si la pendiente era igual (isometría) o diferente (alometría) de uno, mientras que para las relaciones peso total-largo, peso de la concha-largo y peso desconchado-largo se probó si la pendiente era igual a 3.

Cuando se obtuvieron relaciones alométricas el signo de la diferencia $(b_1-\beta_1)$ indicó si la alometría fue positiva o negativa.

Debido a que se utilizaron los mismos organismos en las pruebas estadísticas se utilizó una corrección de Bonferroni en el α (Sokal y Rohlf, 1995):

$$\alpha' = \frac{0.05}{\#\text{ total de pruebas}} \qquad (7)$$

con lo que se contrastaron los valores de p.

Se compararon las pendientes de las regresiones lineales de los datos transformados logarítmicamente por medio de un análisis de covarianza (Fry, 1993).

Para cada enzima se localizó el alelo más común y se designó como "100", el resto de los alelos se designaron por su movilidad con respecto al más común.

Con el paquete BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1989) se calcularon para cada lote: frecuencias alélicas, porcentaje de loci polimórficos sin criterio (sc), heterocigosidad con sesgo (H), heterocigosidad esperada (He) (Nei, 1978), heterocigosidad observada (Ho), deficiencia de heterocigotos (D) e indice de fijación F_{IS}. Con el paquete GENEPOP ver 1.0 (Raymond y Rousset, 1994) se evaluó el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg (prueba exacta).

Para la relación heterocigosidad-talla, se dividió el número de loci heterocigotos entre el número de loci que tiñeron en cada uno de los abulones muestreados, con la finalidad de calcular la heterocigosidad individual. En cada uno de los lotes se graficó la marca de clase del largo (mm) y del peso total (g) contra la heterocigosidad individual para obtener los parámetros de la ecuación de regresión lineal, se determinó adicionalmente si la pendiente fue diferente de cero por medio del ANDEVA de la regresión (Statistica ver. 4.5), se utilizó la correción de Bonferroni en el α.

En la relación genotipo-talla, los genotipos obtenidos en cada locus se analizaron con el largo (mm) y el peso total (g) en un ANDEVA de una vía (Paquete Statistica ver. 4.5), para determinar si existió dependencia entre el genotipo y la talla.

Las heterocigosidades individuales se compararon entre lotes por medio de las pruebas no paramétricas de la mediana y de Kruskal-Wallis (MINITAB, ver 10.2).

IV. RESULTADOS.

IV.1. Análisis Morfométrico.

Al realizar un ANDEVA y posteriormente un análisis de Tukey (MINITAB ver 10.2) entre las tallas (largo en mm y peso total en g) de los lotes D al H se encontró que sólo las tallas de los lotes E y F son estadísticamente similares. En el lote J las tres tallas: J6, J8 y J10 resultaron ser significativamente diferentes (largo y peso total), de igual forma las dos tallas del lote K (K6 y K8) difieren significativamente en talla (largo y peso total).

Los resultados que se obtuvieron en los lotes D, E, F, G y H se resumen en la Tabla III y los resultados de los lotes J y K en la Tabla IV.

Después de la transformación logarítmica y el análisis de regresión lineal, de un total de 30 análisis, se obtuvieron 14 casos de relación alométrica negativa: alto-largo en los lotes D, E, F y G, peso total-largo en el lote D, J6, J8, J10 y K8, peso concha-largo en los lotes D, E, F, G y H. En 4 casos se obtuvo una relación alométrica positiva: ancho-largo en el lote E, peso desconchado-largo en los lotes G y H y en peso total-largo en el lote K6. Finalmente en 12 casos se obtuvo isometria: alto-largo en el lote H, ancho-largo en los lotes D, F, G y H, peso total-largo en los lotes E, F, G y H y peso desconchado-largo en los lotes D, E y F.

Se compararon las pendientes de las líneas de regresión del logaritmo del peso total (g) contra el logaritmo del largo (mm) de los lotes D al H, J6 al J10, K6 al K8, D al J10 y finalmente Global J y K8 por medio de un Análisis de Covarianza (Fry, 1993) (ANCOVA), las tablas de estos análisis se presentan en el Apéndice 2. No se encontraron diferencias

significativas entre las pendientes de los lotes D al H ($F_{(4,288)}$= 2.17, p=0.072) por lo que se unieron los datos y se obtuvieron los parámetros de regresión lineal (Tabla V, Figura 1). Asimismo al comparar entre sí las tres tallas del lote J y las dos del lote K no se obtuvieron diferencias significativas ($F_{(2,201)}$= 1.26, p=0.287) entre las pendientes de J6, J8 y J10, pero sí entre las K6 y K8 ($F_{(1,200)}$= 10.57, p=0.001). Al comparar la pendiente del lote K8 con la del J no se encontraron diferencias significativas ($F_{(3,300)}$= 0.95, p=0.417) entre las pendientes por lo que se unieron los valores y se obtuvieron los parámetros de la regresión lineal correspondiente (Tabla V, Figura 1).

Para los lotes D al H se obtuvo una relación isométrica, mientras que el análisis de los lotes Global J y K8 se tuvo una relación alométrica negativa entre estas dos variables.

Tabla III. Promedios de las medidas morfométricas (mm, g), desviación estándar (d.e.) y parámetros de la regresión lineal de organismos de los lotes D, E, F, G y H de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

	Lote				
	D	**E**	**F**	**G**	**H**
n	53	54	54	56	81
Largo	49.71	39.66	42.23	32.91	25.53
d.e.	(10.67)	(8.67)	(5.94)	(6.57)	(3.20)
Alto	11.47	8.90	8.68	8.05	6.36
d.e.	(1.91)	(1.75)	(1.52)	(1.39)	(0.86)
Regresión b_0	-0.068	-0.002	-0.125	-0.325	-0.420
b_1	0.666∅	0.600∅	0.660∅	0.811∅	0.869§
r^2	0.740	0.700	0.640	0.822	0.655
Ancho	34.33	26.80	29.04	22.01	16.80
d.e.	(7.27)	(5.97)	(4.24)	(4.59)	(2.23)
Regresión b_0	-0.075	-0.255	-0.199	-0.217	-0.237
b_1	0.950§	1.052Ψ	1.022§	1.027§	1.039§
r^2	0.910	0.981	0.972	0.982	0.964
Peso total	22.23	9.27	11.77	5.16	2.43
d.e.	(18.28)	(5.84)	(4.68)	(3.18)	(0.930)
Regresión b_0	-3.417	-3.899	-3.812	-0.426	-3.884
b_1	2.773∅	3.007§	2.988§	3.088§	3.019§
r^2	0.939	0.956	0.939	0.964	0.951
Peso concha	6.06	3.19	3.30	1.76	0.79
d.e.	(1.46)	(1.77)	(1.16)	(0.99)	(0.27)
Regresión b_0	-3.465	-3.858	-3.652	-3.945	-3.469
b_1	2.473∅	2.702∅	2.558∅	2.735∅	2.382∅
r^2	0.854	0.981	0.900	0.973	0.741
Peso Desconchado	16.17	6.08	8.582	3.40	1.64
d.e.	(13.66)	(4.10)	(4.11)	(2.20)	(0.68)
Regresión b_0	-3.761	-4.452	-4.372	-4.537	-4.641
b_1	2.891§	3.231§	3.240§	3.300Ψ	3.430Ψ
r^2	0.928	0.906	0.901	0.947	0.885

b_0= Ordenada al origen, b_1= Pendiente, ∅= Alometría negativa, Ψ= Alometría positiva, §= Isometría.

Tabla IV. Promedios de las medidas morfométricas (mm, g), desviación estándar (d.e.) y parámetros de la regresión lineal en los lotes J y K de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

	Lote				
	J6	J8	J10	K6	K8
n	72	70	70	103	101
Largo	6.31	7.68	11.89	6.70	8.34
d.e.	(0.70)	(0.83)	(1.26)	(0.73)	(0.85)
Peso total	0.04	0.06	0.23	0.04	0.08
d.e.	(0.01)	(0.02)	(0.06)	(0.01)	(0.02)
Regresión b_0	-3.518	-3.649	-3.569	-3.891	-3.581
b_1	2.588∅	2.749∅	2.709∅	3.021Ψ	2.655∅
r^2	0.869	0.924	0.944	0.945	0.928

b_0= Ordenada al origen, b_1= Pendiente, ∅= Alometría negativa, Ψ= Alometría positiva.

Tabla V. Promedios de las medidas morfométricas (mm, g), desviación estándar (d.e.) y parámetros de la regresión lineal en los análisis globales de los lotes D al H, Global J y K8 de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

	Global D a H	Global J y K8
intervalo de edad	27 a 17 meses	6 a 7 meses
n	298	212
Largo mm	36.803	8.60
d.e.	(11.87)	(2.56)
mínimo	15.85	4.610
máximo	94.70	14.220
Peso total g	9.398	0.108
d.e.	(10.84)	(0.09)
mínimo	0.507	0.016
máximo	127.200	0.344
Regresión b_0	-4.003	-3.728
b_1	3.036§	2.839∅
r^2	0.997	0.981

b_0= Ordenada al origen, b_1= Pendiente, §= Isometría, ∅= Alometría negativa.

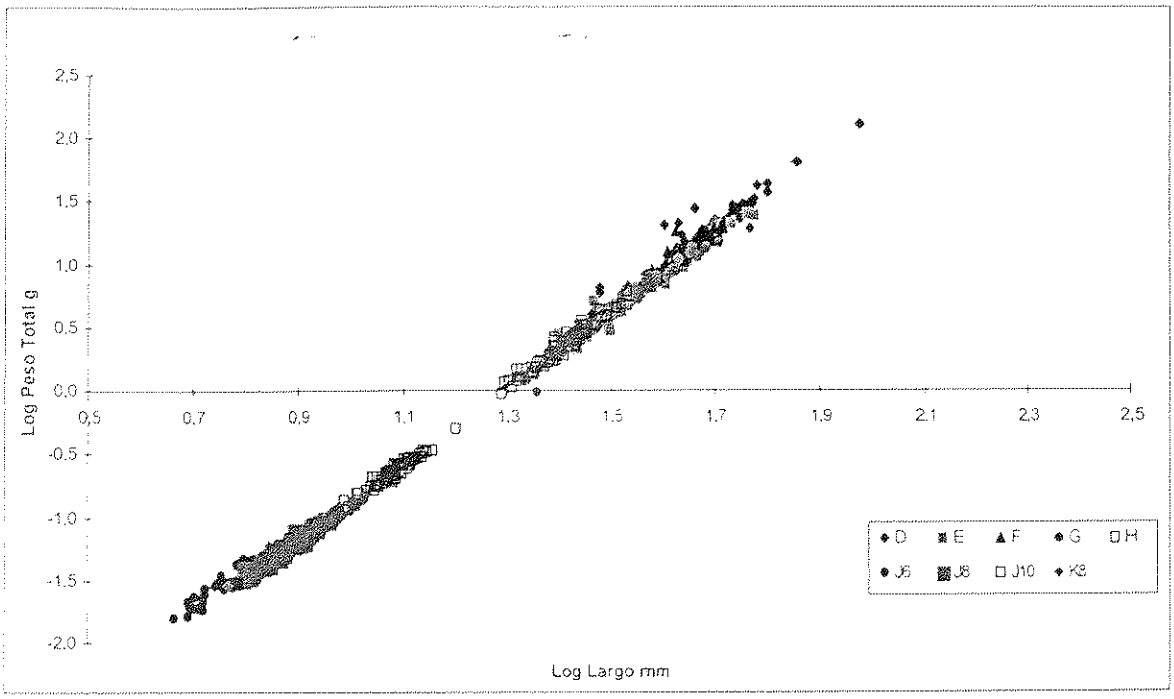

Figura 1. Regresión lineal del peso total (g) contra el largo (cm) en los análisis globales de los lotes a) D al H y b) Global J y K8 de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

IV.2. Análisis Genético.

Se realizó el análisis para trece loci alozímicos en la población cultivada de *H. rufescens*. Debido a que en el lote de reproductores (I) solamente 7 loci mostraron resultados positivos y en pocos organismos, se eliminaron los datos debido a que el análisis genético podría resultar inconsistente.

Los resultados de las frecuencias alélicas, las medidas de variabilidad genética y el ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg se presentan a continuación.

IV.2.1 Frecuencias alélicas.

Para tener una visión más completa del comportamiento de las frecuencias alélicas de la población de "Abulones Cultivados S. A. de C. V." se realizaron varios análisis con los paquetes BIOSYS-1 y GENEPOP ver 1.0.

Con el fin de determinar si existía una relación entre los lotes se realizaron pruebas de independencia (GENEPOP ver 1.0), las cuales indicaron si se podían agrupar los diferentes lotes en un análisis global. Al agrupar todos los lotes se encontró que eran independientes (p (x^2= 49.719, 8 g. l.) < 0.000001) por lo que no fue posible realizar un análisis genético global. Debido a esto, se realizaron agrupaciones en donde las pruebas de independencia mostraron los siguientes resultados:

Entre los lotes D al H se encontró independencia, es decir, diferencias genéticas, mientras que al realizar el análisis entre los lotes J6, J8 y J10 se encontró que son genéticamente similares excepto para 1 locus, *Hk* (p (x^2= 36.532, 12 g. l.) < 0.0001) por lo que se unieron los resultados (excepto para este locus) y se trabajaron en un análisis global

del lote J (Tabla VII). El análisis entre los lotes K6 y K8 mostró, de la misma manera que en los lotes J, que son genéticamente similares excepto en *Lap-2* (p (x^2= 24.39037, 12 g. l.) < 0.01) por lo que se realizó un análisis global del lote K eliminando a *Lap-2* de este análisis (Tabla VII).

De esta manera, los lotes D, E, F, G y H se trabajaron independientemente (Tabla VI), los lotes J y K se analizaron separadamente de acuerdo a los grupos de talla, adicionalmente se analizaron los datos agrupando a las tallas 6, 8 y 10 para el caso del lote J, y 6 y 8 para el lote K (Tabla VII).

IV.2.1.1 Lotes de las Islas de Todos Santos.

Los análisis de las muestras de las Islas de Todos Santos (lotes D, E. F, G y H), se describen a continuación.

Est fue monomórfica en el lote G, en los demás lotes se mantuvo constante la frecuencia del alelo 100 seguida del 95, pero en el lote D se presentó además el alelo 106 con una frecuencia baja.

En los lotes D y G el locus *Ipp* presentó los alelos 100 y 106, siendo monomórfica en los lotes E, F y H.

Gpi fue polimórfica para todos los lotes. Los alelos 100, 112 y 145 mantuvieron su frecuencia similar en los lotes D, E y F, mientras que en los lotes G y H cambiaron las frecuencias de los alelos 112 y 145, además de que apareció el alelo 86.

El locus *Pgm* se comportó como polimórfico en todos los lotes. En los lotes D, E, G y H se mantuvieron similares las frecuencias de los alelos 100, 108 y 93. En el lote F la frecuencia del alelo 93 fue mayor que la del alelo 108, y fue más alta que en cualquier otro

lote.

La *Hk* resultó monomórfica en los lotes F, G y H, mientras que en el lote E presentó además al alelo 106. En el lote D adicionalmente a estos dos alelos, apareció el alelo 90 con una frecuencia mayor a la del 106.

En los loci *Idh* y *Mdh-1* se obtuvo monomorfismo para todos los organismos de estos lotes.

En *Me* se observó monomorfismo en los lotes D y F; en los lotes E, G y H presentó además al alelo 80, el cual cambió su frecuencia alélica en el lote G siendo mayor a la del alelo 100.

El locus *Ldh* fue monomórfico para casi todos los lotes, excepto en el lote E que presentó el alelo 80, incluso cambió su frecuencia y fue mayor a la del alelo más común.

Para *Mdh-2* hubo monomorfismo para los lotes D y H, mientras que en los demás lotes se presentó el alelo 72 con una frecuencia menor.

En el caso de *Lap* se presentaron dos loci *Lap-1* y *Lap-2* con tres alelos para cada uno, y un comportamiento monomérico. Para *Lap-1* el alelo más común mantuvo semejante su frecuencia en todos los lotes, excepto en el lote E en el cual disminuyó ligeramente. El alelo 85 tuvo un comportamiento similar en los lotes D, F y H. El alelo 110 apareció en el lote E con una frecuencia mayor incluso que la del alelo 85 y en el lote G con una frecuencia baja.

Tabla VI. Frecuencias alélicas de los lotes D, E, F, G y H de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. De C. V.".

	Lote				
Locus	D	E	F	G	H
Est					
n	37	53	53	52	79
95	0.000	0.066	0.019	0.000	0.070
100	0.933	0.934	0.981	1.000	0.930
106	0.068	0.000	0.000	0.000	0.000
Ipp					
n	44	37	54	56	50
100	0.943	1.000	1.000	0.955	1.000
106	0.057	0.000	0.000	0.045	0.000
Gpi					
n	53	54	54	56	81
86	0.000	0.000	0.000	0.027	0.031
100	0.811	0.769	0.898	0.741	0.895
112	0.075	0.083	0.009	0.018	0.025
145	0.113	0.148	0.093	0.214	0.049
Pgm					
n	47	54	52	54	78
93	0.160	0.176	0.250	0.222	0.135
100	0.574	0.630	0.529	0.481	0.577
108	0.266	0.194	0.221	0.296	0.288
Hk					
n	21	52	54	28	39
90	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000
100	0.905	0.471	1.000	1.000	1.000
106	0.024	0.529	0.000	0.000	0.000
Idh					
n	52	46	54	50	81
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Me					
n	4	50	54	11	81
80	0.000	0.410	0.000	0.773	0.031
100	1.000	0.590	1.000	0.227	0.969
Ldh					
n	10	20	54	28	54
80	0.000	0.550	0.000	0.000	0.000
100	1.000	0.450	1.000	1.000	1.000

Tabla VI.
(Continuación)

Locus	Lote D	E	F	G	H
Mdh-1					
n		54	54	44	81
40		1.000	1.000	1.000	1.000
Mdh-2					
n	12	54	54	56	81
72	0.000	0.046	0.009	0.089	0.000
100	1.000	0.954	0.991	0.911	1.000
Lap-1					
n	33	10	35	14	43
85	0.030	0.050	0.014	0.000	0.012
100	0.970	0.750	0.986	0.964	0.988
110	0.000	0.200	0.000	0.036	0.000
Lap-2					
n	30	24	53	21	63
130	0.000	0.083	0.000	0.000	0.024
135	1.000	0.854	0.925	0.976	0.905
155	0.000	0.063	0.075	0.024	0.071
Aat					
n	32		23		60
50	0.047		0.022		0.133
100	0.953		0.978		0.867

n= número de organismos con tinción positiva.

En *Lap-2* hubo monomorfismo para el lote D con el alelo 135. El alelo 130 apareció en los lotes E y H con frecuencias distintas, ya que en este último lote la frecuencia del alelo 155 fue mayor que la del 130, contrariamente a lo que ocurrió en el lote E. El alelo 155 mantuvo similar su frecuencia en los lotes E, F y H, mientras que en el G disminuyó.

El locus *Aat* tuvo una frecuencia similar del alelo 50 entre los lotes D y F, y fue mayor en el lote H, mientras que en los lotes E y G no hubo tinción para ningún organismo.

IV.2.1.2 Lotes de Eréndira: J y K.

En los lotes J y K se observó una mayor cantidad de loci monomórficos que en los lotes de las Islas (Tabla VII). En todos ellos existió monomorfismo para los loci: *Ipp*, *Idh* y *Mdh-1*; para *Est* y *Ldh* en todos los lotes excepto en el J8 donde no tiñó; para *Lap-1* y *Lap-2* en todos los lotes excepto en el K8.

Se observó polimorfismo en los loci: *Gpi*, *Pgm*, *Hk*, *Me*, *Mdh-2*, y *Aat*. En el caso de *Gpi* se mantiene elevada la frecuencia del alelo 100; en los lotes J6 y J8 el alelo 145 aparece con una frecuencia similar. En el J10 aparecen dos alelos más, el 86 y el 112, este último con la frecuencia más baja; por consiguiente cuando se agruparon los datos se tuvo que en el global del lote J aparecen estos mismos alelos comportándose de la misma manera. En el lote K las frecuencias son diferentes entre las tallas 6 y 8; en la talla 6 el alelo 86 aparece con la frecuencia más baja, mientras que el alelo 112 no se presenta, lo contrario ocurre en la talla 8. En el análisis global de este lote la frecuencia más baja la tuvo el alelo 86, seguido del 112 y 145.

Para *Pgm* el alelo 100 tuvo la misma frecuencia en los dos lotes de la talla 8; el segundo alelo más común en todos los lotes fue el 108, seguido del 93. Este mismo patrón se mantuvo en los análisis globales de los lotes J y K.

El locus *Hk* fue monomórfico para lo lotes J6 y K6, de la misma forma que en el global del lote K, debido a que en la talla 8 no tiñó. En el lote J8 se presentó el alelo 106 y adicionalmente en el J10 apareció en alelo 90 con una frecuencia menor.

Tabla VII. Frecuencias alélicas de los lotes J, K y Global de cada lote de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

	Lote						
Locus	**J6**	**J8**	**J10**	**Global J**	**K6**	**K8**	**Global K**
Est							
n	47		15	62	6	72	78
100	1.000		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Ipp							
n	26	47	7	80	49	99	148
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Gpi							
n	70	66	70	206	103	101	204
86	0.000	0.000	0.021	0.007	0.010	0.000	0.005
100	0.943	0.955	0.900	0.932	0.961	0.926	0.944
112	0.000	0.000	0.007	0.002	0.000	0.020	0.010
145	0.057	0.045	0.071	0.058	0.029	0.054	0.042
Pgm							
n	63	60	66	189	96	94	190
93	0.099	0.050	0.038	0.062	0.135	0.085	0.111
100	0.639	0.633	0.705	0.659	0.661	0.633	0.647
108	0.262	0.317	0.258	0.279	0.203	0.282	0.242
Hk							
n	21	49	60	♣	24		24
90	0.000	0.000	0.025		0.000		0.000
100	1.000	0.949	0.825		1.000		1.000
106	0.000	0.051	0.150		0.000		0.000
Idh							
n	65	47	36	148	91	99	190
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Me							
n	50	39	48	137	65	80	145
80	0.120	0.410	0.563	0.358	0.069	0.087	0.079
100	0.880	0.590	0.438	0.642	0.931	0.913	0.921
Ldh							
n	9		51	60	2	24	26
100	1.000		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Tabla VII.
(Continuación)

	Lote						
Locus	J6	J8	J10	Global J	K6	K8	Global K
Mdh-1							
n	40	26	23	89	38	61	99
40	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Mdh-2							
n	58	29	52	139	66	64	130
72	0.052	0.086	0.106	0.079	0.015	0.023	0.019
100	0.948	0.914	0.894	0.921	0.985	0.977	0.981
Lap-1							
n	28	26	23	77	26		26
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000		1.000
Lap-2							
n	13	2	13	28	8		♣
135	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000		
Aat							
n	50	9	43	102	54	92	146
50	0.050	0.000	0.163	0.093	0.046	0.076	0.065
100	0.950	1.000	0.837	0.907	0.954	0.924	0.935

n= número de organismos con tinción positiva. ♣ Se eliminó del análisis global por ser significativo.

En *Me* la frecuencia del alelo 100 fue variable en los lotes, fue menor en los lotes J y más elevada en los K. En el lote J10 incluso hubo un cambio de la frecuencia del alelo 100, siendo mayor la del alelo 80, lo cual influyó para el análisis global de este lote. En los lotes K6 y K8 las frecuencias de los alelos son similares.

Para *Mdh-2* la frecuencia del alelo 100 disminuye de la talla menor hacia las mayores en las tres tallas del lote J y las dos del lote K. En los análisis globales de ambos lotes las frecuencias son muy similares.

En *Aat* sólo el lote J8 fue monomórfico, los demás lotes presentaron polimorfismo, en los lotes J6 y K6 las frecuencias de los alelos 50 y 100 fueron muy similares entre sí. En

el lote J10 disminuyó la frecuencia del alelo 100 porque aumentó la del 50. En los análisis globales el patrón de frecuencias fue similar.

IV.2.2. Medidas de variabilidad genética.

Se calcularon las siguientes medidas de variabilidad genética por locus: número promedio de alelos por locus, porcentaje de loci polimórficos (sin criterio), heterocigosidad con sesgo (H), heterocigosidad esperada (H_e), heterocigosidad observada (H_o); estos datos se presentan en las Tablas VIII y IX.

Tabla VIII. Medidas de variabilidad genética (error estándar entre paréntesis) de los lotes D, E, F, G y H de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

	Lote				
	D	**E**	**F**	**G**	**H**
Promedio de alelos por locus	1.8 (0.2)	2.1 (0.2)	1.7 (0.2)	1.8 (0.3)	1.8 (0.3)
% de loci polimórficos*	58.33	75.00	53.85	58.33	53.85
H	0.121 (0.049)	0.272 (0.063)	0.081 (0.047)	0.146 (0.060)	0.106 (0.045)
He	0.123 (0.050)	0.276 (0.064)	0.082 (0.047)	0.148 (0.061)	0.107 (0.045)
Ho	0.101 (0.047)	0.291 (0.090)	0.073 (0.039)	0.165 (0.068)	0.094 (0.037)

H= heterocigosidad con sesgo, He=heterocigosidad esperada, Ho=heterocigosidad observada * Sin criterio.

Tabla IX. Medidas de variabilidad genética (error estándar entre paréntesis) de los lotes J, K y Análisis Globales de estos lotes, de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

	Lote						
	J6	J8	J10	Global J	K6	K8	Global K
Promedio de alelos por locus	1.5 (0.2)	1.5 (0.2)	1.8 (0.3)	1.8 (0.3)	1.5 (0.2)	1.7 (0.3)	1.7 (0.3)
% de loci polimórficos*	38.46	45.45	46.45	41.70	38.46	50.00	33.33
H	0.079 (0.041)	0.120 (0.057)	0.144 (0.050)	0.117 (0.051)	0.063 (0.039)	0.100 (0.051)	0.077 (0.042)
He	0.080 (0.041)	0.121 (0.058)	0.145 (0.051)	0.117 (0.052)	0.064 (0.039)	0.100 (0.051)	0.077 (0.043)
Ho	0.065 (0.030)	0.127 (0.070)	0.155 (0.056)	0.111 (0.047)	0.056 (0.030)	0.093 (0.043)	0.069 (0.035)

H= heterocigosidad con sesgo, He=heterocigosidad esperada, Ho=heterocigosidad observada, * Sin criterio

En el análisis individual de los lotes D al H el número promedio de alelos por locus osciló entre 1.7 y 2.1. Respecto al porcentaje de loci polimórficos en estos lotes, el mayor lo tuvo el lote E seguido por los lotes G, D, H y F. Los tres tipos de heterocigosidad tuvieron valores muy cercanos, el mayor valor lo presentó el lote E seguido por los lotes G, D, H y F (Tabla VIII).

En los análisis de los lotes J y K por tallas (Tabla IX), el número promedio de alelos por locus osciló entre 1.5 y 1.8. El porcentaje de polimorfismo más alto lo presentó el lote K8, seguido de los lotes J10, J8, J6, y K6 con el mismo porcentaje. Los valores promedio por locus de heterocigosidad con sesgo y esperada fueron similares, mientras que los valores de heterocigosidad media observada fueron ligeramente diferentes de los dos

anteriores.

Los análisis globales de estos dos lotes (Tabla IX) muestran mayor porcentaje de polimorfismo en el lote J que en el K, de la misma manera los valores de los tres tipos de heterocigosidad son superiores en el lote J que en el K.

IV.2.3. Deficiencia de heterocigotos, Indice de Fijación y ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg

IV.2.3.1. Lotes de las Islas de Todos Santos.

Los coeficientes para la deficiencia o exceso de heterocigotos, el Indice de Fijación F_{IS} y valores de probabilidad para el ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg (HW) de los lotes D al H se presentan en la Tabla X.

En el lote D hubo deficiencia de heterocigotos en tres loci: *Est, Gpi* y *Pgm;* en el lote E en cinco loci: *Gpi, Pgm, Me, Lap-1* y *Lap-2;* en el lote F en dos loci: *Gpi* y *Pgm*; en el lote G en ningún loci; en el lote H en tres loci: *Gpi, Pgm* y *Lap-2* (Tabla X).

En cada lote se contabilizó el total del exceso (D+) y la deficiencia (D-) de heterocigotos y se les realizó la prueba de proporción 50:50 (Sokal y Rolhf, 1995). En ningún caso se encontró significancia estadística de que hubiera exceso o deficiencia de heterocigotos (Tabla X), al hacer la suma de las D+ y D- de los cinco lotes (D al H) se obtuvieron 18+ y 13- lo que tampoco fue significativo de acuerdo a la prueba de proporción.

Tabla X. Coeficientes para la deficiencia o exceso de heterocigotos y valores de probabilidad para el ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg (HW) en los lotes D al H de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V.".

	Lote				
Locus	D	E	F	G	H
Est					
n	37	53	53		79
D	-0.788	0.061	0.010		0.068
F_{IS}	0.786	-0.071	-0.019		-0.075
HW*	0.0029	1.0000	1.0000		1.0000
Ipp					
n	44			56	
D	0.048			0.037	
F_{IS}	-0.060			-0.047	
HW*	1.0000			1.0000	
Gpi					
n	53	54	54	56	81
D	-0.537	-0.084	-0.106	0.008	-0.056
F_{IS}	0.533	0.075	0.097	-0.017	0.050
HW*	<0.0001	0.0542	0.4317	0.0385	0.1714
Pgm					
n	47	54	52	54	78
D	-0.009	-0.280	-0.187	0.134	-0.235
F_{IS}	-0.001	0.273	0.179	-0.145	0.230
HW*	0.7770	0.0112	0.0103	0.5030	0.0405
Hk					
n	21	52			
D	0.058	0.720			
F_{IS}	-0.084	-0.737			
HW*	1.0000	<0.0001			
Me					
n		50		11	81
D		-0.304		0.235	0.025
F_{IS}		0.297		-0.294	-0.032
HW*		0.0411		1.0000	1.0000

Tabla X.
(Continuación)

Locus	Lote D	E	F	G	H
Ldh					
n		20			
D		0.773			
F_{IS}		-0.818			
HW*		0.0007			
Mdh-2					
n		54	54	56	
D		0.039	0.000	0.088	
F_{IS}		-0.049	-0.009	-0.098	
HW*		1.0000	♠	1.0000	
Lap-1					
n	33	10	35	14	43
D	0.016	-0.278	0.000	0.000	0.000
F_{IS}	-0.031	0.241	-0.014	-0.037	-0.012
HW*	1.0000	0.4800	♠	♠	♠
Lap-2					
n		24	53	21	63
D		-0.528	0.071	0.000	-0.194
F_{IS}		0.518	-0.082	-0.024	0.187
HW*		0.0157	1.0000	♠	0.0033
Aat					
n	32		23		60
D	0.033		0.000		0.001
F_{IS}	-0.049		-0.022		-0.010
HW*	1.0000		♠		1.0000
D+	4	4	2	5	3
D-	3	5	2	0	3
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

D+ = Exceso de heterocigotos, D- = Deficiencia de heterocigotos, F_{IS} = Indice de fijación, * $\alpha' = 0.0007$

♠ Sólo un heterocigoto por lo cual no se puede obtener el ajuste a HW.

El índice de fijación presentó valores positivos para *Est* en el lote D, para *Gpi* en los lotes: D, E, F y H. Para *Pgm* en los lotes E, F y H. En *Me* fue positivo sólo en el lote E, para

Lap-1 en el lote E, para *Lap-2* en los lotes E y H, y para *Aat* en ningún loci se obtuvieron valores positivos (Tabla X).

Respecto al ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg en estos lotes, hubo tres casos de desviación significativa (después del ajuste de Bonferroni): *Gpi* para el lote D, *Ldh* y *Hk* para el lote E.

IV.2.3.2. Lotes de Eréndira: J, K y análisis globales.

Los coeficientes para la deficiencia o exceso de heterocigotos, el Indice de Fijación F_{IS} y valores de probabilidad para el ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg (HW) de los lotes J y K por tallas, así como los análisis globales de estos dos lotes se presentan en la Tabla XI.

Para *Pgm* hubo deficiencia de heterocigotos en todas las tallas de los lotes J y K y en el Global de cada lote, en *Hk* en el lote J8, para *Me* únicamente en J6, para *Gpi* y *Mhd-2* en ningún lote, y para *Aat* en el lote K8 y el global del lote K.

La prueba de proporción 50:50 para D+ y D- (Sokal y Rohlf, 1995) indicó que ningún caso fue significativo, a pesar de que aparentemente existió una tendencia hacia el exceso de heterocigotos en estos lotes (Tabla XI). Al sumar las D+ y las D- de los lotes J6 al K8 se obtuvieron 18+ y 8-, lo cual no fue significativo.

Tabla XI. Coeficientes para la deficiencia o exceso de heterocigotos y valores de probabilidad para el ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg (HW) en los lotes J y K de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

	Lote						
Locus	J6	J8	J10	Global J	K6	K8	Global K
Gpi							
n	70	66	70	206	103	101	204
D	0.053	0.040	0.077	0.061	0.028	0.058	0.044
F_{IS}	-0.061	-0.048	-0.085	-0.063	-0.033	-0.064	-0.047
HW*	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Pgm							
n	63	60	66	189	96	94	190
D	-0.302	-0.200	-0.310	-0.271	-0.238	-0.174	-0.208
F_{IS}	0.297	0.194	0.305	0.269	0.234	0.170	0.205
HW*	0.0041	0.0270	0.0180	<0.0001	0.0049	0.0660	<0.0001
Hk							
n		49	60	♣			
D		-0.791	0.172				
F_{IS}		0.789	-0.181				
HW*		0.0016	0.4711				
Me							
n	50	39	48	137	65	80	145
D	-0.250	0.465	0.257	0.045	0.066	0.089	0.082
F_{IS}	0.242	-0.484	-0.270	-0.048	-0.074	-0.096	-0.086
HW*	0.1260	0.0066	0.0855	0.7090	1.0000	1.0000	0.6010
Mdh-2							
n	58	29	52	139	66	64	130
D	0.045	0.075	0.108	0.082	0.008	0.016	0.016
F_{IS}	-0.055	-0.094	-0.118	-0.086	-0.015	-0.024	-0.020
HW*	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Aat							
n	50		43	102	54	92	146
D	0.042		0.181	0.097	0.039	-0.077	-0.046
F_{IS}	-0.053		-0.194	-0.103	-0.049	0.072	0.043
HW*	1.0000		0.5708	0.5957	1.0000	0.4140	0.4651
D+	3	3	5	4	4	3	3
D-	2	2	1	1	1	2	2
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

D+ = Exceso de heterocigotos, D- = Deficiencia de heterocigotos, F_{IS} = Indice de fijación, * $\alpha' = 0.0007$.

♣ Se eliminó del análisis global por ser significativo.

El índice de fijación tuvo valores negativos en *Gpi* para todos los lotes; en el lote J10 para el locus *Hk*. Para *Me* en todos las tallas excepto en el lote J6, para *Mdh-2* en todos los lotes y por último para *Aat* fue negativo para los lotes J6, J10, Global J y K6 (Tabla XI). Referente al ajuste a HW sólo *Pgm* presentó una desviación al modelo (después del ajuste de Bonferroni) para los análisis globales de los lotes J y K.

IV.3. Heterocigosidad individual y Relación heterocigosidad-talla.

Los valores de heterocigosidad individual para cada lote y clase de talla se calcularon independientemente de los paquetes BIOSYS y GENEPOP, por lo que, los valores promedio de cada lote se presentan en la Tabla XII.

En los lotes D al H, la heterocigosidad individual fue mayor en el lote E, seguida de los lotes G, D, H y F; debido a que estos valores no cumplían los requisitos para un ANDEVA, se realizaron dos pruebas no paramétricas: la prueba de la mediana y la prueba de Kruskal-Wallis utilizando el paquete MINITAB ver. 10.2. Ambas pruebas indicaron diferencias significativas (KW: H=79.35, g.l.= 4, $p<0.001$; Mediana: $x^2_{(4)}= 52.84$, $p<0.001$) entre la heterocigosidad individual de estos lotes.

En el lote J la heterocigosidad individual fue menor en la talla 6 seguida de las tallas 8 y 10. Debido a que no cumplía los requerimientos para un ANDEVA, se realizaron las mismas pruebas que en los lotes D al H, y se encontraron diferencias significativas (KW: H=23.05, g.l.= 2, $p<0.001$; Mediana: $x^2_{(2)}= 18.05$, $p<0.001$) entre las tres tallas.

En el lote K se practicó una prueba de "t" para las tallas 6 y 8, y mostró que no existieron diferencias significativas ($t_{(202)}$= 0.52, p= 0.60) entre la heterocigosidad individual de estos dos lotes.

Tabla XII. Valores promedio de la heterocigosidad individual de los lotes D al K8 de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

Lote	Promedio de la heterocigosidad individual
D	0.137
E	0.267
F	0.079
G	0.178
H	0.104
J6	0.091
J8	0.160
J10	0.218
K6	0.109
K8	0.100

Los resultados de los parámetros de la regresión lineal de la heterocigosidad individual por conteo directo contra la marca de clase del largo (mm) y el valor de probabilidad para todos los lotes se muestran en la Tabla XIII y la Figura 2, las tablas del resumen de la regresión y el ANDEVA se presentan en el Apéndice 3.

Sólo un caso fue significativo con un α'= 0.00417, el análisis Global del lote J, indicando una tendencia de mayor grado de heterocigosidad a una mayor talla, donde el modelo explica el 14% de la varianza observada. En los demás casos no hay evidencias estadísticas que indiquen esta tendencia.

Tabla XIII. Parámetros de la regresión lineal de la heterocigosidad individual por conteo directo contra la marca de clase del largo (mm) y valor de probabilidad de que la pendiente sea igual a cero, para los organismos de los lotes D, E, F, G, H, J y K de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

Lote	n	b_0	b_1	r^2	p*
D	53	0.1452	-0.0016	0.0002	0.911
E	54	0.2211	0.0011	0.0064	0.562
F	54	41.8679	3.4154	0.0015	0.775
G	56	31.1307	9.5688	0.0292	0.207
H	81	24.9799	2.9874	0.0056	0.503
J6	70	-0.0783	0.0273	0.0415	0.090
J8	67	-0.2698	0.0571	0.0716	0.028
J10	70	-0.2188	0.0367	0.0534	0.054
Global J	207	-0.0335	0.0221	0.1413	<0.001
K6	103	0.2421	-0.0201	0.0127	0.256
K8	101	0.0619	0.0044	0.0014	0.704
Global K	204	0.1537	-0.0066	0.0040	0.366

b_0= Ordenada al origen, b_1= Pendiente *α'= 0.00417.

Tabla XIV. Parámetros de la regresión lineal de la heterocigosidad individual por conteo directo contra la marca de clase del peso total (g) y valor de probabilidad de que la pendiente sea igual a cero, para los organismos de los lotes D, E, F, G, H, J y K de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V."

Lote	n	b_0	b_1	r^2	p*
D	53	0.1397	-0.0001	0.0002	0.907
E	54	0.2591	0.0008	0.0023	0.727
F	54	0.0693	0.0007	0.0024	0.720
G	56	0.1508	0.0052	0.0176	0.328
H	81	0.0814	0.0093	0.0087	0.406
J6	70	0.0415	1.3445	0.0203	0.238
J8	67	0.0327	2.0163	0.1001	0.009
J10	70	0.0359	0.7978	0.0758	0.020
Global J	207	0.0877	0.6218	0.1437	<0.001
K6	103	0.1572	-1.1331	0.0114	0.281
K8	101	0.0838	0.2099	0.0022	0.634
Global K	204	0.1177	-0.2288	0.0449	0.523

b_0= Ordenada al origen, b_1= Pendiente, *α'= 0.00417.

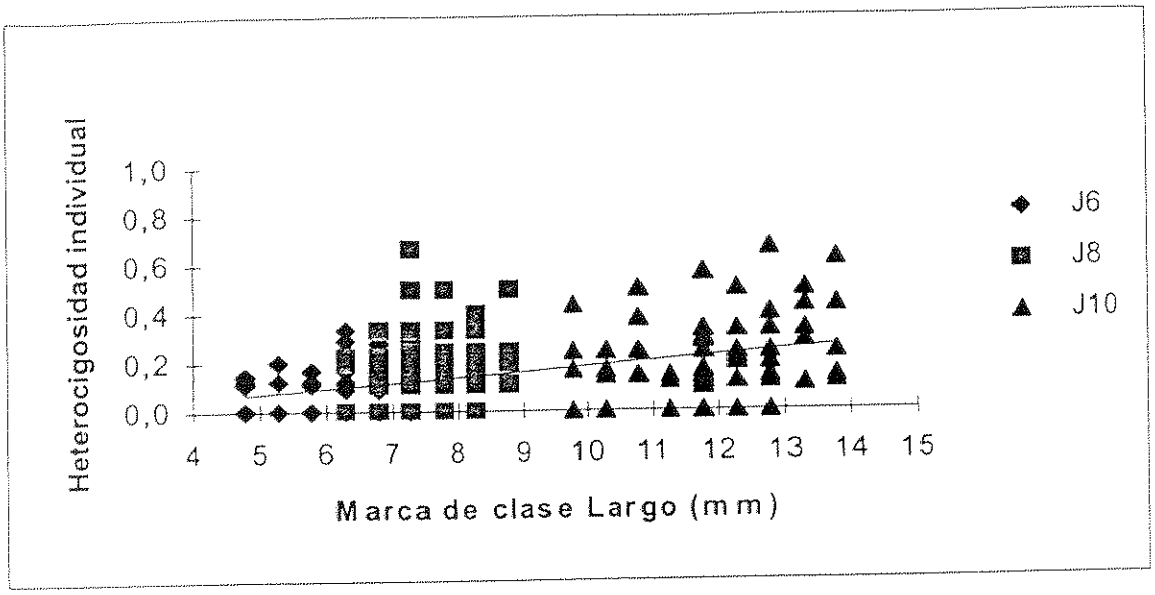

Figura 2. Regresión lineal de la heterocigosidad por conteo directo contra el largo (cm) en el análisis global del lote J de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V.". r^2=0.1413.

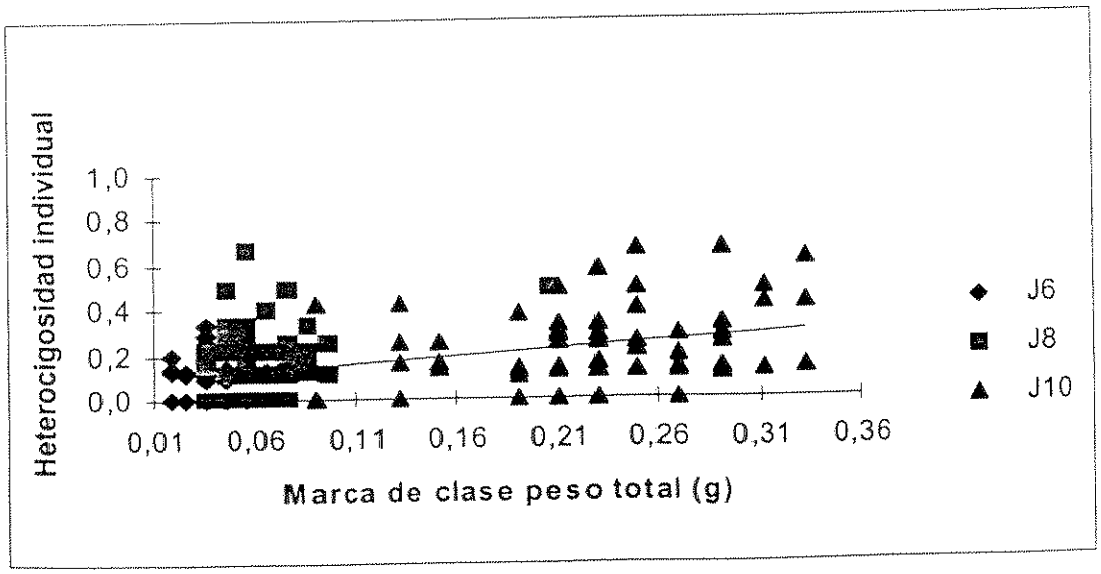

Figura 3. Regresión lineal de la heterocigosidad por conteo directo contra el peso total (g) en el análisis global del lote J de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. de C. V." r^2=0.1437.

Al realizar el análisis de la heterocigosidad individual por conteo directo contra la marca de clase del peso total (g) se obtuvo el mismo resultado significativo en el análisis global del lote J, lo cual confirma una tendencia de mayor grado de heterocigosidad a una mayor talla en este lote (Tabla XIV, Figura 3). Las tablas del resumen de la regresión y el ANDEVA se presentan en el Apéndice 4.

IV.3.1 Relación genotipos-talla.

Con la finalidad de probar si existió alguna relación entre la talla (largo y peso total) y los genotipos se realizaron ANDEVAS de una vía para cada locus, en el cual sólo *Me* en el lote 10 fue significativo para el largo (Apéndice 5) ($F_{(2,45)}$=10.255, p=<0.0001) y para el peso total ($F_{(2,45)}$=8.688, p=<0.0001), esto indicó que en el lote J10 la talla (largo y peso total) pueden depender del genotipo en este locus en particular. Al realizar las pruebas *a posteriori* se encontró que los organismos con el genotipo 80-100 alcanzaron una talla promedio mayor, tanto en largo como en peso total, seguidos de los organismos homocigotos 80-80, siendo los homocigotos para el alelo 100 los que tuvieron una talla promedio menor (Tabla XV). Sin embargo, las diferencias de talla no fueron significativas entre los homocigotos 80-80 y los heterocigotos 80-100, ni entre los homocigotos 80-80 y los 100-100, únicamente existieron diferencias significativas entre los organismos heterocigotos 80-100 y los homocigotos 100-100.

Tabla XV. Genotipos y tallas promedio del largo (mm) y peso total (g) en el lote J10 de *Haliotis rufescens* de "Abulones Cultivados S. A. De C. V."

Medida	Genotipo	n	Promedio de talla
Largo	80-100	12	12.281 [a]
	80-80	30	11.398 [a b]
	100-100	6	9.990 [b]
Peso total	80-100	12	0.245 [a]
	80-80	30	0.204 [a b]
	100-100	6	0.144 [b]

n=número de organismos, letras iguales indican igualdad entre grupos.

V. DISCUSION.

V.1 Análisis Morfométrico.

Hasta la fecha no se cuenta con reportes acerca de las medidas morfométricas más importantes (desde el punto de vista comercial) de abulón a diferentes edades, por lo que los resultados del presente estudio significan un avance que puede beneficiar al productor logrando un mejor manejo de los lotes en crecimiento.

El conocimiento de la forma de crecimiento (alométrico e isométrico) que tienen los organismos sujetos a cultivo es un área que, hasta el momento, ha sido poco explorada. Sin embargo, puede ayudar a mejorar el manejo en una granja de cultivo, por ejemplo, estableciendo límites dentro de los cuales se podrían considerar talla y edad óptimos. De esta manera se podrían eliminar los organismos que no incrementan en las medidas deseadas (largo y peso), ya que en el caso de la comercialización del abulón, los organismos deben contar con una talla mínima, la cual si no se alcanza en un tiempo razonable, se traducirá en pérdidas para la empresa, debido a que el mantenimiento de estos organismos es sumamente costoso.

Las medidas morfométricas han sido estudiadas con diferentes enfoques en varias especies de moluscos, por ejemplo en la almeja *Transennella tantilla* se encontró una relación alométrica entre el número de crías producidas y la longitud de la concha (Kabat, 1985), en *Mytilus* se observó que el peso se incrementa poco o no se incrementa en relación a la longitud en la etapa adulta (Seed, 1968), en *Tivela* se tuvo una alometría con un valor de la pendiente mayor a 3 debido a la delgadez de sus valvas, en *M. lateralis* y *Nucula*

proxima el valor de la pendiente de la relación peso-largo, fue de 2.57 y 2.75 respectivamente indicando que su densidad disminuye durante la ontogenia (Levington y Bambach, 1970). Thayer (1975) cita algunos valores de la pendiente entre medidas morfométricas para algunos bivalvos bentónicos en relación a la densidad, si la pendiente es mayor de 3 la densidad incrementa durante la ontogenia, y si es menor a 3 la densidad disminuye. Del Río-Portilla (1991) encontró que en juveniles de *Pteria sterna* el crecimiento es isométrico en el largo con respecto al eje de crecimiento máximo, mientras que en el ancho y el ala fueron alométricos, con estos resultados pudo concluir que el crecimiento de en estos organismos se da en un plano teniendo como ejes principales el eje de crecimiento máximo y el largo.

Acerca de estudios que relacionen medidas morfométricas en abulón, se tiene conocimiento del realizado con *H. iris* por McShane *et al.* (1994) quienes encontraron correlación entre largo-ancho (r^2=0.94), largo-alto (r^2=0.73), largo-peso del pie (r^2=0.71) y largo-peso total (r^2=0.72); y del realizado con *H. kamtschatkana* por Donovan y Carefoot (1997) en el cual encontraron una relación isométrica entre la cantidad de moco secretada y el área del pie durante la locomoción (pendiente=1.08), una relación alométrica entre el área del pie y la longitud de la concha lo cual indicó que la planta del pie se incrementa en mayor proporción que la talla.

En los lotes de "Abulones Cultivados" que se analizaron, la relación peso concha-largo fue la única que mantuvo un comportamiento homogéneo (alometría negativa) en todos los lotes. Esto indicó que durante la edad comprendida en este estudio (lote D: 27 meses, lote H: 17 meses) el peso de la concha incrementa en menor proporción que el

largo, lo cual es característica de organismos juveniles en los cuales conforme avanza su edad el crecimiento es proporcionalmente mayor en el alto, como se demostró para *Pinctada maxima* y *P. fucata* (Alagarswami y Chellam, 1977).

En los demás parámetros no se observó un patrón claro en los tipos de crecimiento, por ejemplo: en la relación alto-largo hubo dos tipos de crecimiento: alométrico negativo, es decir, incrementó más en largo que en alto en los lotes de mayor edad (27 meses); mientras que en los lotes F y H el incremento en ambos parámetros fue proporcional (isométrico). Estos tipos de crecimiento diferentes quizá deban su disparidad de resultados a la escala utilizada al medir el alto (mm) ya que difícilmente se podía usar el vernier electrónico y se optó por hacer la medición manualmente con una precisión de 0.5 mm, a diferencia de el resto de las mediciones cuya precisión era hasta centésimas de milímetro.

El encontar un patrón de comportamiento en el alto pudo haber sido una condición importante, ya que se puede utilizar para determinar el volumen interno de los abulones y probablemente hacer una estimación del callo, pero el peso total y el largo en las condiciones que se trabajaron, mostraron una mejor aproximación al respecto. El peso del callo no se consideró por la dificultad al separarlo de las vísceras, esto debido a las tallas pequeñas con las que se trabajaron.

Otra tendencia aparente fue en la relación isométrica ancho-largo en los lotes de 19 a 17 meses (F al H), excepto para un lote de 27 meses (E), el cual aumentó en mayor proporción en el ancho que en el largo. De la misma manera que para la relación isométrica peso total-largo en los lotes E al H (27 a 11 meses) que indicó que ambas mediciones se incrementaron en igual proporción (isométrica) en este rango de edades.

Los organismos de mayor edad (27 a 21 meses, lote D al F) incrementaron el peso desconchado y el largo en igual proporción.

Respecto a los organismos provenientes de Eréndira (lotes J y K), a la edad de 7 meses el tipo de crecimiento que presentaron fue de tipo alométrico negativo, a excepción del lote K6, el cual incrementó en mayor medida en el peso total que en el largo.

La alometría negativa se suele observar en organismos juveniles quienes canalizan su energía al aumento de talla y posteriormente, cuando se aproximan a la madurez, incrementan la biomasa y el peso de la concha (Alagarswami y Chellam, 1977).

Los coeficientes de determinación fueron en su mayoría aceptables, ya que las pendientes de relaciones lineales (alto-largo, ancho-largo) estuvieron cercanas a uno, mientras que las pendientes de relaciones volumétricas (peso total, de la concha o desconchado-largo) estuvieron cercanas a tres.

De manera general, se puede afirmar que los parámetros de regresión propuestos son útiles para predecir una talla aproximada, los modelos propuestos explican entre el 64 y el 98% de los datos. Para el suministro de alimento artificial en un cultivo se suele medir únicamente el largo de los organismos, y para precisar la cantidad de alimento que se va a proporcionar es necesario conocer el peso aproximado, por lo que, además, contando con la edad de los organismos se puede predecir su talla utilizando las ecuaciones propuestas en este estudio.

En el presente trabajo se desconoce la influencia de otro tipo de factores, tales como las propias condiciones físico, químico o biológicas, dentro de las que sería importante relacionar los aspectos genéticos y nutricionales, de manera que sería importante realizar un estudio para conocer el efecto de estos factores.

V.2. Análisis Genético.

V.2.1. Utilización de la Técnica.

Al realizar las electroforesis se obtuvieron las siguientes ventajas: 1) Se analizaron un gran número de muestras y loci, a un costo y grado de toxicidad menores en comparación con otras técnicas de análisis genético (Hoelzel y Dover, 1991; Parker *et al.*, 1998). 2). Con un número reducido de muestras (53 a 81 organismos) se pudo conocer la variabilidad genética de los lotes de la Empresa. 3). De 13 loci analizados se obtuvo un 52% de polimorfismo.

Entre las desventajas en el desarrollo de la técnica se han reportado las siguientes: 1) La resolución es muy sensible a las características del amortiguador y del medio; para optimizar la técnica se debe probar el efecto de diferentes medios y combinaciones de amortiguadores que se relacionan con el tamaño del poro. De manera que la optimización de las técnicas de corrimiento electroforético y de tinción es complicada. 2). La interpretación de los zimogramas es complicada ya que, por ejemplo, muchas enzimas están compuestas de más de un polipéptido, estas enzimas multiméricas presentan bandas híbridas en la condición heterocigótica. Cuando la intensidad de la tinción es simétrica entre todos los alelos en el heterocigoto, la interpretación es sencilla. Sin embargo, algunas veces los alelos tienen diferente actividad enzimática y por lo mismo diferencias en la intensidad de tinción (Hoelzel y Dover, 1991). 3). Cuando las especies son monomórficas para la mayoría de las enzimas el uso de alozimas es limitado, en estos casos no se recomienda su uso como marcadores genéticos y no se pueden utilizar para la identificación individual de los organismos en la mayoría de los sistemas.

No obstante, a las desventajas anteriormente mencionadas, la electroforesis de alozimas juega un papel importante en muchas disciplinas biológicas por la facilidad de su manejo y por la naturaleza de los datos que se obtienen (May, 1992).

V.2.2. Frecuencias alélicas.

En la Empresa "Abulones Cultivados" uno de las principales limitantes ha sido que, a pesar de que cuenta con un grupo de varios reproductores, en algunas ocasiones no maduran sincrónicamente o no aportan la misma proporción de gametos, lo cual puede ocasionar una disminución de la variabilidad genética en las crías. Adicionalmente, no todos los reproductores se tienen identificados.

En los primeros desoves que se realizaron en la Empresa, se agrupaban de acuerdo a su talla y en muchas ocasiones se mezclaron varias generaciones de diferente origen, pero que tenían talla similar. Para obtener resultados más consistentes, se evitó muestrear lotes provenientes de esos primeros desoves y se tomaron organismos de progenitores de origen conocido, aunque se desconoció su aporte proporcional de gametos.

Los análisis alozímicos de abulón rojo *Haliotis rufescens* cultivado mostraron que en tres loci: *Idh, Ldh* y *Mdh-1* hubo monomorfismo en todos los lotes, similarmente a lo encontrado para varias especies de haliótidos: *H. rufescens* y *H. corrugata* cultivados en California, E. U. A. y para *H. fulgens* (Brown, 1993), para *H. iris* cultivado y silvestre de Nueva Zelanda (Smith y Conroy, 1992) y para *H. tuberculata* cultivado y silvestre de Irlanda (Mgaya *et al.*, 1995).

Algunos lotes fueron monomórficos, pero en general, la mayoría de loci analizados para *H. rufescens* en este estudio fueron polimórficos similarmente a lo encontrado para otras especies de abulón como se muestra en la Tabla XVI.

La obtención de loci monomórficos podría indicar una pérdida de alelos raros y/o fijación de los alelos más comunes (deriva génica), a pesar del adecuado Ne utilizado en los desoves. Por lo que si se contara con análisis alozímicos más completos de abulón rojo proveniente de poblaciones naturales (sólo existe el de Gaffney *et al.*, 1996 con 4 loci), se tendría un punto de comparación para verificar si los loci que fueron monomórficos en este estudio se comportan como polimórficos en organismos silvetres, como se hizo para *H. iris* (Smith y Conroy, 1992) o para *C. gigas* (Gosling, 1982).

En el presente estudio no se pudieron muestrear poblaciones naturales de abulón rojo para poder compararlas con el cultivo, ya que, existe una reducción importante de las poblaciones naturales debido a la sobrexplotación que sufrieron en años anteriores. En la actualidad existe una veda temporal de esta especie del 1o. de agosto al 31 de diciembre de cada año (SEMARNAP, 1996).

Al detectar la pérdida de alelos raros en un cultivo se puede conocer el grado de variación genética que se ha mantenido respecto a la población natural, ya que es un punto de referencia mucho más confiable que la heterocigosidad, el porcentaje de loci polimórficos o el promedio de alelos por locus (Hedgecock y Sly, 1990). Adicionalmente con el análisis genético de las poblaciones silvestres de abulón rojo, se podría corroborar si ha ocurrido un cambio significativo de las frecuencias alélicas en los organismos cultivados, como en el estudio de Hedgecock y Sly (1990) en ostión *C. gigas* o el de Dillon y Manzi (1987) con *Mercenaria mercenaria* en los cuales no se encontró reducción en la

heterocigosidad gracias a que se utilizó un adecuado número de progenitores: 30 a 60 en *M. mercenaria* y 72-76 en *C. gigas*.

Tabla XVI. Comparación de los resultados obtenidos en diferentes loci para varias especies de abulón con los resultados de abulón rojo en el presente estudio.

Loci	*H. corrugata* Ca (c)	*H. fulgens* Ca. (s) / Baja Ca (s)	*H. iris* UK (s) / (c)	*H. rufescens* Ca (c) / Ca (c) / Ca (s)	*H. rubra* Australia (s)	*H. tuberculata* Irlanda (s) / (c)	*H. rufescens* B. Ca (c)
Aat-1	m	m		m / p / p	P		p
Aat-2	m	m		m	P		
Est			m / m				p
Gpi	m	m	m / p	p / p / p	P	p / p	p
Idh-1	m	m		m	P	m / m	m
Idh-2	m	m		m	M		
Lap-1		/ p	m / m				p
Lap-2		/ p					p
Ldh	m	m / p	m / m	m	M	m / m	m
Me		/ p					p
Mdh-1	m	m / p-m		m / p / p	P	p / p	m
Mdh-2	m	m / p-m			P		
Pgm	m	p	p / p	p / p / p	P	p / p	p
Autor	Brown, 1993.	Brown, 1993 / Rodriguez, 1996.	Smith y Conroy, 1992.	Brown, 1993 / Gaffney *et al*, 1996 / Gaffney *et al*, 1996.	Brown, 1991.	Mgaya *et al*., 1995.	Este estudio

(s) = silvestre, (c) = cultivado, m= monomórfico, p= polimórfico.

A pesar de que no se conocen ampliamente las frecuencias genéticas del abulón rojo silvestre y cultivado, los resultados obtenidos para otras especies de abulón han mostrado que, en general, los haliótidos cultivados presentan una reducción de la variabilidad genética en comparación con las poblaciones silvestres (Gaffney *et al.*, 1992; Smith y Conroy, 1992; Mgaya *et al.*, 1995). Con los resultados de este trabajo se pudo inferir que la variabilidad genética de los lotes analizados es, aparentemente, producto de un manejo adecuado en cuanto al número de reproductores utilizado para producirlos, pero a pesar de ello, sería conveniente incrementar el número de reproductores.

En este trabajo se observó que, en general, las frecuencias alélicas se mantuvieron similares entre lotes y la frecuencia del alelo más común, al menos para *Aat, Gpi, Mdh* y *Pgm* fue similar a la de abulón rojo silvestre y cultivado en California, E.U. A. (Gaffney *et al.*, 1996).

Los únicos cambios sustanciales de las frecuencias alélicas se dieron en *Me* (el alelo 80 con una frecuencia mayor a la del alelo 100) en los lotes G y J10, y en *Ldh* (fue polimórfico sólo en el lote E).

V.2.3. Medidas de variabilidad genética.

El número promedio de alelos por locus que osciló entre 1.5 y 2.1 para 13 loci (1.7 en promedio) estuvo por debajo de lo reportado para *H. tuberculata* en 3 loci (3.0) (Mgaya *et al.*, 1995), para *H. rubra* silvestre (2.5) (Brown, 1991; Brown y Murray, 1992) y para *H. laevigata* silvestre (2.7) (Brown y Murray, 1992). Sin embargo, el número promedio de alelos fue superior al reportado para *H. rufescens* cultivado en California, E. U. A. (1.4 para 11 loci) (Brown, 1993). El porcentaje de loci polimórficos, que osciló entre 38.5 y 75%

(52% en promedio para 13 loci) en el presente trabajo, fue superior al reportado por Brown (1993) en el cultivo de California, E. U. para 11 loci (25%). El mayor porcentaje de loci polimórficos (75%) y el mayor promedio de alelos por locus (2.1) se observó en el lote E.

El valor promedio de la heterocigosidad esperada (0.123) fue ligeramente inferior al de *H. rubra* silvestre (0.147) (Brown, 1991; Brown y Murray, 1992), inferior al de *H. laevigata* silvestre (0.207) (Brown y Murray, 1992) y superior al de *H. rufescens* cultivado en California, E. U. A. (0.083) (Brown, 1993), pero estos resultados deben interpretarse cuidadosamente, ya que al parecer pueden indicar una variabilidad genética elevada, pero, la heterocigosidad es una medida de variabilidad genética que resulta insensible a los cambios genéticos que se dan en un cultivo en las primeras generaciones (Mgaya *et al.*, 1995; Hedgecock y Sly, 1990). Se considera que en cada generación la heterocigosidad promedio en una población de tamaño N, disminuye 1/2N, en ausencia de mutación, selección y migración (Wright, 1931). Por lo que debe tomarse en consideración el número de reproductores empleados en los desoves, ya que el tamaño efectivo de la población puede reducirse si se tiene una proporción diferente de machos y hembras reproductores, por ejemplo si se tiene sólo una hembra con diez machos el tamaño efectivo es solamente de 3.6 individuos (Smith y Conroy, 1992); por estos motivos es importante asegurarse de que se emplee aproximadamente la misma proporción de hembras que de machos durante los desoves (Espinosa de los Monteros y Labarta, 1987).

Si se deseara mantener en la primera generación (abulón) el 99% de la variabilidad genética, se necesitarían 50 machos y 50 hembras en los desoves, mientras que, para asegurar el 95% Smith y Conroy (1992) afirmaron que se necesitarían tan sólo 5 machos y 5 hembras. Por lo tanto si el promedio de Ne en los lotes muestreados fue de 24.5, se estaría

asegurando un 96% de variabilidad genética en la siguiente generación. No obstante lo anterior, no se recomienda el uso de pocos reproductores ya que esto puede traer consecuencias futuras, tal y como sucedió en el camarón *Penaeus japonicus,* donde en una generación sólo se utilizó un Ne entre 2 y 4 individuos por generación y después de 7 generaciones se obtuvo una depresión endogámica (Sbordoni *et al.*, 1986).

El Ne promedio en los lotes de "Abulones Cultivados" fue inferior al de *H. tuberculata* cultivado en Irlanda Mgaya *et al.* (1995) en el que se reportó un Ne= 48 (20 machos, 30 hembras) y Ne= 54.5 (25 machos 30 hembras). Sin embargo, no tan sólo es importante el Ne, sino la cantidad de gametos que aporta cada uno de los reproductores, ya que como se ha visto para *H. iris* (Tong y Moss, 1991) a pesar de que se usaron 8 machos y 10 hembras en los desoves, algunos machos presentaron diferencias en la movilidad del esperma, lo cual afectó el Ne. Se ha demostrado que para evitar la pérdida de variabilidad genética en un cultivo, no es recomendable mezclar el esperma de los machos y posteriormente adicionarlo a la mezcla de óvulos (Withler, 1988) ya que el tamaño efectivo (Ne) puede reducirse debido a la participación desproporcionada de los gametos masculinos; lo recomendable es realizar la fertilización individual en proporción de 1:1 para que cada uno de los progenitores participe en el desove. Gaffney *et al.* (1992) propusieron separar los gametos femeninos en recipientes y posteriormente agregar a cada uno el esperma proveniente de un macho, con esto se aseguraría que cada macho producirá el mismo número de crías. Por otra parte, se han reportado casos en los que al mezclar proporciones iguales de óvulos de mejillón, el número de crías no guarda dicha proporción, es decir, existe un efecto materno en la sobrevivencia de las crías (del Río-Portilla y Beaumont, 1999).

V.2.4. Deficiencia de heterocigotos, Indice de Fijación y ajuste al Modelo de Hardy-Weinberg.

Los valores del coeficiente de deficiencia de heterocigotos (D) para *Gpi, Pgm, Mdh* y *Aat* fueron similares a los reportados en el cultivo de *H. rufescens* en California (Gaffney *et al.*, 1996). En el presente estudio la deficiencia de heterocigotos pudo deberse a tres causas: primero; por la selección en contra de un alelo o genotipo en particular, segundo: por la presencia de alelos nulos (aquellos que no producen un producto polipeptídico o este no tiene actividad catalítica), tercero: por la aportación desproporcional de gametos en el momento del desove.

La selección en contra de un alelo se ha probado para algunas especies, por ejemplo se ha reportado que la homocigosidad en ciertos loci de moluscos marinos favorece el asentamiento larvario, con lo cual la heterocigosidad ofrece una ventaja selectiva (Singh y Green, 1984). En *Mercenaria mercenaria* la heterocigosidad multilocus (MLH) ofrece una ventaja de sobrevivencia para los organismos intermareales (Pecon-Slattery *et al.*, 1993), mientras que el alelo *Lap* ^{94} favorece la sobrevivencia de *Mytilus edulis* sometido a salinidades bajas (Hilbish, 1985).

La existencia de alelos nulos, común entre moluscos bivalvos, aún no se ha probado en gasterópodos; no obstante, entre los bivalvos se ha propuesto como una causa de correlación entre heterocigosidad y crecimiento, viabilidad y fecundidad (Zouros y Mallet, 1989; Zouros y Pogson, 1994). Ya que, la presencia de alelos nulos puede disminuír la eficiencia comparando con otros genotipos, por ejemplo, Gaffney (1994) encontró que en *Mulinia lateralis* los organismos heterocigotos para alelos nulos tienen una viabilidad y

crecimiento ligeramente reducidos, aunque no significativamente. Sin embargo, Hoare y Beaumont (1995) encontraron que en *M. edulis* los genotipos heterocigotos con alelos nulos para *Odh* y *Gpi*, crecen más rápidamente que los homocigotos con alelos nulos, pero estas diferencias no son significativas, además, a diferencia de lo reportado por Zouros *et al.* (1980), encontraron que los alelos nulos en condición homocigótica no tienen efectos letales. Asimismo, Del Río-Portilla y Beaumont (1999) no encontraron una diferencia significativa en organismos de rápido y lento crecimiento que presentaban alelos nulos.

A partir de lo anterior, en el caso de abulón cultivado sería de gran importancia detectar ya sea un efecto positivo o negativo de los alelos nulos, para mantenerlo o evitarlo en la progenie producida en granjas de cultivo.

Las tres posibles causas de deficiencia de heterocigotos (selección, alelos nulos y aportación desproporcional de gametos) no se pudieron probar con el presente estudio, sin embargo la primera podría evidenciarse mediante el análisis genético de las poblaciones en diferentes etapas de desarrollo y la segunda se podría detectar con análisis genéticos de familias sencillas (Foltz, 1996) en las que alguno de los padres tenga alelos nulos, en la progenie se observará que el genotipo heterocigoto para el alelo nulo se presentará como homocigoto en el zimograma, mientras que los homocigotos para alelos nulos no mostrarán bandas en el gel. Respecto a la cantidad de gametos que aportaron los reproductores en los desoves, la empresa no cuenta con esos registros.

El exceso de homocigotos encontrado para algunos loci coincide con lo encontrado para muchas especies de moluscos marinos (Singh y Green, 1984). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el exceso de homocigotos puede deberse a interpretaciones inadecuadas en los zimogramas, ya que cuando se tienen alelos nulos el heterocigoto se

muestra idéntico al homocigoto, en estos casos habrá una aparente deficiencia de heterocigotos (o exceso de homocigotos) en los análisis alozímicos (Holzel y Dover, 1991).

En los lotes D al H (27-17 meses) no se observó tendencia hacia el exceso o deficiencia de heterocigotos, y fue contrario a los lotes de 7 y 8 meses (J y K) en los cuales la tendencia fue hacia el exceso de heterocigotos. Esto se puede explicar por el hecho de que los organismos en crecimiento (edades tempranas, lotes J y K) presentan exceso de heterocigotos con mayor frecuencia que los organismos juveniles o cercanos a la etapa adulta (Zouros y Foltz,1984; Diehl y Koehn, 1985; Volkaert y Zouros, 1989), como se ha probado en algunas especies de moluscos, como en *C. virginica* (Singh, 1982) o en *Chlamys opercularis* (Beaumont, 1982 y 1984).

En el presente estudio no pudo seguir el modelo de Herencia Mendeliana, debido a que se desconoce el genotipo de los reproductores, sin embargo, debido a la cantidad de progenitores utilizados en los desoves (mínimo 10, máximo 56) solamente se podría tener una aproximación de sus genotipos. La mayor parte de loci se ajustaron al Modelo de Hardy-Weinberg, sólo tres casos mostraron desviación significativa después del ajuste de Bonferroni, un caso por deficiencia (*Gpi* en el lote D) y dos por exceso (*Ldh* y *Hk* en el lote E) de heterocigotos, por estos resultados se puede pensar que los lotes de abulón de la Empresa se encuentran en equilibrio y que las cruzas han sido aleatorias, sin embargo sería conveniente analizar a organismos de edades más avanzadas, y probar su eficiencia ante condiciones cambiantes en el medio.

Las medidas de variabilidad genética de los lotes analizados no difieren mucho de las reportadas para abulón rojo silvestre (Gaffney *et al.*, 1996) y cultivado (Brown, 1993 y Gaffney, *et al.*, 1996), considerando que se analizó aproximadamente un 21% de los lotes de las Islas de Todos Santos correspondiente al 0.015% de los organismos, se puede inferir que los lotes se mantienen en equilibrio y que la variabilidad genética (elevada para un cultivo) que poseen se debe principalmente a la utilización de un adecuado número de reproductores en los desoves.

V.2.5. Relación heterocigosidad-talla y genotipos-talla

El encontar una correlación entre heterocigosidad y eficiencia depende fundamentalmente de la función de la enzima, es decir, del papel que desempeñe en las rutas metabólicas. Por ejemplo, las enzimas involucradas en el catabolismo proteico, glicólisis o las rutas metabólicas asociadas a ella (preglicolíticas) tienen mayor importancia al relacionarlas con la heterocigosis (Zouros y Pogson, 1994).

Dependiendo del estado del ciclo de vida en el que se encuentren los individuos examinados (o del estilo de vida de las especies) (Volkaert y Zouros, 1989) la eficiencia en la conversión de energía se reflejará en crecimiento, acumulación de depósitos de energía, tamaño de la gónada (Rodhouse *et al.*, 1986) o actividad locomotora (Garton, 1984).

La relación entre heterocigosidad y aptitud (fitness) entre invertebrados no es predecible ni general (Volckaert y Zouros, 1989), por ejemplo: la tasa de crecimiento está asociada al número de loci heterocigotos en mejillones (Koenh y Gaffney, 1984), almejas (Kohenh *et al.*, 1988) y ostiones (Singh y Zouros, 1978; Zouros *et al.*, 1980). En el ostión japonés *C. virginica* se han encontrado asociadas a la heterocigosidad: mayor sobrevivencia

(Zouros *et al.*, 1983), menor consumo de oxígeno y un costo metabólico dos veces menor al de los homocigotos (Koehn y Sumway, 1982) y menor pérdida de peso durante periodos de inanición (Rodhouse y Gaffney, 1984).

En mejillón se han realizado la mayoría de los estudios en relación a estos temas: Zouros *et al.* (1988) encontraron una tendencia hacia un mayor grado de heterocigosidad a mayor talla en mejillones, además de que poseían mayores cantidades de glucógeno acumulado. En relación a crecimiento y heterocigosidad los estudios son numerosos (Koehn y Gaffney, 1984; Diehl y Koehn, 1985; Gentili y Beaumont, 1988; Skibinski y Roderick, 1989; Gaffney, 1990) y en todos ellos coinciden en encontrar una relación positiva, aunque en ocasiones no fue significativa. Por el contrario en la escalopa *Pecten maximus* silvestre y cultivada (Beaumont *et al.*,1985) y un gastrópodo estuarino (*Thais haemastomata*) (Garton, 1984) no se encontró asociación entre heterocigosidad y crecimiento.

La tasa de crecimiento de un organismo es una característica que está controlada por muchos loci génicos (además de la influencia ambiental y de la interacción entre ambas), de manera que el número de loci analizados en el presente estudio representa una fracción pequeña del total del genoma. La electroforesis puede revelar sólo una parte de la variación total del genoma, por lo que si se desea encontrar una mayor cantidad de loci asociados al crecimiento se deben estudiar una mayor cantidad de loci (Beaumont *et al.*, 1985) o bien analizar a loci que estén relacionados a las rutas metabólicas. Adicionalmente, Alvarez *et al.* (1989) encontraron una correlación significativa entre heterocigosidad y crecimiento en *Ostrea edulis* (30 meses) proveniente de 60 progenitores; Gaffney y Scott (1984) no encontraron correlación en desoves masivos que involucraron de 9 a 33 progenitores de *C.*

virginica, Spisula solidissima y *M. lateralis*. Beaumont (1991) utilizó 9 machos y 9 hembras, los cuales aportaron aproximadamente una cantidad proporcional de gametos, y no encontró correlación significativa. Mencionó que para encontrar mayor probabilidad de correlación entre heterocigosidad y crecimiento, sea necesario que en los desoves masivos se cuente con un número de progenitores mayor de 40.

Para explicar la relación entre heterocigosidad-eficiencia (crecimiento) Zouros y Mallet, 1989) han propuesto seis hipótesis:

1. Sobredominancia: Propone que para un locus dado, los heterocigotos son superiores a los homocigotos (Zouros *et al.*, 1988) como resultado directo de los loci por sí mismos más que de un efecto indirecto de los loci asociados (Skibinski y Roderick, 1989).
2. Dominancia de locus múltiples. La asociación aleatoria de loci y el apareamiento aleatorio aseguran que en individuos homocigotos múltiples algunos loci serán homocigotos para el alelo superior y algunos para el inferior, así, la combinación de estos individuos (locus múltiple) tendrá un promedio menor que el de los individuos heterocigotos múltiples (Zouros y Mallet, 1989).
3. Rutas enzimáticas balanceadas: Ciertas combinaciones de variantes enzimáticas pueden formar una ruta más balanceada que otra. Los heterocigotos simples o dobles están también balanceados. De acuerdo a esta hipótesis no existen desventajas intrínsecas a la homocigosidad múltiple. Algunos homocigotos múltiples están mejor balanceados que otros. Así, la asociación aleatoria de alelos en diferentes loci y el apareamiento aleatorio, hace que las rutas enzimáticas estén en promedio, mejor balanceadas en los heterocigotos múltiples que en los homocigotos múltiples. El efecto de un locus depende de los genotipos de otros loci en la ruta (Zouros y Mallet, 1989).

4. Alelos nulos: Mediante electroforesis es imposible distinguir entre homocigotos para alelos activos y heterocigotos para alelos nulos, si estos últimos tienen tasas de crecimiento más bajas, se puede considerar que en general la clase de homocigotos (que incluyen a los heterocigotos para alelos nulos, indistinguibles de los homocigotos) tienen crecimiento menor en comparación con los heterocigotos (Zouros *et al.*, 1988).
5. Pérdida de segmentos de cromosomas: Como la aneuploidía en la cual se podría perder el segmento que tiene el material genético que incluye al locus marcador (Zouros *et al.*, 1988). Los aneuploides pueden tener tasas de crecimiento bajas y en la electroforesis pueden aparecer como homocigotos para el marcador, de manera que la relación crecimiento-heterocigosidad resultará positiva (Zouros y Mallet, 1989).
6. Sobredominancia asociada o asociativa: Es una propiedad de poblaciones más que de organismos individuales. La contínua reintroducción de genes por mutación o flujo genético, seguida por deriva génica, genera un desequilibrio ligado con variantes neutrales segregadas en loci vecinos. Esto introduce una tendencia para la homocigosidad alta para genes detrimentales entre homocigotos para el locus marcador más que entre heterocigotos (Zouros y Mallet, 1989). Asume que la heterocigosidad alozímica está correlacionada con el total de la heterocigosidad genómica (Skibinski y Roderick, 1989). Las alozimas son marcadores neutrales de los efectos causados por otros genes con lo cual, los loci alozímicos están en un estado de asociación ligada (desequilibrio ligado). Esta asociación puede darse por endogamia, deriva génica o mezcla poblacional (Zouros y Pogson, 1994).

Las hipótesis principales que explican correlación entre heterocigosidad y crecimiento en bivalvos son la sobredominancia (Koehn *et al.*, 1988) y la de

sobredominancia asociada (Zouros y Flotz, 1984), sin embargo ninguna es mutuamente exclusiva y es difícil proveer evidencias experimentales directas para estimar cual es el efecto de cada una. De las seis hipótesis, se pueden probar de manera sencilla la de alelos nulos y la aneuploidía, diseñando los experimentos adecuados, en los que la progenie mostrará las anormalidades genéticas creciendo a una velocidad inferior a la de organismos normales. La hipótesis de sobredominancia se puede probar como lo han hecho en algunos estudios (Hoare y Beaumont, 1995). Para seleccionar una hipótesis se recurre más bien a la eliminación de las otras (Zouros y Mallet, 1989).

En el presente estudio, el único lote que mostró una correlación positiva entre heterocigosidad y talla fue el análisis global del lote J, sólo el 14% del comportamiento de los datos se explica por el modelo propuesto. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de encontrar una correlación positiva en estudios posteriores, ya que fue el único caso en que se tuvieron más de 40 progenitores como lo sugirió Beaumont (1991).

Por otra parte, también se ha encontrado que algunos loci pueden contribuir a encontar correlación positiva con el crecimiento. Esto, como se mencionó anteriormente, porque participan de forma directa en las rutas metabólicas asociadas al crecimiento, por ejemplo en mejillón: Zouros *et al.* (1988) encontraron que el locus *Pep-2* tuvo un gran efecto en la tasa de crecimiento, Gaffney (1990) encontró que *Lap* y *Odh* tuvieron un efecto directo sobre la relación heterocigosidad-talla, Zouros *et al.* (1988) encontaron esta misma relación para *Ap.*

En el análisis para abulón rojo se encontró que para el lote J10 el locus *Me* fue el único que mostró correlación positiva entre el genotipo y la talla (largo y peso total). La explicación a esto puede fundamenterse en el papel fisiológico que desempeña esta enzima,

ya que cataliza la carboxilación del piruvato, el cual es parte importante en la síntesis de glucógeno (gluconeogénesis), ruta metabólica fundamental para organismos en crecimiento (Hochachka y Somero, 1984) como es el caso de este lote. A pesar de que en los organismos heterocigotos se tuvo la mayor talla, no existieron diferencias significativas a excepción de los heterocigotos 80-100 con los homocigotos 100-100. Esto puede indicar cierto grado de superioridad de los heterocigotos sobre los homocigotos, pero es necesario corroborar esta relación en el locus *Me*. La relación positiva entre heterocigosidad y talla debe tomarse con cautela y realizar más experimentos que involucren un Ne mayor de 40 con el fin de determinar si hay esta correlación para abulón.

Contando con los estudios que se sugieren se pueden hacer mejoras sustanciales en el cultivo, por ejemplo se pueden elevar las tasas de crecimiento mediante la selección de organismos que muestren superioridad genotípica. De la misma manera, manteniendo los niveles de heterocigosidad elevados, mediante el uso adecuado de reproductores en los desoves, se puede esperar que los organismos alcancen una mayor talla en periodos más cortos de tiempo.

VI. CONCLUSIONES.

El análisis morfométrico en los lotes de 27 a 17 meses mostró que en este rango de edades el crecimiento tiende a ser isométrico (13 casos) y alométrico negativo (13 casos), lo cual concuerda con otros estudios en los que se analizan organismos en crecimiento, los que tienden a incrementar la talla en la etapa juvenil y porteriormente la masa corporal.

La técnica utilizada en el presente estudio resultó útil para conocer la variabilidad genética de los lotes de "Abulones Cultivados", de trece loci seleccionados, 10 fueron polimórficos y permitieron conocer el estado genético de los lotes de esta Empresa. Se encontró que la variabilidad genética fue elevada en comparación con la de otros cultivos en California, y en general se puede afirmar que los lotes se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg debido en mayor medida al número de progenitores adecuado (Ne de 10 a 56, promedio=24.5) utilizados en los desoves lo cual favoreció el mantenimiento de la "salud genética" en la semilla, anuque se sugiere incrementar el número de reproductores en los desoves con la finalidad de evitar un cuello de botella en las futuras generaciones. Particularmente en los lotes de 6 y 7 meses de edad (J y K) se observó un incremento en la heterocigosidad hacia las tallas mayores, lo cual puede sugerir un efecto de heterosis. Sin embargo, al correlacionar talla y heterocigosidad individual se obtuvo un sólo caso significativo (lote J) en el cual el 14% de la la varianza observada se explica por el modelo propuesto.

De los 13 loci probados, sólo *Me* en el lote J10 mostró una correlación positiva con

la talla, lo cual puede sugerir que este loci o algunos loci aledaños tengan cierto efecto directo sobre el crecimiento, sin embargo es necesario profundizar al respecto para poder corroborarlo.

VII. RECOMENDACIONES.

Para verificar si el manejo del cultivo es adecuado y por lo tanto la variabilidad genética se mantiene elevada en las generaciones futuras, se sugiere:

- Hacer un análisis alozímico de la progenie de familias sencillas y verificar si se mantiene el número de alelos por loci, el porcentaje de loci polimórficos, si hay fijación y/o pérdida de alelos respecto a los reproductores y a poblaciones naturales.
- Los genotipos de los reproductores se podrían deducir de los genotipos encontrados en la progenie de familias sencillas, de esta manera se evitaría sacrificar a los reproductores en los análisis alozímicos.
- Mantener el número efectivo de reproductores utilizados en los desoves alrededor de 50.
- Analizar poblaciones naturales de abulón rojo y compararlas con las cultivadas por la Empresa o cualquier otra compañía que cultive abulón.
- Referente a las medidas morfométricas, sería de gran utilidad hacer un estudio que incluyera mediciones de diferentes edades hasta llegar a la talla comercial, determinando si algún parámetros físico, químico o biológico influye sobre el tipo de crecimiento.
- La tasa de crecimiento es una medida que puede ser diagnosticada mediante estudios de herencia de caracteres en las siguientes generaciones, por lo que sería importante seleccionar a los reproductores que haya alcanzado tallas superiores a las esperadas de acuerdo a su edad, y hacer el seguimiento en su progenie, para determinar el grado de heredabilidad.

- Para corroborar la existencia de una correlación entre heterocigosidad y crecimiento, sería conveniente diagnosticarla en desoves cuyo Ne sea mayor de 40.
- Sería recomendable profundizar en la dependencia del genotipo en relación a la enzima málica, ya que si se encontara un patrón de dependencia positiva de mayor talla en los organismos heterocigotos, se trataría de preservar la heterocigosis de este locus en la progenie.
- En caso de que se deseen obtener líneas mejoradas, se recomienda iniciar con un gran número de reproductores y realizar el proceso de selección manteniendo, de igual manera, elevado el número de reproductores.

LITERATURA CITADA.

Alagarswami, K. y Chellam, A. 1977. "Change of form and dimensional relationship in the pearl oyster: *Pinctada fucata* from Gulf of Mannar". *Indian J. Fish.* 24: 1-14 p.

Alvarez, G., Zapata, C., Amaro, C. y Guerra, A. 1989. "Genetics of the clam *Mercenaria mercenaria*. II. Size and genotype". *Malacologia.* 25: 525-533 p.

Andrade, P. M. 1971. "Algunos aspectos sobre la madurez gonadal de *Haliotis fulgens* y *H. corrugata*". Tesis de Licenciatura. UABC. Ensenada, México. 52 pp.

Arai. K., Naito, F. y Fujino, K. 1986. "Triploidization of the Pacific abalone with temperature and pressure treatments". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 52(3): 417-422 p.

Arai. K., Naito, F., Fujino, K., Kudo, M. 1984a. "Karyotypes and zymogram differences among three species of the abalones *Haliotis planata, H. varia and H. diversicolor diversicolor*". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 54(12): 2055-2064 p.

Arai. K., Naito, F. Sasaki, H. y Fujino, K. 1984b. "Gynogenesis with ultraviolet ray irradiated sperm in the Pacific abalone". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 50(12): 2019-2023 p.

Beaumont, A. R. 1982. "Variations in heterozygosity at two loci between year classes of a population of *Chlamys opercularis* (L.) from a Scottish sea-lonch". *Mar. Bio. Lett.* 3: 24-34 p.

Beaumont, A. R. 1984. "Variations in heterozygosity at two loci between year classes of a population of *Chlamys opercularis* (L.) from a Scottish sea-lonch". *Mar. Biol.* 81: 299-306 p.

Beaumont, A. R. 1991. "Genetic studies of laboratory reared mussels, *Mytilus edulis*: heterozygote deficiencies, heterozygosity and growth". *Biol. J. Linn. Soc.* 44: 273-285 p.

Beaumont, A. R. 1994. "Genetics and aquaculture: The aplication and relevance of genetics in aquaculture". En: Beaumont, A. R. (ed). "Genetics and evolution of aquatic organisms". Chapman & Hall, London. 467-486 p.

Beaumont, A. R., Gosling, E. M., Beveridge, C. M., Budd, M. D. y Burnell, G. M. 1985. "Studies on heterozygosity and size in the scallop, *Pecten maximus*". En: Gibbs, P. E. (ed). "Proc. 19th Eur. Mar. Biol. Symp". University Press, Cambridge. 443-454 p.

Brown, L. D. 1991. "Genetic variation and population structure in the blacklip abalone, *Haliotis rubra*". *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 42: 77-90 p.

Brown, L. D. 1993. "Biochemical genetics and species relationships within the genus *Haliotis*(Gastropoda: Haliotidae)". *J. Moll. Stud.* 59: 429-443 p.

Brown, L. D. y Murray, N. D. 1992. "Populations genetics, gene flow and stock structure in *Haliotis rubra* and *Haliotis laevigata*". En: Shepherd, S. A., Guzmán del Próo, S. A. y Tegner, M. J. (eds). "Abalone of the world. (Biology, Fisheries and Culture)". Proceedings of the 1st. International Symposium on Abalone. Fishing News Books, 24-33 p.

Cota, F. I. 1971. "Fecundación artificial y desarrollo embrionario de *Haliotis fulgens* Phillip 1845 y *Haliotis rufescens* Swainson 1822 en condiciones de acuario". Tesis de Licenciatura. UABC. México. 45 pp.

Cox, K, W. 1962. "California abalones, Family Haliotidae". *Fish Bull.* 18: 133 pp.

Daniel, W. W. 1992. "Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud". Limusa. México, 667 pp.

Del Río-Portilla. M. A. 1991. "Crecimiento de *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Mollusca, Bivalvia), bajo diferentes condiciones de temperatura y de concentración de alimento". Tesis de Maestría en Ciencias. CICESE. Ensenada. México. 77 pp.

Del Río-Portilla, M. A. y Beaumont, A. R. 1999. "Larval growth, juvenile size and heterozygosity in laboratory reared mussels, *Mytilis edulis"*. Sometido.

Díaz, F., Del Río-Portilla, M. A., Sierra, E., Aguilar, M. y Re-Araujo, A. D. 1999. "Preferred temperature and critical thermal maxima of red abalone *Haliotis rufescens"*. *J. Therm. Biol.* En prensa.

Diehl, W. J. y Koehn, R. K. 1985. "Multiple-locus heterozygosity, mortality and growth in a cohort of *Mytilus edulis"*. *Mar. Biol.* 88: 265-271 p.

Dillon, R. T. y Manzi, J. J. 1987. "Hard clam, *Mercenaria mercenaria*, broodstocks: genetic drift and loss of rare alleles without reduction in heterozygosity". *Aquaculture.* 60: 99-105 p.

Donovan, D. A. y Carefoot, T. H. 1997. "Locomotion in the abalone *Haliotis kamtschatkana*: pedal morphology and cost of transport". *J .Exp. Biol.* 200: 1145-1153 p.

Espinosa de los Monteros, J. y Labarta, U. 1987. "Genética en Acuicultura". Industrias gráficas España. Madrid. 274 pp.

Falconer, D. S. y Mackay, T. F. 1996. "Introduction to quantitative genetics". Longman. Fourth Edition. England. 464 pp.

Fallu, R. 1991. "Abalone Farming". Fishing News Books. Oxford. 196 pp.

Foltz, D. W. 1996. "Null alleles as posible causes of heterozygote deficiencies in the oyster *Crassostrea virginica* and other bivalves". *Evolution*. 40: 869-870 p.

Fry, J. C. 1993. "Bivariate regression", En Fry, J. C. (ed). "Biological data analysis. A practical approach". IRL Press. Oxford. 81-125 p.

Fujino, K., Arai, K., Iwadare, K., Yoshida, T. y Nakajima, S. 1990a. "Induction of gynogenetic diploid by inhibiting second meiosis in the Pacific abalone". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 56(11): 1755-1763 p.

Fujino, K. y Sasaki, K. 1984. "Age association of the genotypic proportions of isozyme in the Pacific abalone". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 50(1): 11-15 p.

Fujino, K., Okomura, S. e Inayoshi, H. 1987. "Temperature tolerance differences among normal diploid and triploid Pacific abalones". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 53(1): 15-21 p.

Fujino, K., Okomura, S. e Inayoshi, H. 1989. "Estimating rate of gene-centromere recombination at leucine-aminopeptidase, malic enzyme, and phosphoglucomutase loci in the Pacific abalone". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 55(11): 1875-1883 p.

Fujino, K., Okomura, S. e Inayoshi, H. 1990b. "Estimating rate of gene-centromere recombination at alpha-glycerophosphate dehydrogenase, superoxide dismutase, and esterase loci in the Pacific abalone". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 56(9): 1371-1381 p.

Fujino, K., Okomura, S. e Inayoshi, H. 1991. "Estimating rate of gene-centromere recombination at some isozyme loci in *Haliotis diversicolor diversicolor*". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 57(8): 1477-1485 p.

Gaffney, P. M. 1990. "Enzyme heterozygosity, growth rate, and viability in *Mytilus edulis*: another look". *Evolution*. 44(1): 204-210 p.

Gaffney, P. M. 1994. "Heterosis and heterozygote deficiencies in marine bivalves: more ligth?". En: Beaumont, A. R. (editor). "Genetics and evolution of aquatic organisms". Chapman & Hall. London. 146-153 p.

Gaffney, P.M., Davis, C. V. y Hawes, R. O. 1992. "Assesment of drift and selection in hatchery populations of oysters (*Crassostrea virginica*)". *Aquaculture.* 105: 1-20 p.

Gaffney, P.M., Powell, R. V., Hedgecok, D., Powers, D. A., Morris, G. y Hereford, L. 1996. "Genetic effects of artificial propagation: signals from wild hatchery populations of red abalone in California". *Aquaculture.* 143: 257-266 p.

Gaffney, P. M. y Scott, T. M. 1984. "Genetic heterozygosity and production traits in natutal and hatchery populations of bivalves". *Aquaculture.* 42: 289-302 p.

Garton, D. W. 1984. "Relationship between multiple locus heterozygosity and physiological energetics of growth in the estuarine gastropod *Thais haemastomata*". *Physiol. Zool.* 57: 530-543 p.

Gentili, M. R. y Beaumont, A. R. 1988. "Environmental stress, heterozygosity and growth rate in *Mytilus edulis* L.". *J. Exp. Mar. Biol.* 120: 145-153 p.

González, J. G. y Ortiz, M. Q. 1986. "Estudios sobre madurez, índice gonadal y fecundidad en abulón negro *Haliotis cracherodii* (Mollusca: Gasteropoda) a partir de muestras colectadas en la Isla de Cedros, Baja California en Junio de 1982". Inst. Nal. de Pesca, CRIP Ensenada. *Doc. Tec Inf.* 1:54-72 p.

Gosling, E. M. 1982. "Genetic variability in hatchery produced Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg)". *Aquaculture.* 26: 273-287 p.

Guofan, Z., Yaquing, Ch., Jian, S., Jun, D. y Zichen, D. 1997. "Polyploid induction by 6-DMAP in the Pacific abalone, *Haliotis discus* hannai Ino". Third International Abalone Symposium: Biology, Fisheries and Culture. Monterey. 71.

Guzmán del Próo, S. A. 1992. "A review of the biology of abalone and its fishery in México". En: Shepherd, S. A., Guzmán del Próo, S. A. y Tegner, M. J. (eds). "Abalone of the World. (Biology, Fisheries and Culture)". Proceedings of the 1st. International Symposium on Abalone. Fishing News Books, 341-360 p.

Guzmán del Próo, S A. 1994. "Biología, ecología y dinámica de poblaciones de abulón (*Haliotis* spp.) de Baja California, México". Tesis de Doctor en Ciencias. Instituto

Politécnico Nacional, ENCB. México.

Guzmán del Próo, S A. y Marín A. V. 1976. "Resultados preliminares sobre el crecimiento de abulón amarillo y azul (*Haliotis corrugata* y *Haliotis fulgens*) en Punta Abreojos, B. C.". *Inst. Nal. de Pesca Ser Cient.* 17:1-11 p.

Hahn, K. 1989. "Handbook of culture of abalone and other marine gastropods". CRC Press, Inc., Florida. 348 pp.

Hanna, P., Huang, B. y Peakall, R. 1997. "Molecular analysis of australian blacklip abalone *Haliotis rubra*, populations using variable numbers of tandem repeats". Third International Abalone Symposium: Biology, Fisheries and Culture. Monterey. 32 p.

Hedgecock, D. y Sly, F. 1990. "Genetic drift and effective sizes of hatchery-propagated stocks of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*". *Aquaculture.* 88: 21-38 p.

Hedgecock, D., Chow, V. y Waples R. S. 1992. "Effective population numbers of shellfish broodstocks estimated from temporal variance in allelle frequencies". *Aquaculture.* 108: 215-232.

Hilbish, T. J. y Koehn, R. K. 1985. "The physiological basis for selction at the *Lap* locus". *Evolution.* 39(6): 1302-1317 p.

Hoare, K. y Beaumont, A. R. 1995. "Effects of an *Odh* null allele and a *Gpi* low-activity allozyme on shell length in laboratory-reared *Mytilus edulis*". *Marine Biology.* 123: 775-780 p.

Hochachka, P. W. y Somero, G. N. 1984. "Biochemical adaptation". Princeton University Press. New Jersey. 538 pp.

Hoelzel, A. R. y Dover, G. A. 1991. "Molecular Genetic Ecology". IRL Press. Oxford. 75 pp.

Huang, B., Chau, Z., Hanna, P. J. y Gough, K. H. 1997. "Molecular sequences of two minisatellites in blacklip abalone, *Haliotis rubra*". *Electrophoresis:* 18(9): 1653-1659 p.

Huang, B. y Hanna, P. J. 1998. "Identification of three polymorphic microsatellites loci in blacklip abalone, *Haliotis rubra* (Leach), and detection in other abalone species". *J. Shellfish. Res.* 17(3): 795-799 p.

Jarayabhand, P. y Yom-la, R. 1998. "Karyotypes of marine molluscs in the Family

Haliotidae found in Thailand". *J. Shellfish. Res.* 17(3): 761-764 p.

Jonasson, J., Stefansson, S. E., Gudnason, A. y Steinarsson, A. 1997. "Genetic variation for survival and body size during the first life stages of red abalone *Haliotis rufescens*, in Iceland". Third International Abalone Symposium: Biology, Fisheries and Culture. Monterey. 65 p.

Kabat, A. R. 1985. "The allometry of brooding in *Transennella tantilla* (Gould) (Mollusca:Bivalvia)". *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 91: 271-179 p.

Kawahara, I., Noro, T. y Omori, M. 1997. "Growth characteristics of abalone., *Haliotis discus hannai*: an examination of genetic variation and interaction of family groups with different ambient temperatures". Third International Abalone Symposium: Biology, Fisheries and Culture. Monterey. 83 p.

Kirby, V., Villa, R. G. y Powers, D. A. 1998. "Use of microsatellites in the California red abalone *Haliotis rufescens*". *J. Shellfish. Res.* 17(3): 801-804 p.

Koehn, R. K., Diehl, W. J. y Scott, T. M. 1988. "The differential contribution by individual enzymes of glycolysis and protein catabolism to the relationship between heterozygosity and growth rate in coot clam *Mulinia lateralis*". *Genetics.* 118 : 121-130 p.

Koehn, R. K. y Gaffney, P. M. 1984. "Genetic heterozygosity and growth rate in *Mytilus edulis*". *Mar. Biol.* 82: 1-7 p.

Koehn, R. K. y Shumway, S. E. 1982. " A genetic/physiological explanation for differential growth rate among individuals of the american oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin)". *Mar. Biol. Lett.* 3: 35-42 p.

Kudo, M., Arai, K. y Fujino, K. 1991. "Triploidization of *Haliotis diversicolor diversicolor* by cold shock". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 57(7): 1263-1267 p.

León, C., G. y Ramírez, R., M. 1992. "The abundance of abalone in 23 fishing areas of Baja California Sur, México". En: Shepherd, S. A., Guzmán del Próo, S. A. y Tegner, M. J. (eds). "Abalone of the World. (Biology, Fisheries and Culture)". Proceedings of the 1st.. International Symposium on Abalone. Fishing News Books. 46 p.

Levington, J. S. y Bambach, R. K. 1970. "Some ecological aspects of bivalve mortality patterns". *Amer. J. Sci.* 268: 97-112 p.

Maeda-Martínez A., Magallón-Barajas F., Rodríguez-Jaramillo, M. C., Pérez-Serrano, A., León-Castro, H. y Ramade-Villanueva, M. R. 1994. "Desarrollo Científico y Tecnológico para el cultivo del Abulón". SEPESCA-CIB. 77 pp.

May, B. 1992. "Starch gel electrophoresis of allozymes" En: Hoelzel, A. R. "Molecular genetic analysis of populations. A practical approach". IRL Press.Oxford. 1-27 p.

Mazon-Suastegui, J. M., Bazua-Sicre, G., Lucero-Martínez, G y Rodríguez-Ramos, R. 1992. "Abalone seed production in the laboratory". En: Shepherd, S. A., Guzmán del Próo, S. A. y Tegner, M. J. (eds). "Abalone of the World. (Biology, Fisheries and Culture)". Proceedings of the 1st. International Symposium on Abalone. Fishing News Books, 561-569 p.

McShane, P. E., Schiel, D. R., Mercer, S. F. y Murray, T. 1994. "Morphometric variation in *Haliotis iris* (Mollusca: Gastropoda): analysis of 61 populations". *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 28: 357-364 p.

Mgaya, Y. D., Gosling, E. M., Mercer, J. P. y Donlon, J. 1995. "Genetic variation at three polymorphic loci in wild and hatchery stocks of the abalone *Haliotis tuberculata* Linnaeus". *Aquaculture*. 136: 71-80 p.

Molina, J. 1983. "Estimaciones de fecundidad en *Haliotis rufescens* del Bajo, Bahía Rosario, B. C". *Ciencia Pesquera*. Inst. Nal. de Pesca, México. 4: 77-95 p.

Murray, N. D. y. Brown, L. D. 1992. "Genetic relationship within the genus *Haliotis*". En: Shepherd, S. A., Guzmán del Próo, S. A. y Tegner, M. J. (eds). "Abalone of the World. (Biology, Fisheries and Culture)". Proceedings of the 1st.. International Symposium on Abalone. Fishing News Books, 19-23 p.

Nei, M. 1978. "Estimation of average heterozygosity and distance from a small number of individuals". *Genetics*. 89: 583-590 p.

Nei, M. 1987. "Molecular evolutionary genetics". Columbia University Press. New York. 512 pp.

Okomura, S., Sasaki, K. y Fujino, K. 1981. "Thermostability variations at multiple loci in the Pacific abalone". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 47(12): 1627-1630 p.

Parker, P. G., Snow, A. A., Schug, M. D., Booton, G. C. y Fuerst, P. A. 1998. "What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker".

Ecology. 79(2): 361-382 p.

Pecon-Slattery, J. Lutz, R. A. y Vrijenhoek, R. C. 1993. "Repeatability of correlations between heterozygosity, growth and survival in a natural population of the hard clam Mercenaria mercenaria". *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 165: 209-224 p.

Powers, D. A. y Chen, T. T. 1995. "Genetic engineering to improve the growth characteristics of finfish and shellfish for aquaculture in Pacific rim countries: cloning, expresion and gene transfer of growth hormone and insulin-like factors". *Aquaculture.* 135(1-3): 240 p.

Powers, D. A., Gómez-Ciarri, M. y Kirby, V. 1997. "Genetic engineering: fast growing abalone". Third International Abalone Symposium: Biology, Fisheries and Culture. Monterey. 53 p.

Ramírez-Granados, R. 1992. "Scientific alternatives for the recovery of abalone resources of Baja California, México". En: Shepherd, S. A., Guzmán del Próo, S. A. y Tegner, M. J. (eds). "Abalone of the World. (Biology, Fisheries and Culture)". Proceedings of the 1st. International Symposium on Abalone. Fishing News Books, 361-369 p.

Raymond, M. y Rousset, F. 1994. "GENEPOP Ver 1.0. Population genetics software for exact tests and ecumenicism" *J. Heredity.* 86: 248-249 p.

Raymond, M., Vääntö, R., Thom, F., Rousset, F., de Meedüs, T. y Renaud, F. 1997. "Heterozygote deficiency in the mussel *Mytilus edulis* complex revisited". *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 156: 225-337 p.

Rodhouse, P. G. y Gaffney, P. M. 1984. "Effect of heterozygosity on metabolism during starvation in the american oyster, *Crassostrea virginica*". *Mar. Biol.* 80: 179-187 p.

Rodhouse, P. G., McDonald, J. H., Newell, R. I. E. y Koehn, R. K. 1986. "Gamete production, somatic growth and multiple-locus enzyme heterozygosity in *Mytilus edulis* L.". *Mar. Biol.* 90: 209-214 p.

Rodríguez, M. G. 1996. "Análisis genético de la población de *Haliotis fulgens* Philippi (Gastropoda: Haliotidae) de Bahía Tortugas, B. C. S. Tesis de licenciatura. IPN. ENCB. México 67 pp.

Salas-Garza, A. E., y Searcy-Bernal, R. 1992. "Development and present status of abalone culture in México". En: Shepherd, S. A., Guzmán del Próo, S. A. y Tegner, M. J. (eds).

"Abalone of the World. (Biology, Fisheries and Culture)". Proceedings of the 1st. International Symposium on Abalone. Fishing News Books, 538-546 p.

Sbordoni, V., De Matthaeis, E., Cobolli-Sbordoni, M., La Rosa, G. y Mattoccia, M. 1986. "Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stock of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda)". *Aquaculture*. 57: 239-251 p.

Searcy-Bernal, R y Salas-Garza, A. E. 1985. "Studies on the ecology and re-seeding of abalone in Baja California". *Trans.-CIBCASIO*. 10: 106-122 p.

Searcy-Bernal, R., Salas-Garza, A. E., Flores-Aguilar, R. A. e Hinojosa-Rivera, P. R. 1992. "Research in México on the critical stage of abalone (*Haliotis spp.)* seed production". En: Shepherd, S. A., Guzmán del Próo, S. A. y Tegner, M. J. (eds). "Abalone of the World. (Biology, Fisheries and Culture)". Proceedings of the 1st. International Symposium on Abalone. Fishing News Books. 547-560 p.

Seed, R. 1968. "Factors influencing the shell shape in the mussel *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 48: 561-584 p.

Selander, R. K. 1970. "Behavior and genetic variation in natural populations". *Am. Zoologist*. 10: 53-66 p.

SEMARNAP. 1996. "Anuario estadístico de pesca 1995". México. 235 pp.

Shepherd, S. A, Guzmán del Próo, S. A., y Turrubiates-Morales, J., Belmar, J., Baker, J. L., y Sluczanowski, P. R. 1991. "Growth, size at sexual maturity, and egg-per-recruit analysis of the abalone *Haliotis fulgens* in Baja California". *Veliger*. 34(4): 324-330 p.

Singh, S. M. 1982. "Enzyme heterozygosity associated with growth at different development stages in oysters". *Can. Genet. Cytol.* 24: 451-458 p.

Singh, S. M. y Green, R. H. 1984. "Excess of allozyme homozygosity in marine molluscs and its possible biological significance". *Malacologia*. 25: 569-581 p.

Singh, S. M. y Zouros, E. 1978. "Genetic variation associated with growth rate in the american oyster (*Crassostrea virginica*)". *Evolution*. 32(2): 342-353 p.

Skibinski, D. O. F. y Roderick, E. E. 1989. "Heterozygosity and growth in transplanted mussels". *Mar. Biol.* 102: 73-84 p.

Smith, P. J. y Conroy, A. M. 1992. "Loss of genetic variation in hatchery-produced abalone, *Haliotis iris*". *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 26: 81-85 p.

Sokal, R. R. y Rohlf, F. J. 1995. "Biometry". 3th edition. W. H. Freeman and Co. N. York. 887 p.

Sun, Z., Li, N., Song, Z., Zhao, Y. y Guan, X. 1993. "The condition of triploid induction in abalone *Haliotis discus hannai* and its indoor raised experiment". *J. Fish. China Shuichan Xuebao*. 17(3): 243-248 p.

Sun, Z., Song, Z., Li, N., Zhao, Y. y Guan, X. 1992. "A preliminary study on the growth of triploid abalone (*Haliotis discus hannai* Ino)". *Trans. Oceanol. Limnol Haiyang Huzhao Tongbao*. 4: 70-75 p.

Swofford, D. L. y Selander, R. B. 1989. "BIOSYS-1. A program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics". *J. Heredity*. 72: 281-213 p.

Tave, D. 1986. "Genetics for fish hatchery managers". AVI Publishing Co. Inc., Alabama. 299 pp.

Thayer, Ch., W. 1975. "Morphologic adaptations of benthic invertebrates to soft substrata". *J. Mar. Res*. 33: 177-189 p.

Tong, L. J. y Moss. G. A. 1991. "The New Zealand system for abalone" En: "Proceedings of the First International Symposium on Abalone Biology, Fisheries and Culture".

Turrubiates-Morales, J. M. y Castro-Ortiz, J. L. 1989. "Growth of *Haliotis fulgens* in Bahía Tortugas, Baja California Sur, México". En: Guzmán del Próo, S. A., Tegner, M. J. y Shepherd, S. A. (eds). "Abalone of the World. (Biology, Fisheries and Culture)". Proceedings of the 1st.. International Symposium on Abalone. Adelaide. 10-15 p.

Viana, M. T., Cervantes-Trujillo, M., y Solana-Sansores, R. 1994. "Attraction and palatability activities in juvenile abalone (*Haliotis fulgens*): nine ingredients used in artificial diets". *Aquaculture*. 127: 19-28 p.

Viana, M. T., Cervantes-Trujillo, M., y Solana-Sansores, R. 1996. "The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed". *Aquaculture*. 140: 87-98 p.

Volkaert, F y Zouros, E. 1989. "Allozyme and physiological variation in the scallop *Placopecten magellanicus* and a general model for the effects of heterozygosity on fitness in marine molluscs". *Mar. Biol.* 103: 51-61 p.

Wang, L. y Hanna, P. 1998. "Isolation, cloning and expression of a DNA sequence encoding an egg-laying hormone of the blacklip abalone (*Haliotis rubra* Leach)". *J. Shellfish. Res.* 17(3): 789-793 p.

Withler, R. E. 1988. "Genetic consequences of fertilizing chinook salmon (*Onchorynchus tshawytscha*) eggs with pooled milt". *Aquaculture.* 68: 15-25 p.

Wright, S. 1931. "Evolution in Mendelian populations". *Genetics.* 16: 97-159 p.

Yang, H. S., Ting, Y. Y. y Chen, Ch. H. 1997. "Effect of cold shock on the production of triploid zygotes and the embryonic development of small abalone, *Haliotis diversicolor supertexta* Lischke". *Acta Zoologica Taiwanica.* 8(2): 67-78 p.

Zouros, E. y Foltz, D. W. 1984. "Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. *Malacologia.* 25(2): 583-591 p.

Zouros, E. y Mallet, A. L. 1989. "Genetic explanations of the growth/heterozygosity correlation in marine mollusks". En: Ryland, J. S. y Tyler, P. A. (eds.) "Reproduction, genetics and evolution of marine organisms". Olsen & Olsen. Fredensborg. 317-324 p.

Zouros, E. y Pogson, G. H. 1994. "Heterozygosity, heterosis and adaptation". En: Beaumont, A. R. (editor). "Genetics and evolution of aquatic organisms". Chapman & Hall. London. 133-146 p.

Zouros, E., Romero-Dorey, M. y Mallet, A. L. 1988. "Heterozygosity and growth in marine bivalves: further data and possible explanations". *Evolution.* 42(6): 1332:1341 p.

Zouros, E., Singh, S. M., Foltz, D. W. y Mallet, A. L. 1983. "Post-settlement viability in the american oyster (*Crassostrea virginica*): an overdominant phenotype". *Genetical Research.* 41: 259-270 p.

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

APENDICES.

APENDICE 1.

Amortiguadores y recetas para las soluciones de tinción de las enzimas utilizadas para abulón rojo *Haliotis rufescens*.

Amortiguadores.

1.- Tris/Maleato/EDTA/$MgCl_2$ **TME pH 7.8 y 7.4**. Amortiguador para gel y electrodo.

Volumen final	5 l
60.2 g	Tris (Tris[hidroximetil] amino metano)
58.0 g	Acido maleico
18.6 g	EDTA (Acido etilen diamino tetra acético, sal disódica, dihidratada)
20.3 g	$MgCl_2$ $6H_2O$
4 l	Agua destilada
25-27 g	NaOH

Usar NaOH al 40% para el ajuste final a pH 7.8 ó 7.4 y completar a 5 l.

2.- Amortiguador 0.15 M Tris-Citrato pH 8.0 para gel y electrodo.

Volumen final	1 litro
18.17 g	Tris
~5.5-6 g	Acido cítrico anhidro

Ajustar el pH con NaOH al 40% y completar a 1 litro con agua destilada.

3. Amortiguador Citrato-Fosfato 0.1 M pH 7.4 para gel.

Volumen final	200 ml
5.88 g	Citrato trisódico
algunos cristales	NaH_2PO_4

4.-Amortiguador Lactato 1 M pH 7.0 para tinción.

Volumen final	100 ml
9 ml	Acido Láctico
70 ml	Agua destilada

Ajustar el pH con NaOH al 40% y completar a 100 ml con agua destilada.

5.-Amortiguador Malato pH 7.0 y 8.0 para tinción.

Volumen final	100 ml
2.8 g	Acido L-málico
100 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0

Ajustar el pH con NaOH al 40%.

6.- 0.5 M Tris/HCl pH 8.0. Amortiguador para tinción.

Volumen final 1 l

60.55 g Tris
80 ml Agua destilada
Ajustar con HCl a pH 8.0 y completar a 100 ml.

7.- 0.1 M Tris/HCl pH 8.0. Amortiguador para tinción.

Volumen final 100 ml

20 ml Amortiguador 0.5 M Tris/HCl pH 8.0
80 ml Agua destilada

8.- 0.2 M Tris/HCl pH 7.5. Amortiguador para tinción.

Volumen final 500 ml

12.11 g Tris
400 ml Agua destilada
Ajustar con HCl a pH 7.5 y completar a 500 ml

9.- 0.1 M Tris/HCl pH 7.5. Amortiguador para tinción.

Volumen final 100 ml

50 ml Amortiguador 0.2 M Tris/HCl pH 7.5
50 ml Agua destilada

10.- Tris/Pyrophosphate. Amortiguador para tinción.

Volumen final 100 ml

0.60 g Tris
0.90 g Pirofosfato tetrasódico
Ajustar con HCl a pH 7.8 y completar a 100 ml

11.- Amortiguador "R para cubeta" pH 8.1 para tinción de las Esterasas.

Volumen final 200 ml

0.503 g Hidróxido de litio
3.709 g Acido bórico
150 ml Agua destilada
Ajustar el pH con HCl y completar a 200 ml.

12.- Amortiguador "R" pH 8.0 para tinción de las Esterasas.

Volumen final 200 ml

0.726 g Tris (0.03 M)
1.921 g Acido cítrico anhidro (0.005M)
200 ml Amortiguador "R para cubeta"
Verificar que el pH se mantenga cercano a 8.0.

13.- Amortiguador AAT para tinción.

Volumen final 100 ml

0.075 g	α-Ceto-glutarato
0.275 g	Acido L-aspártico ó ácido L-aspartato
0.1 g	EDTA
1 g	Polivinil pirrolidona
1.5 g	NaH_2PO_4
1.5 g	Na_2HPO_4

Completar a 100 ml con agua destilada.

Colorantes.

Soluciones madre (patrón) para:

a) MTT:	5 mg ml^{-1}
b) Azul de Meldola:	0.8 %
c) Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH):	140 unidades ml^{-1}
d) Fosfoglucosa isomerasa (PGI):	700 unidades ml^{-1}

Reactivos y procedimiento para la tinción.

1. Aconitasa ACON (4.2.1.3).

1. Mezclar

75 mg	Acido Cis-aconítico
10 mg	NADP
25 ml	Amortiguador 0.2 M Tris/HCl pH 8.0
16 unidades	Isocitrato deshidrogenasa
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

2. Adenilato kinasa AK (2.7.4.3).

1. Mezclar:

5 mg	$MgCl_2$ $6H_2O$
10 mg	ADP (sal disódica)
40 mg	Glucosa
5 mg	NADP
25 µl	Hexoquinasa (280 unidades/ml)
25 µl	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PD, 140 un/ml)
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

3. Adenosina desaminasa ADA (3.5.4.4).

1. Mezclar:

15 mg	Adenosina
25 µl	Nucleósido fosforilasa (25 unidades/ml)
25 µl	Xantina oxidasa (4 unidades/ml)
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola
25 ml	Amortiguador

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

4. Alcohol deshidrogenasa ADH (1.1.1.1).

1. Mezclar:

20 mg	NAD
2 ml	Etanol absoluto
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

5. Aldolasa ALD (4.1.2.13).

1. Mezclar:

100 mg	Fructuosa 1,6 -difosfato
50 mg	Acido arsénico
10 µl	Gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa (100 unidades/100 µl)
20 mg	NAD
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.5 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

6. Aspartato aminotransferasa AAT (2.6.1.1).

1. Añadir sobre el gel:

35 ml	Amortiguador AAT

2. Incubar 1 hora
3. Recuperar el amortiguador y adicionarle:

10 mg	Sal de Fast Garnet GBC

4. Incubar hasta que aparezcan las manchas.

7. Diaforasa DIA (1.6.2.2).

1. Mezclar:

10 mg	NADH (Na_2 sal)
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.025 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
0.1 mg	Diclorofenol indofenol

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

8. Enzima Málica ME (1.1.1.40).

1. Mezclar

5 mg	$MgCl_2$ $6H_2O$
5 mg	NAD^+
1 ml	Solución patrón de MTT
25 ml	Amortiguador Malato (Acido L-málico) pH 7.0
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

9. Esterasa D ESD (3.1.1.1).

1. Vertir sobre el gel:

30 ml	Amortiguador Tris/Maleato 0.1 M pH 5.3

2. Esperar 10 minutos
3.Disolver independientemente:

10 mg	Metilumbeligeril acetato

En:

5 ml	Acetona

4. Adicionarle a la mezcla anterior:

25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 5.3

5. Absorber la solución con papel flitro (cromatografía cortado al tamaño del gel) y colocar sobre el gel
6. Monitorear constantemente bajo luz UV hasta que aparezcan las bandas.

10. Esterasas EST (3.1.1.-).

1. Disolver en 5 ml de acetona:

20 mg	α Naftil acetato
20 mg	β Naftil acetato

2. Adicionar la mezcla a:

40 ml	Amortiguador "R"
20 mg	Fast blue BB sal

3. Cubrir el gel con esta mezcla e incubar a 35° C.

11. Fosfo-glucomutasa PGM (2.7.5.1).

1. Mezclar:

5 mg	$MgCl_2$ $6H_2O$
5 mg	NADP
50 mg	Glucosa 1 fosfato.
20 µl	G-6-PDH.
25 ml	Amortiguador 0.1 M Tris/HCl pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

12. 6-Fosfogluconato deshidrogenasa PGD (1.1.1.44).

1. Mezclar:

5 mg	$MgCl_2$ $6H_2O$
15 mg	Acido 6-fosfoglucónico (Sal trisódica)
5 mg	NADP
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.5 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

13. Fumarasa FUM (4.2.1.2).

1. Mezclar:

60 mg	Acido fumárico
20 mg	NAD
20 mg	Acido pirúvico
10 µl	Malato deshidrogenasa (6000 unidades ml^{-1}) 60 U
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.5 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

14. Glicerato deshidrogenasa G2DH (1.1.1.29).

1. Mezclar:

50 mg	Acido glicérico
10 mg	NAD
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

15. Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa GPD ó GAPDH (1.2.1.12).

1. Mezclar:

55 mg	Fructosa 1,6 difosfato
2 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.05 M pH 7.5
100 unidades	Aldolasa
20 mg	NAD
150 mg	Arsenato sódico
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

4. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
5. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

16. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa G6PD ó GD (1.1.4.9).

1. Mezclar:

10 mg	Glucosa-6-fosfato
5 mg	NADP
5 mg	$MgCl_2$
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.2 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

17. Glucosa-6-fosfato isomerasa GPI (5.3.1.9).

1. Mezclar:

5 mg	$MgCl_2$ $6H_2O$
5 mg	NADP
20 mg	Fructosa 6 fosfato.
20 µl	Glucosa-6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH).
25 ml	Amortiguador 0.1 M Tris/HCl pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

18. Glucosa deshidrogenasa GDH (1.1.1.47).

1. Mezclar:

9 g	Glucosa
20 mg	NAD
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 7.5
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

19. Glutation reductasa GSR (1.6.4.2).

1. Mezclar:

40 mg	Glutation oxididado
10 mg	NADPH
0.1 mg	2, 6-diclorofenol indofenol
0.1 M	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

20. Hexoquinasa HK (2.7.1.1).

1. Mezclar:

40 ml	Amortiguador Tris 0.1M /HCl pH 7.5
400 mg	Glucosa
40 mg	ATP
5 mg	NADP
5 mg	$MgCl_26H_2O$
40 µl	Glucosa-6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH) (140 unidades/ml)
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

21. 3-Hidroxibutirato deshidrogenasa HBDH (1.1.1.30).

1. Mezclar:

100 mg	D, L, β- Hidroxibutirato
5 mg	NAD
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.5 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C

22. Isocitrato deshidrogenasa IDH (1.1.1.42).

1. Mezclar:

5 mg	$MgCl_2$ $6H_2O$
10 mg	NADP
20 mg	Acido isocítrico
25 ml	Amortiguador 0.5 M Tris/HCl
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

23. L-Lactato deshidrogenasa LDH (1.1.1.27).

1. Mezclar:

25 ml	Amortiguador Lactato 0.5 M pH 7.0
5 mg	NAD
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

24. Leucin amino peptidasa LAP (3.4.11.-).

1. Mezclar:

40 mg	L-leucin-β-naftilamida
40 ml	Agua destilada

2. Colocar sobre e l gel e incubar a 35° C.
3. Observar bajo luz UV hasta que aparezcan las bandas (15-20 min). Cuando las bandas estén claras enjuagar el sustrato con agua corriente y eliminar el exceso de agua.
4. Mezclar:

10 mg	Fast Garnet
30 ml	Amortiguador 0.1 M Tris/HCl pH 8

5. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
6. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

25. Malato deshidrogenasa MDH (1.1.1.37).

1. Mezclar:

5 mg	$MgCl_2$ $6H_2O$
5 mg	NAD^+
1 ml	Solución patrón de MTT
25 ml	Amortiguador malato (Acido L-málico) HCl pH 8.0
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

26. Manosa-fosfato isomerasa MPI (5.3.1.8).

1. Mezclar:

5 mg	$MgCl_2$ $6H_2O$
10 mg	NADP
5 mg	NAD
20 mg	Acido pirúvico
25 mg	Manosa-6-fosfato
25 ml	Amortiguador 0.2 Tris/HCl pH 7.5
20 µl	PGI
25 µl	G-6-PDH
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

27. Oxidasa hidroxiácida GOX (1.1.3.1).

1. Mezclar:

50 mg	Acido glicólico
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.2 M pH 7.5
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

28. Purina nucleósido fosforilasa NP (2.4.2.1).

1. Mezclar:

200 mg	Inosina
200 mg	Acido arsénico
2 unidades	Xantina oxidasa
25 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 7
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

29. Pirofosfatasa Inorgánica IPP (3.6.1.1).

Fase I.

1. Mezclar:

25 mg	$MgCl_2 6H_2O$
25 ml	Amortiguador Tris-Pirofosfato pH 7.8

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Cubrir el gel con la mezcla e incubar a 35° C por 50 minutos

Fase II.

1. Retirar el agar
2. Mezclar:

50 mg	Acido molíbdico
24.5 ml	Agua destilada
0.5 ml	H_2SO_4
3 g	Acido ascórbico

3. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
4. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

30. Sorbitol deshidrogenasa SDH (1.1.1.14).

1. Mezclar:

125 mg	Sorbitol
5 mg	NAD
5 mg	$MgCl_2$
50 mg	Piruvato de sodio, inhibe *Ldh*
50 mg	Pirazol inhibe ADH
50 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.05 M pH 8.0
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

31. Superóxido dismutasa SOD (1.15.1.1).

1. Mezclar:

20 mg	NAD
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Añadir 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel, exponer por 15 seg a rayos solares e incubar a 35° C.

32. Triosa fosfato isomerasa TPI (5.3.1.1).

Fase I.

1. Mezclar:

325 mg	α Glicerofosfato
220 mg	Piruvato de sodio o ácido pirúvico
20 mg	NAD
10 µl	α Glicerofosfato deshidrogenasa (80 unidades/ml)
5.1 µl	Lactato deshidrogenasa (2750 unidades/ml)

2. Incubar la mezcla a 37° C por 2 horas
3. Detener la reacción con gotas de HCl hasta pH 2.0.
4. Ajustar el pH a 8.0 con NaOH

Fase II.

1. Añadir:

20 mg	NAD
50 µl	Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (800 unidades/ml)
50 mg	Arsenato de sodio (arsénico)
1 ml	Solución patrón de MTT
25 µl	Azul de Meldola

2. Agregar 25 ml de agar al 2% y mezclar.
3. Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

APENDICE 2.

Análisis de Covarianza para la comparación de las pendientes de regresión lineal del peso total (log) (g) contra el largo (log) (mm), se utilizó una corrección del nivel de significancia con un $\alpha'=0.01$*.

En este análisis se comparan:
1. Si los interceptos son iguales entre sí.
2. Si las pendientes son iguales a cero.
3. Si las pendientes son iguales entre sí

Comparación de las pendientes de los lotes D, E, F, G y H

Fte.Var	Gl	SC secuencial	SC ajustada	CM ajustado	F	p*
1	4	32.1231	0.0344	0.0086	3.09	0.016
2	1	15.7691	14.4676	14.4676	5202.29	0.000
3	4	0.0241	0.0241	0.0060	2.17	0.072
Error	288	0.8009	0.8009	0.0028		
Total	297	48.7172				

Comparación de las pendientes de los lotes J6, J8 y J10

Fte.Var	Gl	SC secuencial	SC ajustada	CM ajustado	F	p*
1	2	23.2868	0.0034	0.0017	1.07	0.346
2	1	3.3747	3.3487	3.3487	2119.78	0.000
3	2	0.0040	0.0040	0.0020	1.26	0.287
Error	201	0.3175	0.3175	0.0016		
Total	206	26.9830				

Comparación de las pendientes de los lotes K6 y K8

Fte.Var	Gl	SC secuencial	SC ajustada	CM ajustado	F	p*
1	1	3.4912	0.0114	0.0114	9.81	0.002
2	1	3.5047	3.4140	3.4140	2933.53	0.000
3	1	0.0123	0.0123	0.0123	10.57	0.001 ♦
Error	200	0.2328	0.2328	0.0012		
Total	203	7.2409				

♦ Significativo, las pendientes de los lotes K6 y K8 son diferentes

Comparación de las pendientes de los lotes D, E, F, G, H, J6, J8 y J10

Fte.Var	Gl	SC secuencial	SC ajustada	CM ajustado	F	p*
1	7	495.793	0.059	0.008	3.66	0.001
2	1	19.111	15.174	15.174	6634.37	0.000
3	7	0.061	0.061	0.009	3.80	0.001 ♦
Error	489	1.118	1.118	0.002		
Total	504	516.083				

♦Significativo, las pendientes de los lotes son diferentes

Comparación de las pendientes de los lotes J6, J8, J10 y K8

Fte.Var	Gl	SC secuencial	SC ajustada	CM ajustado	F	p*
1	3	23.3379	0.0034	0.0011	0.81	0.488
2	1	4.7302	4.6680	4.6680	3316.17	0.000
3	3	0.0040	0.0040	0.0013	0.95	0.417
Error	300	0.4223	0.4223	0.0014		
Total	307	28.4944				

APENDICE 3.

Análisis de regresión lineal simple y ANDEVA de la regresión de la heterocigosidad individual por conteo directo contra la marca de clase del largo (mm), se utilizó una corrección del nivel de significancia con un $\alpha'=0.00417$*.b_0= ordenada al origen, b_1= pendiente.

Ho: no existe correlación entre heterocigosidad individual y talla (largo)
Ha: existe correlación

Resumen de la Regresión Lineal lote D
R= 0.01564240 R^2= 0.00024468 R^2 Ajustada= -----
F(1,51)=0.01248 p< 0.91148 Error estándar de la estimación: 0.11865

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(51)	p*
Intercepto			0.145206	0.073319	1.980464	0.053058
Pendiente	-0.015642	0.140011	-0.000162	0.001450	-0.111723	0.911482

Análisis de Varianza de la Regresión lote D

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.000176	1	0.000176	0.012482	0.911482
Residual	0.717997	51	0.014078		
Total	0.718173				

Resumen de la Regresión Lineal lote E
R= 0.08050744 R^2= 0.00648145 R^2 Ajustada= -----
F(1,52)=0.33923 p<0.56279 Error estándar de la estimación: 0.12358

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(52)	p*
Intercepto			0.221150	0.080275	2.754909	0.008073
Pendiente	0.080507	0.138225	0.001161	0.001994	0.582438	0.562789

Análisis de Varianza de la Regresión lote E

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.005181	1	0.005181	0.339234	0.562789
Residual	0.794170	52	0.015272		
Total	0.799351				

Resumen de la Regresión Lineal lote F

R= 0.03969407 R^2= 0.00157562 R^2 Ajustada= -----

F(1,52)=0.08206 p<0.77566 Error estándar de la estimación: 6.1504

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(52)	p*
Intercepto			41.86796	1.25569	33.34250	0.000000
Pendiente	0.039694	0.138566	3.41546	11.92284	0.28646	0.775661

Análisis de Varianza de la Regresión lote F

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	3.104	1	3.10422	0.082062	0.775661
Residual	1967.053	52	37.82794		
Total	1970.157				

Resumen de la Regresión Lineal lote G

R= 0.17100044 R^2= 0.02924115 R^2 Ajustada=0 .01126413

F(1,54)=1.6266 p<0.20764 Error estándar de la estimación: 6.6790

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(54)	p*
Intercepto			31.13070	1.607425	19.36682	0.000000
Pendiente	0.171000	0.134078	9.56887	7.502784	1.27538	0.207636

Análisis de Varianza de la Regresión lote G

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	72.560	1	72.55982	1.626585	0.207636
Residual	2408.869	54	44.60868		
Total	2481.428				

Resumen de la Regresión Lineal lote H

R=0 .07543143 R^2=0 .00568990 R^2 Ajustada= -----

F(1,79)=0.45207 p<0.50331 Error estándar de la estimación: 3.6128

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(79)	p*
Intercepto			24.97992	0.612247	40.80038	0.000000
Pendiente	0.075431	0.112188	2.98745	4.443197	0.67236	0.503313

Análisis de Varianza de la Regresión lote H

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	5.901	1	5.90074	0.452074	0.503313
Residual	1031.155	79	13.05259		
Total	1037.056				

Resumen de la Regresión Lineal lote J6

R= 0.20385276 R^2= 0.04155595 R^2 Ajustada= 0.02746118

F(1,68)=2.9483 p<0.09052 Error estándar de la estimación: 0.09668

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(68)	p*
Intercepto			-0.078343	0.099499	-0.787371	0.433801
Pendiente	0.203853	0.118721	0.027338	0.015921	1.717069	0.090518

Análisis de Varianza de la Regresión lote J6

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.027556	1	0.027556	2.948325	0.090518
Residual	0.635561	68	0.009346		
Total	0.663117				

Resumen de la Regresión Lineal lote J8

R= 0.26763518 R^2= 0.07162859 R^2 Ajustada= 0.05734595

F(1,65)=5.0151 p<0.02856 Error estándar de la estimación: 0.14573

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(65)	p*
Intercepto			-0.269842	0.192541	-1.40148	0.165828
Pendiente	0.267635	0.119510	0.057103	0.025499	2.23944	0.028555

Análisis de Varianza de la Regresión lote J8

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.106509	1	0.106509	5.015081	0.028555
Residual	1.380453	65	0.021238		
Total	1.486962				

Resumen de la Regresión Lineal lote J10

R=0 .23128784 R^2= 0.05349407 R^2 Ajustada=0 .03957486

F(1,68)=3.8432 p<0.05405 Error estándar de la estimación: 0.17052

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(68)	p*
Intercepto			-0.218847	0.223546	-0.978981	0.331059
Pendiente	0.231288	0.117980	0.036784	0.018763	1.960404	0.054047

Análisis de Varianza de la Regresión lote J10

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.111743	1	0.111743	3.843184	0.054047
Residual	1.977149	68	0.029076		
Total	2.088892				

Resumen de la Regresión Lineal lote J Global

R= 0.37600381 R^2=0.14137886 R^2 Ajustada= 0.13719047

F(1,205)=33.755 p<0.00000 Error estándar de la estimación: 0.14176

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(205)	p*
Intercepto			-0.033589	0.034102	-0.984957	0.325806
Pendiente	0.376004	0.064718	0.022198	0.003821	5.809896	0.000000 ♦

♦Significativo, existe correlación entre heterocigosidad individual y Talla (largo).

Análisis de Varianza de la Regresión lote J Global

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.678296	1	0.678296	33.75489	0.000000 ♦
Residual	4.119425	205	0.020095		
Total	4.797722				

♦Significativo, existe correlación entre heterocigosidad individual y Talla (largo).

Resumen de la Regresión Lineal lote K6

R= 0.11276032 R^2=0 .01271489 R^2 Ajustada= 0.00293979

F(1,101)=1.3007 p<0.25677 Error estándar de la estimación: 0.14859

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(101)	p*
Intercepto			0.242143	0.117844	2.05479	0.042481
Pendiente	-0.112760	0.098869	-0.020119	0.017640	-1.14050	0.256775

Análisis de Varianza de la Regresión lote K6

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.028721	1	0.028721	1.300743	0.256775
Residual	2.230126	101	0.022080		
Total	2.258847				

Resumen de la Regresión Lineal lote K8

R= 0.03817631 R^2= 0.00145743 R^2 Ajustada= -----

F(1,99)=0.14450 p<0.70467 Error estándar de la estimación: 0.09615

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(99)	p*
Intercepto			0.061992	0.099675	0.621937	0.535413
Pendiente	0.038176	0.100431	0.004497	0.011830	0.380127	0.704666

Análisis de Varianza de la Regresión lote K8

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.001336	1	0.001336	0.144496	0.704666
Residual	0.915202	99	0.009244		
Total	0.916538				

Resumen de la Regresión Lineal lote K Global

R= 0.06352831 R^2= 0.00403585 R^2 Ajustada= -----

F(1,202)=0.81854 p<0.36668 Error estándar de la estimación: 0.12521

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(202)	p*
Intercepto			0.153781	0.055401	2.775797	0.006024
Pendiente	-0.063528	0.070218	-0.006600	0.007295	-0.904734	0.366684

Análisis de Varianza de la Regresión lote K Global

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.012832	1	0.012832	0.818544	0.366684
Residual	3.166755	202	0.015677		
Total	3.179588				

APENDICE 4.

Análisis de regresión lineal simple y ANDEVA de la regresión de la heterocigosidad individual por conteo directo contra la marca de clase del peso total (g), se utilizó una corrección del nivel de significancia con un α'=0.00417.

b_0= ordenada al origen, b_1= pendiente.

Ho: no existe correlación entre heterocigosidad individual y talla (peso total)

Ha: existe correlación

Resumen de la Regresión Lineal lote D

R= 0.01630385 R^2= 0.00026582 R^2 Ajustada= -----

F(1,51)=0.01356 p<0.90775 Error estándar de la estimación: 0.11865

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(51)	p*
Intercepto			0.139777	0.027350	5.110693	0.000005
Pendiente	-0.01630	0.140009	-0.000114	0.000977	-0.116448	0.90775

Análisis de Varianza de la Regresión lote D

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.000191	1	0.000191	0.013560	0.907755
Residual	0.717982	51	0.014078		
Total	0.718173				

Resumen de la Regresión Lineal lote E

R= 0.04852111 R^2= 0.00235430 R^2 Ajustada= -----

F(1,52)=0.12271 p<0.72753 Error estándar de la estimación: 0.12384

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(52)	p*
Intercepto			0.259130	0.027782	9.327217	0.000000
Pendiente	0.048521	0.138512	0.000864	0.002465	0.350303	0.727526

Análisis de Varianza de la Regresión lote E

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.001882	1	0.001882	0.122712	0.727526
Residual	0.797469	52	0.015336		
Total	0.799351				

Resumen de la Regresión Lineal lote F

R= 0.04982273 R^2= 0.00248230 R^2 Ajustada= -----

F(1,52)=0.12940 p<0.72051 Error estándar de la estimación: 0.07145

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(52)	p*
Intercepto			0.069313	0.027358	2.533550	0.014345
Pendiente	0.049823	0.138503	0.000785	0.002181	0.359724	0.720511

Análisis de Varianza de la Regresión lote F

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.000661	1	0.000661	0.129401	0.720511
Residual	0.265445	52	0.005105		
Total	0.266105				

Resumen de la Regresión Lineal lote G

R= 0.13292201 R^2= 0.01766826 R^2 Ajustada= -----

F(1,54)=0.97125 p<0.32876 Error estándar de la estimación: 0.12007

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(54)	p*
Intercepto			0.150862	0.032031	4.709906	0.000018
Pendiente	0.132922	0.134875	0.005236	0.005313	0.985518	0.328765

Análisis de Varianza de la Regresión lote G

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.014001	1	0.014001	0.971246	0.328765
Residual	0.778453	54	0.014416		
Total	0.792455				

Resumen de la Regresión Lineal lote H

R= 0.09342175 R^2= 0.00872762 R^2 Ajustada= -----

F(1,79)=0.69555 p<0.40680 Error estándar de la estimación: 0.09108

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(79)	p*
Intercepto			0.081412	0.028961	2.811111	0.006223
Pendiente	0.09342	0.112017	0.009386	0.011254	0.833998	0.406797

Análisis de Varianza de la Regresión lote H

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.005770	1	0.005770	0.695553	0.406797
Residual	0.655388	79	0.008296		
Total	0.661159				

Resumen de la Regresión Lineal lote J6

R= 0.14271053 R^2=0.02036630 R^2 Ajustada= 0.00595992

F(1,68)=1.4137 p<0.23858 Error estándar de la estimación: 0.09774

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(68)	p*
Intercepto			0.041560	0.043474	0.955973	0.342472
Pendiente	0.14271	0.120027	1.344598	1.130873	1.188991	0.238579

Análisis de Varianza de la Regresión lote J6

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.013505	1	0.013505	1.413700	0.238579
Residual	0.649612	68	0.009553		
Total	0.663117				

Resumen de la Regresión Lineal lote J8

R= 0.31652227 R^2= 0.10018635 R^2 Ajustada= 0.08634306

F(1,65)=7.2372 p<0.00907 Error estándar de la estimación: 0.14347

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(65)	p*
Intercepto			0.032735	0.050273	0.651139	0.517252
Pendiente	0.31652	0.117657	2.016350	0.749517	2.690201	0.009066

Análisis de Varianza de la Regresión lote J8

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.148973	1	0.148973	7.237180	0.009066
Residual	1.337989	65	0.020584		
Total	1.486962				

Resumen de la Regresión Lineal lote J10

R= 0.27561760 R^2= 0.07596506 R^2 Ajustada= 0.06237631

F(1,68)=5.5903 p<0.02092 Error estándar de la estimación: 0.16848

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(68)	p*
Intercepto			0.035956	0.079407	0.452804	0.652132
Pendiente	0.27561	0.116571	0.797894	0.337464	2.364380	0.020922

Análisis de Varianza de la Regresión lote J10

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.158683	1	0.158683	5.590291	0.020922
Residual	1.930210	68	0.028385		
Total	2.088892				

Resumen de la Regresión Lineal lote J Global

R= 0.37911247 R^2= 0.14372627 R^2 Ajustada= 0.13954932

F(1,205)=34.409 p<0.00000 Error estándar de la estimación: 0.14156

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(205)	p*
Intercepto			0.087785	0.015244	5.758494	0.000000
Pendiente	0.37911	0.064629	0.621838	0.106008	5.865954	<0.001 ♦

♦ Significativo, existe correlación entre heterocigosidad y talla (peso total).

Análisis de Varianza de la Regresión lote J Global

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.689559	1	0.689559	34.40942	<0.001♦
Residual	4.108163	205	0.020040		
Total	4.797722				

♦Significativo, existe correlación entre heterocigosidad y talla (peso total).

Resumen de la Regresión Lineal lote K6

R= 0.10704840 R^2= 0.01145936 R^2 Ajustada= 0.00167183

F(1,101)=1.1708 p<0.28181 Error estándar de la estimación: 0.14869

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(101)	p*
Intercepto			0.15721	0.047093	3.33835	0.001181
Pendiente	-0.107048	0.098932	-1.13313	1.047214	-1.08204	0.281811

Análisis de Varianza de la Regresión lote K6

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.025885	1	0.025885	1.170812	0.281811
Residual	2.232962	101	0.022109		
Total	2.258847				

Resumen de la Regresión Lineal lote K8

R= 0.04781756 R^2= 0.00228652 R^2 Ajustada= -----

F(1,99)=0.22688 p<0.63489 Error estándar de la estimación: 0.09611

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(99)	p*
Intercepto			0.083847	0.034640	2.420539	0.017320
Pendiente	0.04781	0.100389	0.209951	0.440775	0.476324	0.634893

Análisis de Varianza de la Regresión lote K8

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.002096	1	0.002096	0.226884	0.634893
Residual	0.914443	99	0.009237		
Total	0.916538				

Resumen de la Regresión Lineal lote K Global

R= 0.04492650 R^2= 0.00201839 R^2 Ajustada= -----

F(1,202)=0.40854 p<0.52344 Error estándar de la estimación: 0.12533

	b_0	EE de b_0	b_1	EE de b_1	t(202)	p*
Intercepto			0.117785	0.022865	5.151282	0.000001
Pendiente	-0.0449	0.070289	-0.22883	0.358019	-0.639171	0.523436

Análisis de Varianza de la Regresión lote K Global

	SC	gl	CM	F	p*
Regresión	0.006418	1	0.006418	0.408539	0.523436
Residual	3.173170	202	0.015709		
Total	3.179588				

APENDICE 5.

Análisis de varianza de para probar si existe correlación entre los genotipos y la talla (largo ó peso total).

Ho: largo ó peso no dependen del genotipo

Ha: Dependen del genotipo

Se presentan sólamente las tablas en las cuales se rechazó la Ho con su prueba *a posteriori* correspondiente.

Me lote J10	gl efecto	CM efecto	gl error	CM error	F	p
Largo	2	14.22494	45	1.387092	10.25523	**0.000214**

Para *Me* el peso total depende del genotipo.

Probabilidades de las pruebas *a posteriori* (Tukey)

genotipos *Me* lote J10	80-80	80-100	100-100
promedio largo	11.39833	12.28167	9.993333
80-80		0.169311	0.108538
80-100			**0.004509**

Los heterocigotos 80-100 son más grandes que los homocigotos 100-100, pero son iguales a los homocigotos 80-80, y éstos son iguales a los homocigotos 100-100.

Me lote J10	gl efecto	CM efecto	gl error	CM error	F	p
Peso total	2	0.028207	45	0.003246	8.688402	**0.000645**

Para *Me* el peso total depende del genotipo.

Probabilidades de las pruebas *a posteriori*

genotipos *Me* lote J10	80-80	80-100	100-100
Promedio peso total	0.2036833	0.2452700	0.1443833
80		0.185281	0.180371
80-100			**0.010133**

Los heterocigotos 80-100 son más grandes que los homocigotos 100-100, pero son iguales a los homocigotos 80-80, y éstos son iguales a los homocigotos 100-100.