

Centro de Investigacion Cientifica y de
Educacion Superior de Ensenada

VARIABILIDAD GENETICA DE DOS
POBLACIONES DEL MEJILLON
Modiolus capax -Conrad- -*Bivalvia Mytilidae*.
DEL GOLFO DE CALIFORNIA

TESIS
MAESTRIA EN CIENCIAS

MIGUEL ANGEL CERUANTES FRANCO

Ensenada, Baja California, Mexico. Septiembre de 1994.

RESUMEN de la Tesis de Miguel Angel Cervantes Franco presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en OCEANOLOGIA con opción en ECOLOGIA MARINA. Ensenada, Baja California, México. Septiembre de 1994.

VARIABILIDAD GENETICA DE DOS POBLACIONES DEL MEJILLON
Modiolus capax (Conrad) (Bivalvia-Mytilidae)
DEL GOLFO DE CALIFORNIA

Resumen aprobado por:


M. C. Claudia Farfán
Director de Tesis

En el presente estudio, mediante métodos de genética bioquímica, se estimó la variabilidad genética del mejillón *Modiolus capax* (Conrad), en las dos poblaciones más extremas de la costa occidental del Golfo de California, San Felipe, B.C. y Bahía de La Paz, B.C.S. En la primera la variación genética a nivel intrapoblacional se analizó en tres niveles de exposición promedio anual a la desecación (20, 10 y 0 %) y en la Bahía de La Paz en los demos conocidos como El Caimancito, La Marina y El Barco Hundido. Se realizaron electroforesis horizontales en gel de almidón al 12 % de los homogeneizados del tejido blando total de los mejillones y se revelaron 11 sistemas enzimáticos. Se estudió un promedio de 89.2 organismos por población (29.7 por demo) y un promedio de 178 ± 1 genes en 12 loci; de éstos cinco fueron monomórficos (Xdh, Mdh, G6pdh, Pto y Aat), los siete loci restantes (Gpi, Lap, Pgm, Idh, Est-1, Est-2, Gapdh) fueron polimórficos en ambas poblaciones y presentaron una alta variabilidad alozimática (19, 18, 8, 7, 6, 4 y 4, respectivamente). En términos de polimorfismo y heterocigosis, la estructura genética de *M. capax* en las tres localidades estudiadas de la Bahía de La Paz, así como en los tres niveles del intermareal de San Felipe, fue homogénea. Los niveles de polimorfismo global (P_{95}) en ambas poblaciones fue de 58.3 %. La heterocigosis observada (H_o) en la población de La Paz fue de 0.124 ± 0.066 y la heterocigosis esperada (H_e) de 0.260 ± 0.086 . En San Felipe la H_o fue de 0.116 ± 0.065 y la H_e de 0.221 ± 0.075 . En ambas poblaciones el 71.4 % de los loci polimórficos registró deficiencias de heterocigotos. Los estimadores "F" revelaron que sólo el 2.9 % de la variación genética total de los loci polimórficos estuvo asociada a la variación interpoblacional (F_{ST}). Los valores promedio de homogeneidad intrapoblacional (F_{IS}) e interpoblacional (F_{IT}) fueron de 0.498 y 0.513, respectivamente, lo que corrobora que en ambas poblaciones existe una importante deficiencia de organismos heterocigotos y que las dos poblaciones comparten una misma estructura genética. La alta homogeneidad genética de *M. capax* en el Golfo de California pudiera obedecer por una parte a que las posibilidades de que ocurra un grado importante de hibridación interespecífica es baja y por otro lado a que *M. capax* se distribuye a lo largo del Golfo de California, incluyendo las islas intermedias, lo cual aunado a la vigorosa dinámica de la circulación superficial del Golfo

puede facilitar un importante flujo génico entre las poblaciones aledañas e incluso entre las poblaciones de la península de Baja California y Sonora. En virtud de la alta homogeneidad genética observada se deduce que el manejo de las poblaciones de *M. capax* del Golfo de California, en términos de trasplantes, repoblamiento u operaciones de cultivo, no alteraría el reservorio genético de la especie.

ABSTRACT

This work examines, through biochemical genetic methods, the genetic variability of the horse mussel *Modiolus capax* (Conrad) from the two most extreme populations on the western coast of the Gulf of California; San Felipe, B.C. and the Bahía de La Paz, B.C.S. At the first site the genetic variability at the intrapopulation level was analyzed in three different intertidal levels (average annual desiccation periods: 20, 10 and 0 %) and at Bahía de La Paz in the sites known as El Caimancito, La Marina and El Barco Hundido. Horizontal starch (12 %) gel electrophoresis were done to the homogenates of the mussel's soft tissues and 11 enzymatic systems were developed. An average of 89.2 organisms per population (29.7 per sample) and an average of 178 ± 1 genes in 12 loci were analyzed: five of these were monomorphic (Xdh, Mdh, G6pdh, Pto and Aat), the others seven loci (Gpi, Lap, Pgm, Idh, Est-1, Est-2 and Gapdh) were polymorphic in both populations and had a high allozymatic variability (19, 18, 8, 7, 4 and 4, respectively). In terms of polymorphism and heterozygosity the genetic structure of *M. capax* at the three where samples were taken in Bahía de La Paz, as well as at the three intertidal levels in San Felipe, were homogeneous. The levels of global polymorphism (P95) in both populations was 58.3 %. The observed heterozygosity (H_o) in the population of Bahía de La Paz was 0.124 ± 0.066 and the expected heterozygosity (H_e) was 0.260 ± 0.086 . In San Felipe the H_o was 0.116 ± 0.065 and H_e was 0.221 ± 0.075 . In both populations 71.4 % of the polymorphic loci showed heterozygote deficiency. The "F" statistics showed that only 2.9 % of the total genetic variability of the polymorphic loci was related to the interpopulation variability (F_{ST}). The average values of intrapopulation (F_{IS}) and interpopulation (F_{IT}) homogeneity were 0.498 and 0.513, respectively, all of which supports the assertion that in both populations there is an important deficit of heterozygote organisms and that the two populations share a similar genetic structure. The high genetic homogeneity of *M. capax* in the Gulf of California could be attributed on one hand to the unlikelihood of an important degree of interespecific hybridization and on the other hand to the fact that *M. capax* is distributed throughout the Gulf of California, including the mid islands, which coupled to the vigorous dynamic of the surface circulation of the Gulf of California could facilitate an important genetic flow between adjacent populations and even between the populations of the Baja California peninsula and Sonora. Due the high genetic homogeneity found, it is inferred that the handling of the populations of *M. capax* in the Gulf of California, in terms of transplants, repopulating or culture operations, will not change the genetic pool of the species.

TESIS DEFENDIDA POR: MIGUEL ANGEL CERVANTES FRANCO

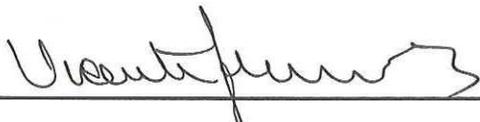
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITE:



M. en C. **CLAUDIA FARFAN**-Director del Comité



DR. JORGE DE LA ROSA VELEZ.- Miembro del Comité



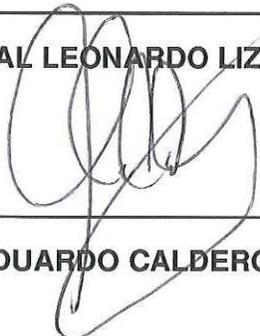
M. en C. **VICENTE FERREIRA BARTRINA**.- Miembro del Comité



M. en C. **JOSE FELIX AGUILAR VALDEZ**.- Miembro del Comité



DR. MARCIAL LEONARDO LIZARRAGA PARTIDA.- Jefe del Departamento de Ecología



DR. LUIS EDUARDO CALDERON AGUILERA.- Director de Estudios de Posgrado

17 DE OCTUBRE DE 1994

CENTRO DE INVESTIGACION CIENTIFICA Y DE
EDUCACION SUPERIOR DE ENSENADA

DIVISION DE OCEANOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA

VARIABILIDAD GENETICA DE DOS POBLACIONES DEL MEJILLON

Modiolus capax (Conrad) (Bivalvia-Mytilidae)

DEL GOLFO DE CALIFORNIA

TESIS

Que para cubrir parcialmente los requisitos para obtener el grado de MAESTRO EN
CIENCIAS, presenta:

MIGUEL ANGEL CERVANTES FRANCO

Ensenada, Baja California, septiembre de 1994.

AGRADECIMIENTOS

Mi más profundo y sincero agradecimiento a la M.C. Claudia Farfán por su especial interés en la Dirección, asesoría, paciencia y apoyo brindado para hacer posible el presente trabajo.

Mi infinita gratitud al Dr. Jorge de la Rosa por sus invaluable y acertados comentarios y sugerencias, además de todo el apoyo brindado para y durante la realización del presente trabajo.

Al M.C. Vicente Ferreira y al M.C. Felix Aguilar, miembros del Comité de Tesis quienes además de su valiosa colaboración y asesoría me brindaron su amistad.

Al CONACyT y a la D.G.E.T.I. por haberme brindado la oportunidad de realizar la Maestría. De manera muy especial a la Q.F.B. Armida Ayala por el gran apoyo que me brindo, además de su confianza y entrañable amistad.

Al Biól. Norberto Flores por el gran apoyo brindado durante la colecta de las muestras y por su oportuno apoyo en el laboratorio y al M.C. Roberto Escobar por su valiosa colaboración durante el análisis de las muestras y por brindarme el favor de su amistad.

Al Oc. Cesar Almeida por su amistad y ayuda desinteresada.

A mi gran amigo Pablo Piña y su esposa, por el tiempo dedicado al análisis de los datos, por el apoyo moral y económico y por todos los momentos compartidos juntos.

A todos mis amigos y a los que lo fueron, muy en especial a Ernesto, Saúl, Benjamín, Dolores, Leticia, Gabriel y Elizabeth.

DEDICATORIA

A mis tres amores:

Laura, Laurita y Miguelito

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCION.....	1
I.1 Objetivos.....	6
II. MATERIALES Y METODOS.....	7
II.1 Material biológico.....	7
II.2 Análisis electroforético.....	10
II.2.1 Preparación del gel.....	10
II.2.2 Electroforesis.....	12
II.3 Interpretación de los zimogramas.....	13
II.4 Procesamiento de los datos.....	14
III. RESULTADOS.....	18
III.1 Nivel intrapoblacional.....	18
III.1.1 Variación genética.....	18
III.1.2 Estructura genética.....	24
III.1 Nivel interpoblacional.....	24
III.2.1 Variación genética.....	24

CONTENIDO (Continuación)

	<u>Página</u>
III.2.2 Estructura genética.....	28
IV. DISCUSION.....	31
IV.1 Variabilidad genética.....	31
IV.2 Deficiencia heterocigótica.....	39
IV.3 Estructura genética.....	46
V. CONCLUSIONES.....	53
LITERATURA CITADA.....	55

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
1	Localización geográfica de las poblaciones estudiadas del mejillón <i>Modiolus capax</i> (Conrad) del Golfo de California. Población de San Felipe, B.C.: tres niveles de exposición promedio anual a la desecación del banco natural de Punta Estrella. Población de la Bahía de La Paz, B.C.S.: demos de El Caimancito, La Marina y El Barco Hundido.	8

LISTA DE TABLAS

<u>Tabla</u>	<u>Página</u>	
I	Sistemas enzimáticos y amortiguadores utilizados en el estudio electroforético del mejillón <i>Modiolus capax</i> del Golfo de California.	11
II	Frecuencias alélicas y heterocigosis de los loci polimórficos de <i>Modiolus capax</i> en tres demos de la Bahía de La Paz, B.C.S. y en tres niveles de exposición promedio anual a la desecación en San Felipe, B.C.. N^a es el número de genes analizados por locus; H es la heterocigosis por locus.	19
III	Resumen de la variación genética de <i>Modiolus capax</i> en el Golfo de California: a).- Tres demos de la Bahía de La Paz, B.C.S.; b).- Tres niveles de exposición promedio anual a la desecación en San Felipe, B.C. P_{95} = polimorfismo con el criterio del alelo más común con frecuencia ≤ 0.95 ; H_o = heterocigosis media observada; H_e = heterocigosis media esperada (estimación sin sesgo de Nei, 1978); e.e= error estándar.	22
IV	Bondad de ajuste (X^2) entre frecuencias genotípicas observadas y esperadas e índice "D" de <i>Modiolus capax</i> en el Golfo de California: a).- Tres demos de la Bahía de La Paz, B.C.S.; b).- Tres niveles de exposición promedio anual a la desecación en San Felipe, B.C. Índice "D" entre paréntesis; el signo denota deficiencia (-) o exceso (+) de heterocigotos. Significancia de X^2 : *** ($p < 0.001$), ** ($p < 0.01$), * ($p < 0.05$)	23
V	Estimadores "F" promedio para todos los loci polimórficos y el promedio general de <i>Modiolus capax</i> en el Golfo de California: a).- Tres demos de la Bahía de La Paz, B.C.S.; b).- Tres niveles de exposición promedio anual a la desecación en San Felipe, B.C. F_{IS} = homogeneidad intrasubpoblacional. F_{IT} = homogeneidad intrapoblacional. F_{ST} = divergencia intrapoblacional.	25
VI	Frecuencias alélicas (f) y número de genes (n) de los loci polimórficos en las poblaciones de <i>Modiolus capax</i> de la Bahía de La Paz, B.C.S. y San Felipe, B.C.	26

LISTA DE TABLAS (Continuación)

<u>Tabla</u>		<u>Página</u>
VII	Resumen de la variación génica en las poblaciones de <i>Modiolus capax</i> de la Bahía de La Paz, B.C.S. y San Felipe, B.C. P ₉₅ = polimorfismo con el criterio del alelo más común con frecuencia ≤ 0.95 ; H _o = heterocigosis media observada; H _e = heterocigosis media esperada; e.e.= error estándar.	29
VIII	Bondad de ajuste (X^2) entre frecuencias genotípicas observadas y esperadas e índice "D" en dos poblaciones de <i>Modiolus capax</i> del Golfo de California. Índice "D" entre paréntesis; el signo denota deficiencia (-) o exceso (+) de heterocigotos. Significancia de X^2 : *** = $p \leq 0.001$	29
IX	Estimadores "F" promedio para todos los loci polimórficos y su promedio para las poblaciones de <i>Modiolus capax</i> de la Bahía de La Paz, B.C.S. y San Felipe, B.C. F _{IS} = homogeneidad intrasubpoblacional. F _{IT} = homogeneidad intrapoblacional. F _{ST} = divergencia intrapoblacional.	30
X	Variabilidad genética de algunas especies de moluscos. K es el número de loci estudiados. P ₉₅ son los valores de polimorfismo protéico, según el criterio de la frecuencia del alelo más común menor o igual 0.95 (todos los valores en porcentaje). H _o es la heterocigosis observada y H _e la esperada. el signo - denota: no hay datos.	35

VARIABILIDAD GENETICA DE DOS POBLACIONES DEL MEJILLON
Modiolus capax (Conrad) (Bivalvia-Mytilidae)
DEL GOLFO DE CALIFORNIA.

I. Introducción.

En las ultimas tres décadas, el cultivo de mejillones se ha transformado en una actividad pesquera altamente rentable e incluso en un factor importante en la economía de algunos países de Europa occidental como Francia, España, Dinamarca, Holanda e Italia, y de Asia oriental entre los que destacan China y Corea (FAO, 1990).

En México la mitilicultura es incipiente. Empezó a desarrollarse a fines de la década de los 70 con dos de las especies de mejillones más abundantes en la costa noroccidental de Baja California, *Mytilus galloprovincialis* (*edulis*) y *Mytilus californianus* (Salas-Garza y García-Pámanes, 1987). En la actualidad el interés se ha centrado en *M. galloprovincialis* y su cultivo a escala comercial se realiza principalmente en las Bahías de Todos Santos y San Quintín, B.C., utilizando técnicas de cultivo en balsas y de línea larga de media agua (sistemas español y francés, respectivamente). *M. galloprovincialis*, y en general el género *Mytilus*, el más estudiado y explotado a nivel mundial, no ocurre en el Pacífico Tropical Este ni dentro del Golfo de California (Keen, 1971). Esto obviamente constituye un cuello de botella para la expansión de la mitilicultura mexicana ya que esas dos regiones representan más del 80% del litoral occidental del país. Las alternativas a este problema son la evaluación del potencial acuicultural de las especies nativas o la introducción de especies foráneas para las cuales ya existen biotecnias de cultivo. Esta última aunque podría ser la

solución más inmediata, pudiera representar serios problemas para los ecosistemas regionales.

En cuanto a las especies nativas, de las 27 especies de mitílidos reportadas para el Pacífico Tropical mexicano y Golfo de California, solamente *Mytella strigata*, *Mytella tumbensiensis*, *Modiolus pseudotulipus* y *Modiolus capax* tienen algún potencial pesquero. El resto de las especies son de talla muy pequeña (menores de 4 cm), habitan fondos lodosos del submareal o son perforadores de otros moluscos y en general son escasos en todo su rango de distribución geográfica (Keen, 1971; García-Cubas y Reguero, 1987). Esta última característica es extensiva a las tres primeras especies con potencial pesquero; *M. strigata* sólo es relativamente abundante en algunas lagunas costeras de Sonora, mientras que *M. tumbensiensis* y *M. pseudotulipus*, se reporta, empiezan a ser abundantes en las costas de Chiapas.

Por su parte *M. capax* es la especie con el rango de distribución geográfica más amplio. Se extiende desde California Central E.U.A. hasta Perú incluyendo las Islas Galápagos y todo el Golfo de California, donde es especialmente abundante (Olsson, 1961; Brusca, 1980). Esta especie forma densas agrupaciones en el intermareal y sublitoral hasta los 46 m de profundidad y llega a medir hasta 150 mm de longitud anteroposterior. No obstante su amplia distribución y relativa abundancia en las costas del Golfo de California, es un recurso que se encuentra sin explotar. Sin embargo, en virtud de la creciente demanda de productos marinos, a corto plazo es factible que se inicie su extracción. Esta práctica podría

resultar en una rápida sobreexplotación del recurso ya que en la mayoría de los mitílidos la recuperación de los bancos naturales es muy lenta (Seed, 1976; Aguirre-Hinojosa y Bückle-Ramírez, 1992). Así, el cultivo de *M. capax* además de representar una alternativa para extender la mitilicultura al Pacífico Tropical mexicano, también puede constituir una importante alternativa para el repoblamiento, manejo adecuado y explotación racional de las poblaciones naturales.

Con este fin, en años recientes se han realizado una serie de estudios relativos a la biología y ecología del mejillón *M. capax* en el Golfo de California, principalmente con el objeto de explorar la factibilidad de su cultivo (Bückle-Ramírez y Farfán, 1987; Rico-Mora, 1987; Espinoza-Peralta, 1989; Garza-Aguirre y Bückle-Ramírez, 1989a y 1989b; Orduña-Rojas y Farfán, 1991; Aguirre-Hinojosa y Bückle-Ramírez, 1992). La información que se ha obtenido de estas investigaciones reviste gran importancia, no sólo por ser la primera que se genera sobre esta especie sino porque marca la pauta para el futuro desarrollo de biotecnias de cultivo y/o manejo y conservación del recurso.

En este contexto es importante señalar que en un programa integral cuyo objetivo es evaluar la factibilidad de explotación de un recurso pesquero, es necesario hacer acopio de toda aquella información que caracterize los procesos poblacionales de la especie en su medio. Tradicionalmente, los estudios orientados en este sentido se habían restringido a cubrir aspectos biométricos, morfológicos, reproductivos, fisiológicos y ecológicos básicos. En la última década, la disponibilidad de técnicas para caracterizar la estructura genética de

las poblaciones ha permitido enriquecer el bagaje de información sobre los procesos poblacionales y ha contribuido de manera significativa a la resolución de problemas de interés inmediato en el desarrollo de pesquerías (diferenciación de existencias o "stocks") y de cultivos acuícolas (evaluación de la "salud genética" de los cultivos y administración del genoma). En la actualidad esta información constituye una de las herramientas principales en el diseño de estrategias de manejo y utilización de los recursos de interés comercial (Hedgecock *et al.*, 1976; Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989; Rosa-Vélez *et al.*, 1991).

En términos prácticos el conocimiento de los niveles de variación genética y relaciones intra e interpopulacionales (estructura genética) de un recurso particular, permite obtener información muy valiosa acerca de los procesos adaptativos que ocurren a nivel genético en las poblaciones de la especie en cuestión con respecto a los ambientes que habitan, así como de la manipulación de la que pueden ser objeto (Rosa-Vélez *et al.*, 1991).

En este estudio se analiza, mediante métodos de genética bioquímica, la variabilidad y estructura genética de dos poblaciones del mitílido *Modiolus capax* Conrad (1837), las cuales representan los extremos norte y sur de las poblaciones existentes en la costa occidental del Golfo de California (San Felipe, B.C. y Bahía de La Paz, B.C.S., respectivamente). Los niveles de variación genética de la especie no han sido evaluados, por lo que su caracterización es una aportación al conocimiento de la estructura genética de la especie y, en particular, para las poblaciones del Golfo de California aporta elementos para el diseño de estrategias de explotación y/o cultivo que no alteren el reservorio genético de la

especie en esa región. Es importante destacar también que este es el primer estudio donde se compara la estructura genética de dos poblaciones (lejanas o cercanas) de una especie del género *Modiolus* (Koehn y Mitton, 1972; Mitton *et al.*, 1973; Chaisson *et al.*, 1976), consecuentemente constituye una importante contribución al conocimiento de la genética poblacional de estos mitílidos.

I.1 Objetivos.

i. Estimar la variación genética de dos poblaciones del mitlido *Modiolus capax* (Conrad, 1837) de los extremos de la costa occidental del Golfo de California.

ii. Determinar el grado de estructuración genética intra e interpoblacional.

II. MATERIALES Y METODOS.

II.1 Material biológico.

Se estudiaron las poblaciones de *Modiolus capax* (Conrad, 1837), de San Felipe, Baja California (31° 01.5' Norte y 114° 50' Oeste) y de la Bahía de La Paz, Baja California Sur (24° 09.5' Norte y 110° 18.5' Oeste), las cuales representan los extremos norte y sur de las poblaciones de la costa occidental del Golfo de California.

La colecta de las muestras se realizó durante el mes de noviembre de 1992. Sólo se colectaron especímenes con longitud anteroposterior mayor a 6.0 cm, ésto con el fin de normalizar la muestra a adultos exclusivamente, ya que en una gran variedad de pelecípodos se ha encontrado una correlación entre el genotipo y la edad (talla) (Koehn, *et al.*, 1973; Mitton, *et al.*, 1973; Boyer, 1974; Tracey, *et al.*, 1975; Singh y Zouros, 1978; Zouros, *et al.*, 1980.).

En San Felipe, B.C. (Fig.1) se colectaron organismos en tres niveles del intermareal (100 por nivel) del banco de mejillones del sitio denominado Punta Estrella. Los niveles se establecieron en relación al tiempo de exposición promedio anual a la desecación con respecto al nivel medio del mar. Los niveles de colecta fueron 20, 10 y 0 % de exposición. Los niveles de exposición se calcularon en base a una curva promedio mensual de marea tomando en cuenta el tiempo de exposición anual a la insolación (de las 6:00 AM a las 6:00 PM); el 100 % de exposición corresponde a nivel de pleamar media superior, el 50 al nivel medio del mar y el 0 al nivel de bajamar media inferior.

En la Bahía de La Paz, B.C.S., la colecta se realizó en tres localidades distintas (Fig.1). A diferencia de la población anterior, en La Paz, B.C.S., *M. capax* está confinado al

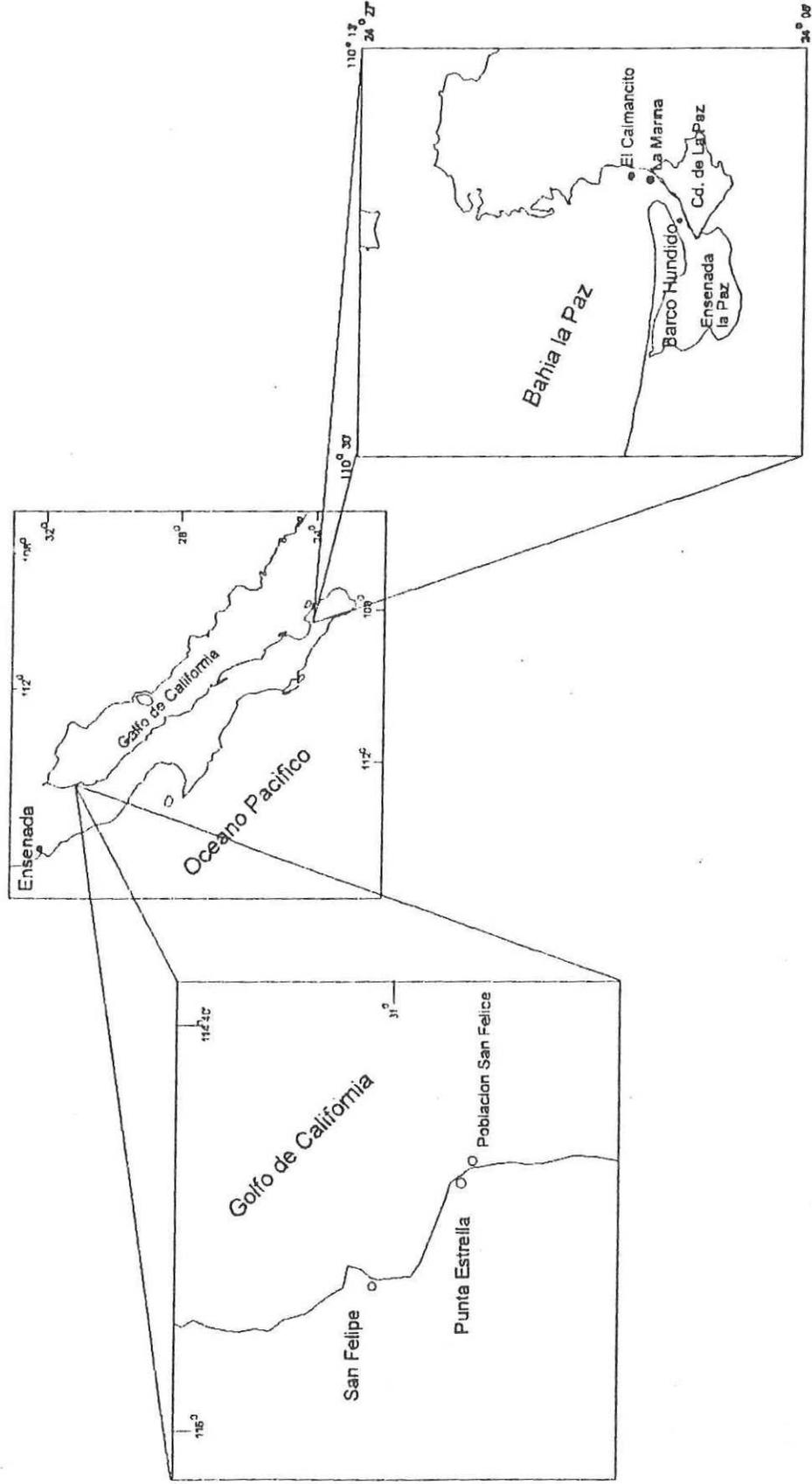


Figura 1. Localización geográfica de las poblaciones estudiadas del mejillón *Modiolus capax* (Conrad) del Golfo de California. Población de San Felipe, B.C.: tres niveles de exposición promedio anual a la desecación del banco natural de Punta Estrella. Población de la Bahía de La Paz, B.C.S.: demos de El Calamancito, La Marina y El Barco Hundido.

submareal según se comprobó en la prospección de los bancos existentes (nivel de referencia: mareas de sisigia). Los sitios de colecta fueron: El Caimancito, La Marina y El Barco Hundido; en cada sitio se colectaron 100 organismos mediante buceo autónomo.

Los organismos colectados se transportaron vivos (en seco) al laboratorio de Acuicultura del C.I.C.E.S.E., donde se mantuvieron en estanques de 500 lts. con flujo continuo de agua y un suministro de alimento variable, según la disponibilidad de microalgas. Antes de la disección, los mejillones se sometieron a inanición por un período de 48 hrs. incrementándose el flujo de agua para eliminar el alimento restante en el tracto digestivo.

De cada población se tomaron al azar 90 organismos, 30 por nivel de exposición a la desecación de la población de San Felipe, B.C., y 30 por localidad de muestreo en La Paz, B.C.S.. Estos se trasladaron vivos al laboratorio de Genética del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la U.A.B.C., mismo donde se realizó el análisis electroforético, y se procedió a la disección de los organismos sobre charolas con hielo triturado; del tejido blando total se eliminó el hepatopáncreas y el intestino. El tejido blando restante se homogenizó con un homogenizador de tejidos Tekmar SDT-1810S1 con aspás de titanio, en uno a dos volúmenes de solución amortiguadora de TRIS-HCl 0.1M, pH 7.0, NAD⁺, NADP⁺ y polivinilpirrolidona (10:1:1:100; v:p:p:p); esta operación también se realizó en frío. Los homogenizados se centrifugaron durante 20 minutos a 9,500 rpm. en una centrífuga refrigerada IEC B-20A a 4° C. El sobrenadante, el cual contenía las enzimas solubles características del tejido homogenizado, se recuperó y almacenó a -70°C hasta su posterior análisis.

II.2. Análisis electroforético.

Para analizar la variación enzimática de las muestras, se empleó el método de electroforesis horizontal en gel de almidón, con base en los principios descritos por Smithies (1955) y Hubby y Lewontin (1966).

II.2.1. Preparación del gel.

Se usó almidón hidrolizado SIGMA al 12 % diluido en uno de los tres posibles sistemas amortiguadores (Tris-Citrato, Tris EDTA-Borato ó Tris-Maleato, caracterizados como A, B y C, respectivamente), mismos que durante la estandarización del método mostraron ser los más adecuados para el análisis electroforético de los 11 sistemas enzimáticos estudiados (Tabla I).

Con el fin de lograr geles uniformes y manejables, para su preparación se procedió de la siguiente forma. En un matraz Erlenmeyer de 750 ml se llevaron a ebullición 300 ml de la solución amortiguadora. Paralela a esa operación, en un matraz Kitasato de 2000 ml, se mezclaron a temperatura ambiente 52.8 g de almidón hidrolizado con 140 ml de la solución amortiguadora. La solución amortiguadora en ebullición se agregó a la mezcla con el almidón perfectamente suspendido y se agitó vigorosamente para evitar la formación de grumos hasta que la mezcla se tornó opalescente, espesa y viscosa. Seguidamente se extrajo el aire atrapado en el gel por medio de vacío durante 40 segundos.

Inmediatamente el gel se vertió en un contenedor confeccionado con un marco de acrílico de 25 X 15 X 1 cm y colocado sobre una placa de vidrio, y se cubrió con otra placa

Tabla I. Sistemas enzimáticos y amortiguadores utilizados en el estudio electroforético del mejillón *Modiolus capax* del Golfo de California.

ENZIMAS	AMORTI-GUADOR*	No. DE LOCI	TINCION
Isocitrato deshidrogenasa (Idh)	A	1	Abreu (1983)
Esterasas (Est)	B	2	Shaw y Prasad (1970)
Leucinaminopeptidasa (Lap)	B	1	"
Xantina deshidrogenasa (Xdh)	B	1	Schaal y Anderson (1974)
Malato deshidrogenasa (Mdh)	C	1	"
Aspartato aminotransferasa (Aat)	C	1	"
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6pdh)	C	1	"
Glucosa-6-fosfato isomerasa (Gpi)	C	1	"
Fosfoglucomutasa (Pgm)	C	1	"
Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (Gapdh)	C	1	"
Proteína total (Pto)	C	1	Rosa-Vélez (1986)

- * Amortiguador A: Tris-citrato pH discontinuo (Poulik, 1957)
 Amortiguador B: Tris-EDTA-borato pH 8.6 (Utter et.al., 1974)
 Amortiguador C: Tris-maleato pH 7.4 (Spencer et. al., 1964)

de vidrio ejerciendo especial cuidado para no atrapar burbujas de aire. El gel se dejó enfriar a temperatura ambiente para su utilización en el corrimiento electroforético el cual se realizó aproximadamente 12 horas después.

II.2.2. Electroforesis.

A la placa gelificada se le hizo un corte longitudinal a unos 3.5 cm del borde catódico para insertar las mechas de papel (Whatman No. 3 de 1 X 0.5 cm) saturadas con las muestras individuales (sobrenadante). En cada placa se insertaron 30 muestras así como una mecha saturada con azul de bromofenol al 0.0002%, la cual se insertó en el extremo derecho y sirvió como marcador del corrimiento electroforético. Seguidamente la placa se transfirió a una cuba electroforética Gelman Science y se puso en contacto con la solución amortiguadora (colocada en los canales de la charola donde se insertaron los electrodos) mediante una banda de papel filtro Whatman No. 1 de 25 X 8 cm sobresaturada con el amortiguador en cuestión, formándose así un puente (para el flujo eléctrico) entre los electrodos y el gel.

La electroforesis se hizo a temperatura constante (4°C), colocando la cuba dentro de un refrigerador REVCO Reb-2304-A-N-N. Esta se conectó a una fuente de poder programable HBI MicroPro 1000, en la cual se fijaron los valores máximos de los parámetros voltaje, amperaje, wattaje y tiempo necesarios para el desplazamiento de las proteínas bajo estudio. Según el sistema amortiguador utilizado dichos parámetros fueron: Amortiguador A: 6 hr, 50 mA por charola, 50Watts, 300Volts; Amortiguador B: 6 hr, 50 mA por charola, 50 Watts, 350 Volts y Amortiguador C: 5 hr, 50mA por charola, 20 Watts, 100 Volts. Las mechas se retiraron del gel a los 15 minutos de iniciada la electroforesis.

Aproximadamente 45 minutos antes de concluir la electroforesis se inició la preparación de las mezclas histoquímicas de tinción, mismas que son específicas para cada sistema enzimático (Tabla I).

Al término de la electroforesis, el gel se rebanó en tres capas de 2.5 mm de espesor, cada una se colocó en un recipiente con la solución histoquímica requerida para el revelado de una enzima particular, y se incubaron a 37° C hasta que aparecieron las bandas. En ese momento se eliminó la solución histoquímica y se fijó el gel en una solución de metanol, ácido acético y agua (3:1:6; v:v:v). Los sistemas enzimáticos revelados fueron: Idh, Est, Lap, Xdh, Mdh, Aat, G6pdh, Gpi, Pgm, Gapdh y Pto (Tabla I). Es importante destacar que dichos sistemas enzimáticos fueron los que produjeron zimogramas constantes de los 25 que se probaron en la etapa de estandarización de la técnica (los 14 sistemas probados sin resultados constantes fueron: alcohol deshidrogenasa, amino peptidasa, catalasa, enzima mállica, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, glutamato deshidrogenasa, lactato deshidrogenasa, manosa fosfato isomerasa, octanol deshidrogenasa, octopina deshidrogenasa, sorbitol deshidrogenasa y tetrazolium oxidasa).

II.3. Interpretación de los zimogramas.

Al electroforegrama obtenido para una enzima específica se le conoce como zimograma. Las bandas en el gel indican regiones de actividad enzimática o de concentración proteica (para el caso de la proteína total) y se llaman electromorfos. Cuando un sistema enzimático presenta formas alternas se les denomina isozimas (King y Ohta, 1975, citado por Selander, 1980), éstas pueden ser el producto de más de un gen que codifica para dicha enzima o de la variabilidad alélica dentro de un mismo locus, en cuyo caso se les llama alelozimas (Hunter y Markert, 1957, citado por Rosa-Vélez, 1986).

Los sistemas enzimáticos multilocus generalmente se designan numerándolos en orden ascendente de movilidad catódica. En este trabajo sólo en las esterasas (Est-1 y Est-2) se definió la actividad de más de un locus. En el caso de las alelozimas, el alelo de mayor movilidad se designó como A, B al segundo más móvil y así sucesivamente. Los individuos cuyo fenotipo consistió de una sola banda con determinada movilidad se consideraron como homocigotos y heterocigotos aquellos que presentaron dos bandas o más, dependiendo de la estructura cuaternaria de la proteína (Rosa-Vélez, 1986).

De esta manera, las frecuencias electromórficas se tradujeron a frecuencias alélicas, las cuales se pueden entender como genotipos correspondientes a modelos electromórficos. Cabe señalar que los alelos designados pueden ser, en realidad, grupos de isoalelos (Selander, 1980).

II.4. Procesamiento de los datos.

Con los datos obtenidos en los zimogramas se calcularon los siguientes estimadores genéticos y pruebas estadísticas:

1.- **Frecuencias génicas (f).**- Estas se determinaron a partir de los fenotipos obtenidos en los zimogramas y representan el número de veces que se presenta un alelo entre el número total de alelos en la muestra (Ayala y Kiger, 1984).

$$x_i = \frac{2n_i + \sum_{j \neq i} n_{ij}}{2n} \quad (1)$$

donde:

n_{ij} = núm. de individuos del genotipo $X_i X_j$.

n = núm. total de individuos.

2.- **Polimorfismo (P).**- Se define como la razón de loci polimórficos identificados y el total de loci analizados (Ayala y Kiger, 1984). Se siguió el “criterio del 95 %”, ésto es considerar un locus polimórfico si el alelo más común se presentó con una frecuencia ≤ 0.95 (P_{95}).

3.- **Heterocigosis.**- Se estimó con base en dos criterios:

a).- **Heterocigosis observada (H_o).**- La heterocigosis media observada se obtuvo a partir de los loci heterocigóticos por individuo promediados entre los loci analizados en la muestra, considerando inclusive los monomórficos según recomienda Rosa-Vélez (1986).

$$H_o = \frac{\text{loci het. x individuo}}{\text{total de loci}} \quad (2)$$

b).- **Heterocigosis esperada (H_e).**- Se obtuvo a partir de las frecuencias alélicas asumiendo el equilibrio teórico de Hardy-Weinberg, el cual postula que el proceso de herencia por sí mismo no cambia las frecuencias alélicas, ni las frecuencias genotípicas de un locus dado, lo cual se da en poblaciones de tamaño grande, con sistema reproductivo panmítico (aleatorio) y en ausencia de mutación, migración, deriva o selección (Ayala y Kiger, 1984). Se usó la estimación sin sesgo de Nei (1978):

$$H_e = \sum_{j=1}^r h_j / r \quad (3)$$

donde:

$$h = 2n (1 - \sum x_i^2) / (2n - 1)$$

r = No. de loci.

4.- **Bondad de ajuste ji-cuadrada.**- Se utilizó para contrastar las frecuencias genotípicas observadas (O) con las esperadas (E) por locus. Los grados de libertad se obtuvieron sustrayendo el número de genotipos del número de alelos. Al presentarse más de dos alelos, el análisis global se corroboró agrupando las frecuencias alélicas en tres clases: a) homocigotos para el alelo más común, b) heterocigotos para el alelo más común con algún otro alelo y c) todos los demás genotipos.

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E} \quad \text{g.l.} = \text{genotipos} - \text{alelos.} \quad (4)$$

5.- **Deficiencia o exceso de heterocigotos.**- Se usó el estadígrafo "D" (Koehn, *et al.*, 1971).

$$D = \frac{H_o - H_e}{H_e} \quad (5)$$

6.- **Estimadores "F".**- Compara la estructura de la población en función de un análisis de la homogeneidad de las frecuencias génicas en y entre las subpoblaciones. La prueba se aplica con fundamento en la ecuación básica de Wright (1965) modificada por Nei (1973).

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{IS}) (1 - F_{ST}) \quad (6)$$

donde F_{IS} y F_{IT} son correlaciones entre dos gametas al azar producidas por un individuo en relación con la subpoblación y la población total, respectivamente; F_{ST} es la correlación

entre gametas al azar de las subpoblaciones con respecto a las gametas de la población total y en sí F_{ST} representa la varianza estandarizada en las frecuencias alélicas:

$$F_{ST} = \frac{\sigma^2 p_i}{\bar{p} (1 - \bar{p})} \quad (7)$$

donde \bar{p} representa la media ponderada de las frecuencias génicas y $\sigma^2 p_i$ es la suma ponderada de las desviaciones cuadradas de las frecuencias alélicas, dividida entre el número de subpoblaciones:

$$\sigma^2 p_i = \frac{(\bar{p} - p_i)^2}{n} \quad (8)$$

(Buroker, 1983).

Los estimadores antes mencionados se calcularon por medio del programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981) adaptado por Swofford (1989) para su empleo en microcomputadora.

III. RESULTADOS

III.1 Nivel intrapoblacional.

III.1.1 Variación genética.

De los 11 sistemas proteicos analizados se resolvieron 12 loci (Tabla I). De éstos cuatro resultaron monomórficos en los mejillones de la Bahía de La Paz, B.C.S. (Xdh, Mdh, Gapdh y Pto), y cinco en el caso de la población de San Felipe, B.C. (los cuatro antes mencionados y Aat). Los loci remanentes (ocho para la primera y siete para la segunda población) fueron polimórficos según el criterio del alelo más común con frecuencia ≤ 0.95 (P_{95}) por lo menos en uno de los demos de La Paz o niveles del intermareal de San Felipe.

Las frecuencias alélicas de los loci polimórficos y la heterocigosis por locus en las muestras de ambas poblaciones se presentan en la tabla II. En La Paz, los loci Lap, Est-1, Est-2, Pgm, Gpi y Gapdh, fueron polimórficos en los tres demos, mientras que Idh y Aat, fueron polimórficos sólo en El Caimancito y La Marina, respectivamente. En la población de San Felipe, los loci Idh Lap, Est-1, Est-2, Gpi y Gapdh fueron polimórficos en los tres niveles de exposición promedio anual a la desecación. Pgm fue polimórfico sólo en los niveles de exposición 0.0 y 10 %.

En La Paz, la heterocigosis por locus fue generalmente más alta en el demo de El Barco Hundido y menor en El Caimancito lo cual generó un aparente incremento de heterocigosis con la profundidad del hábitat. En la población de San Felipe, la heterocigosis por locus no presentó tendencia alguna con respecto al nivel de exposición a la desecación.

La tabla III a y b contiene el resumen de la variación genética observada y esperada en las muestras de ambas poblaciones. La frecuencia de los loci polimórficos en los

Tabla II. Frecuencias alélicas y heterocigosis de los loci polimórficos de *Modiolus capax* en tres demos de la Bahía de La Paz, B.C.S. y en tres niveles de exposición promedio anual a la desecación de San Felipe, B.C. N^a es el número de genes analizados por locus; H es la heterocigosis por locus.

Locus	Alelos		La Paz, B.C.S.			San Felipe, B.C.		
			El Caimancito	La Marina	Barco Hundido	20%	10%	0.0%
Idh		N^a	60	60 ^b	60 ^b	60	60	60
	A		0.017	--	--	--	--	--
	B		--	--	--	0.033	--	0.017
	C		--	0.033	0.017	--	0.033	--
	D		0.150	--	--	--	--	0.033
	E		0.817	0.967	0.967	0.950	0.950	0.950
	F		--	--	0.017	0.017	0.017	--
	G		0.017	--	--	--	--	--
		H		0.067	0.000	0.067	0.100	0.100
Lap		N^a	60	60	60	60	60	60
	A		--	--	--	--	--	0.017
	B		--	--	--	--	--	0.017
	C		--	0.050	--	--	--	0.067
	D		0.067	--	0.050	0.017	0.033	--
	E		--	--	--	0.033	--	0.067
	F		--	0.233	0.100	--	--	--
	G		0.117	0.033	0.117	0.200	0.283	0.167
	H		0.200	0.217	--	--	--	--
	I		--	0.050	--	0.033	0.050	0.033
	J		--	0.200	0.200	--	--	0.133
	K		0.217	--	--	0.117	0.100	0.067
	L		--	--	0.083	0.017	0.050	--
	M		0.350	0.217	0.283	0.400	0.267	0.267
	N		--	--	0.033	0.033	--	--
	O		0.050	--	--	0.117	0.217	0.167
	P		--	--	0.133	--	--	--
Q		--	--	--	0.017	--	--	
R		--	--	--	0.017	--	--	
	H		0.633	0.733	0.767	0.667	0.833	0.700
Est-1		N^a	60	58	60	60	60	60
	A		0.067	--	--	--	--	--
	B		0.383	--	--	--	--	--
	C		--	--	--	0.150	--	0.200
	D		--	0.172	0.183	--	0.367	--
	E		0.550	0.793	0.817	0.850	0.633	0.800
	F		--	0.034	--	--	--	--
	H		0.033	0.069	0.167	0.100	0.000	0.133
Est-2		N^a	60	58	60	60	60	60
	A		0.217	--	0.417	--	--	--
	B		0.617	0.638	0.583	0.750	0.600	0.633
	C		0.167	0.276	--	--	--	--
	D		--	0.086	--	0.250	0.400	0.367
	H		0.433	0.448	0.567	0.367	0.467	0.400

Tabla II. Continuación.

Locus	Alelos		La Paz, B.C.S.			San Felipe, B.C.		
			El Caimancito	La Marina	Barco Hundido	20%	10%	0.0%
Pgm		<i>N^a</i>	58	54	54	60 ^b	58	54
	A		0.121	--	--	--	0.071	0.037
	B		--	0.093	--	--	--	--
	C		--	--	0.074	--	--	--
	D		0.879	0.870	0.926	0.983	0.929	0.778
	E		--	0.037	--	--	--	--
	F		--	--	--	--	--	0.148
	G		--	--	--	0.017	--	--
	H		--	--	--	--	--	0.037
		H	0.034	0.037	0.074	0.033	0.000	0.074
Gpi		<i>N^a</i>	60	54	58	60	60	60
	A		--	0.019	--	--	--	--
	B		--	--	--	--	--	0.033
	C		0.067	--	0.017	--	--	--
	D		--	--	--	--	--	0.033
	E		0.050	--	--	--	0.017	--
	F		--	--	0.034	--	--	--
	G		--	--	--	--	--	0.067
	H		0.033	0.093	--	--	--	--
	I		0.467	0.537	0.724	0.833	0.700	0.633
	J		0.100	--	--	--	--	--
	K		0.233	--	0.034	0.067	--	--
	L		--	--	--	--	--	0.200
	M		0.033	0.296	0.017	0.100	0.200	--
	N		--	--	0.069	--	--	0.033
	O		--	--	--	--	--	--
	P		0.017	0.037	--	--	--	--
Q		--	0.019	--	--	0.017	--	
R		--	--	0.086	--	0.067	--	
S		--	--	0.017	--	--	--	
		H	0.033	0.074	0.241	0.000	0.033	0.133
Gapdh		<i>N^a</i>	60	60	60	60	60	60
	A		0.067	0.100	0.067	--	--	--
	B		0.933	0.900	0.833	0.933	0.800	0.933
	C		--	--	0.100	--	--	--
	D		--	--	--	0.067	0.200	0.067
		H	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Aat		<i>N^a</i>	60 ^b	60	60 ^b	60 ^b	60 ^b	60 ^b
	A		0.000	0.067	0.000	--	--	--
	B		1.000	0.933	1.000	1.000	1.000	1.000
		H	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

^b Monomórfico en base al criterio del 95%.

mejillones colectados en La Paz fue de 58.3% en El Caimancito y en La Marina y de 50% en el Barco Hundido. La heterocigosis media esperada fue de 21.8% en el Barco Hundido, 24.3% en La Marina y 27.3% en El Caimancito. El polimorfismo observado en San Felipe fue de 58.3% en los niveles 0.0 y 10% de exposición y 50% en el nivel de 20%. La heterocigosis media esperada en el nivel 0.0% de exposición fue la más alta (24%), el mínimo (17%) correspondió al nivel de 20% de exposición mientras que en el nivel de 10% el valor fue intermedio (23.3%).

El contraste (X^2) entre las frecuencias genotípicas observadas y esperadas de los loci polimórficos para las muestras de las dos poblaciones se presenta en la tabla IVa y b. En la población de La Paz, los loci Gpi y Gapdh presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los tres demos, mientras que Idh, Est-1 y Pgm fueron significativamente diferentes ($p < 0.01$) únicamente en La Marina y el Barco Hundido, lo cual indica que con respecto a los loci mencionados esos demos se encuentran fuera del equilibrio teórico de Hardy-Weinberg. En la población de San Felipe los loci Est-1, Gpi y Gapdh presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) en los tres niveles del intermareal mientras que Pgm, mostró diferencias significativas ($p < 0.001$) sólo en los dos niveles inferiores (10 y 0.0% de exposición).

Por otra parte con el estadígrafo "D", el cual permite medir la deficiencia o exceso de heterocigotos, se encontró que en La Paz sólo en los loci Idh y Est-2 del Barco Hundido se presentó un exceso de heterocigotos (Tabla IVa). En San Felipe Idh presentó exceso de heterocigotos en los niveles de exposición de 20 y 10%, mientras que Lap y Pgm resultaron con exceso en los niveles de 10 y 20%, respectivamente (Tabla IVb). En ambas poblaciones todos los loci remanentes presentaron deficiencia de heterocigotos.

Tabla III. Resumen de la variación genética de *Modiolus capax* en el Golfo de California: a).- Tres demos de la Bahía de La Paz, B.C.S.; b).- Tres niveles de exposición promedio anual a la desecación en San Felipe, B.C.. P₉₅ = polimorfismo con el criterio del alelo más común con frecuencia ≤ 0.95 ; H_o = heterocigosis media observada; H_e = heterocigosis media esperada (estimación sin sesgo de Nei, 1978); e.e = error estándar.

a).-

	El Caimancito	La Marina	Barco Hundido
Loci estudiados	12	12	12
Muestra por locus (e. e.)	29.9 (±0.1)	29.3 (±0.3)	29.7 (±0.3)
Alelos por locus (e. e.)	2.8 (±0.7)	2.7 (±0.6)	2.8 (±0.7)
P ₉₅	58.3	58.3	50.0
H _o (e. e.)	0.103 (±0.060)	0.113 (±0.067)	0.157 (±0.073)
H _e (e. e.)	0.273 (±0.088)	0.243 (±0.080)	0.218 (±0.078)

b).-

	20%	10%	0.0%
Loci estudiados	12	12	12
Muestra por locus (e. e.)	30 (±0.0)	29.8 (±0.2)	29.8 (±0.2)
Alelos por locus (e. e.)	2.6 (±0.8)	2.3 (±0.5)	2.9 (0.8)
P ₉₅	50.0	58.3	58.3
H _o (e. e.)	0.106 (±0.059)	0.119 (±0.075)	0.123 (±0.062)
H _e (e. e.)	0.170 (±0.067)	0.233 (±0.078)	0.240 (±0.080)

Tabla IV. Bondad de ajuste (X^2) entre frecuencias genotípicas observadas y esperadas e índice "D" de *Modiolus capax* en el Golfo de California: a).- Tres demos de la Bahía de La Paz, B.C.S.; b).- Tres niveles de exposición promedio anual a la desecación en San Felipe, B.C. Índice "D" entre paréntesis; el signo denota deficiencia (-) o exceso (+) de heterocigotos. Significancia de X^2 : *** ($p < 0.001$), ** ($p < 0.01$), * ($p < 0.05$)

a).-

Locus	El Caimancito	La Marina	Barco Hundido
Idh	18.934*** (-0.785)	7.604** (-1.000)	0.000 (+0.026)
Lap	0.578 (-0.117)	0.005 (-0.090)	0.837 (-0.074)
Est-1	23.346*** (-0.939)	14.310*** (-0.797)	3.669 (-0.443)
Est-2	0.036 (-0.205)	0.000 (-0.120)	0.397 (+0.116)
Pgm	13.932*** (-0.838)	12.896*** (-0.841)	1.232 (-0.460)
Gpi	27.066*** (-0.953)	20.425*** (-0.879)	4.961* (-0.475)
Gapdh	16.880*** (-1.000)	20.779*** (-1.000)	24.142*** (-1.000)

b).-

Locus	20%	10%	0.0%
Idh	0.000 (+0.040)	0.000 (+0.040)	3.054 (-0.653)
Lap	0.398 (-0.132)	0.008 (+0.061)	0.201 (-0.167)
Est-1	7.339** (-0.608)	26.794*** (-1.000)	7.393** (-0.583)
Est-2	0.000 (-0.022)	0.000 (-0.028)	0.220 (-0.139)
Pgm	0.000 (+0.017)	15.751*** (-1.000)	13.138*** (-0.800)
Gpi	24.142*** (-1.000)	26.368*** (-0.928)	26.794*** (-0.758)
Gapdh	16.880*** (-1.000)	24.997*** (-1.000)	16.880*** (-1.000)

III.1.2 Estructura genética.

El análisis de homogeneidad de las frecuencias génicas de los loci polimórficos en y entre los demos de cada población se presenta en la tabla Va y b. En La Paz el promedio general de la divergencia intrapoblacional (F_{ST}) fue 0.071, mientras que los promedios generales de homogeneidad intrasubpoblacional (F_{IS}) y homogeneidad intersubpoblacional (F_{IT}) fueron 0.482 y 0.519, respectivamente. La información anterior sugiere que existe un escaso grado de estructuración de la población y por lo tanto que entre los organismos de los tres sitios muestreados ocurre un importante flujo génico. En San Felipe se encontró una situación semejante, el promedio general de F_{ST} fue de 0.045, los de F_{IS} y F_{IT} fueron 0.450 y 0.474, respectivamente.

III.2 Nivel interpoblacional.

III.2.1 Variación genética.

Se analizaron los mismos loci que a nivel intrapoblacional; tanto en la población de San Felipe como en la de La Paz se determinó un promedio de 178.5 ± 1 genes en 12 loci, de los cuales cinco fueron monomórficos (Xdh, Mdh, G6pdh, Pto y Aat); los siete loci restantes (Idh, Lap, Est-1, Est-2, Pgm, Gpi, Gapdh) fueron polimórficos en ambas poblaciones. Las frecuencias alélicas de los loci polimórficos se consignan en la tabla VI.

En ambas poblaciones el polimorfismo fue de 58.8%. La heterocigosis observada en la población de La Paz fue de 0.124 ± 0.066 y la heterocigosis esperada fue de 0.260 ± 0.086 ; en la población de San Felipe la heterocigosis observada fue de 0.116 ± 0.065 y la esperada de 0.221 ± 0.075 (Tabla VII).

Tabla V. Estimadores "F" promedio para todos los loci polimorficos y el promedio general de *Modiolus capax* en el Golfo de California: a).- Tres demos de la Bahía de La Paz, B.C.S.; b).- Tres niveles de exposición promedio anual a la desecación en San Felipe, B.C

F_{IS} = homogeneidad intrasubpoblacional.

F_{IT} = homogeneidad intrapoblacional.

F_{ST} = divergencia intrapoblacional.

a).-

LOCUS	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Idh	0.697	0.717	0.066
Lap	0.112	0.165	0.060
Est-1	0.773	0.801	0.123
Est-2	0.060	0.134	0.079
Pgm	0.750	0.759	0.036
Gpi	0.804	0.819	0.074
Gapdh	1.000	1.000	0.021
Aat	1.000	1.000	0.045
PROMEDIO	0.482	0.519	0.071

b).-

LOCUS	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Idh	0.191	0.197	0.008
Lap	0.081	0.098	0.019
Est-1	0.776	0.802	0.116
Est-2	0.065	0.083	0.018
G6pdh	1.000	1.000	.017
Pgm	0.800	0.814	0.071
Gpi	0.873	0.880	0.057
Gapdh	1.000	1.000	0.040
PROMEDIO	0.450	0.474	0.045

Tabla VI. Frecuencias alélicas (f) y número de genes (n), de los loci polimórficos en las poblaciones de *Modiolus capax* de la Bahía de La Paz, B.C.S.y San Felipe, B.C.

LOCUS	n	ALELO	LA PAZ (f)	SAN FELIPE (f)
IDH	180-180	A	0.006	--
		B	--	0.017
		C	0.017	0.011
		D	0.050	0.011
		E	0.917	0.950
		F	0.006	0.011
		G	0.006	--
LAP	180-180	A	--	0.006
		B	--	0.006
		C	0.017	0.022
		D	0.039	0.017
		E	--	0.033
		F	0.111	--
		G	0.089	0.217
		H	0.139	--
		I	0.017	0.039
		J	0.133	0.044
		K	0.072	0.094
		L	0.028	0.022
		M	0.283	0.311
		N	0.011	0.011
O	0.017	0.167		
P	0.044	--		
Q	--	0.006		
R	--	0.006		
EST-1	176-180	A	0.022	--
		B	0.129	--
		C	--	0.117
		D	0.118	0.122
		E	0.719	0.761
		F	0.011	--
Est-2	176-180	A	0.213	--
		B	0.612	0.661
		C	0.146	--
		D	0.028	0.339

Tabla VI. Continuación.

LOCUS	n	ALELO	LA PAZ (f)	SAN FELIPE (f)
Pgm	166-170	A	0.042	0.035
		B	0.030	-
		C	0.024	-
		D	0.892	0.900
		E	0.012	-
		F	-	0.047
		G	-	0.006
		H	-	0.012
Gpi	172-180	A	0.006	-
		B	-	0.011
		C	0.029	-
		D	-	0.011
		E	0.017	0.006
		F	0.012	-
		G	-	0.022
		H	0.041	-
		I	0.576	0.722
		J	0.035	-
		K	0.093	0.022
		L	-	0.067
		M	0.010	0.100
		N	0.023	0.011
O	-	0.006		
P	0.017	-		
Q	0.006	-		
R	0.029	0.022		
S	0.006	-		
Gapdh	180-180	A	0.078	-
		B	0.889	0.889
		C	0.033	-
		D	-	0.111

La prueba de bondad de ajuste χ^2 entre las frecuencias genotípicas observadas y las esperadas para la población de La Paz detectó diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) en los loci Idh, Est-1, Pgm, Gpi y Gapdh; en la población de San Felipe, a excepción de Idh, los loci antes mencionados también se encontraron en desequilibrio ($p < 0.001$) (Tabla VIII). En las dos poblaciones el valor del índice "D" de los loci polimórficos en desequilibrio fue negativo, lo cual indica deficiencia de heterocigotos en dichos loci (Tabla VIII).

III.2.2 Estructura genética.

Los estimadores "F" promedio para los loci polimórficos de ambas poblaciones se presentan en la tabla IX. El promedio general de F_{ST} o divergencia intrapoblacional (considerando a las dos poblaciones como una sola) indica que sólo el 2.9% de la variación total está asociada a la variación de las "subpoblaciones". Los valores promedio de homogeneidad intrasubpoblacional (F_{IS}) e intrapoblacional (F_{IT}) fueron respectivamente 0.498 y 0.513, lo que sugiere que ocurre un considerable flujo génico entre ambas poblaciones existiendo un nivel bajo de diferenciación genética entre éstas.

Tabla VII. Resumen de la variación génica en las poblaciones de *Modiolus capax* de la Bahía de La Paz, B.C.S. y San Felipe, B.C. P_{95} = polimorfismo con el criterio del alelo más común con frecuencia ≤ 0.95 ; H_o = heterocigosis media observada; H_e = heterocigosis media esperada; e.e.= error estándar.

	LA PAZ, B.C.S.	SAN FELIPE, B.C.
No. de loci estudiados	12	12
No. promedio de organismos analizados (e. e.)	88.9 (± 0.6)	89.6 (± 0.4)
No. promedio de alelos por locus (e. e.)	4.7 (± 1.3)	4.2 (± 1.3)
P_{95}	58.33	58.33
H_o (e. e.)	0.124 (± 0.066)	0.116 (± 0.065)
H_e (e. e.)	0.260 (± 0.086)	0.221 (± 0.075)

Tabla VIII. Bondad de ajuste (X^2) entre frecuencias genotípicas observadas y esperadas e índice "D" en dos poblaciones de *Modiolus capax* del Golfo de California. Índice "D" entre paréntesis; el signo denota deficiencia (-) o exceso (+) de heterocigotos. Significancia de X^2 : ***= $p \leq 0.001$

Locus	LA PAZ, B.C.S	SAN FELIPE, B.C.
Idh	45.980*** (-0.717)	0.446 (-0.197)
Lap	0.188 (-0.165)	0.198 (-0.098)
Est-1	50.777*** (-0.801)	52.141*** (-0.802)
Est-2	0.001 (-0.133)	0.364 (-0.083)
Pgm	40.042*** (-0.761)	47.120*** (-1.00)
Gpi	57.185*** (-0.819)	86.064*** (-0.811)
Gapdh	81.118*** (-1.00)	81.118*** (-1.00)

Tabla IX. Estimadores "F" promedio para todos los loci polimórficos y su promedio para las poblaciones de *Modiolus capax* de la Bahía de La Paz, B.C.S. y San Felipe, B.C.

F_{IS} = homogeneidad intrasubpoblacional.

F_{IT} = homogeneidad intrapoblacional.

F_{ST} = divergencia intrapoblacional.

LOCUS	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Idh	0.518	0.521	0.006
Lap	0.133	0.154	0.025
Est-1	0.801	0.805	0.019
Est-2	0.111	0.178	0.076
G6pdh	1.000	1.000	0.008
Pgm	0.785	0.786	0.005
Gpi	0.844	0.847	0.016
Gapdh	1.000	1.000	0.024
Aat	1.000	1.000	0.011
PROMEDIO	0.498	0.513	0.029

IV. Discusión

IV.1 Variabilidad genética

En *Mytilus edulis*, el invertebrado marino cuya variabilidad genética a nivel macro y microgeográfico ha sido más intensamente estudiado, el número máximo de loci analizados es 29 (Ahmad *et al.*, 1977). Es importante destacar, sin embargo, que la mayoría de los estudios se concentran en el análisis de siete de los diez loci polimórficos identificados en ese trabajo (Koehn, 1991). Estos marcadores genéticos corresponden a los sistemas enzimáticos: Leucinaminopeptidasa (Lap), Glucosa-6-fosfato isomerasa (Gpi), Malato deshidrogenasa (Mdh), Isocitrato deshidrogenasa (Idh), Aspartato aminotransferasa (Aat), Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6pdh) y Aminopeptidasa (Ap).

En el presente estudio, el cual analiza por primera vez la genética poblacional del mitílido *Modiolus capax* Conrad, además de los seis primeros marcadores genéticos antes mencionados se analizaron los sistemas enzimáticos: Esterasas (Est), Xantina deshidrogenasa (Xdh), Fosfoglucomutasa (Pgm), Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (Gapdh) y Proteína Total (Pto). Solamente Xdh, Mdh, G6pdh y Pto fueron monomórficos en las dos poblaciones estudiadas, para el resto de los loci el número de alelos fluctuó entre 2 y 19 (Tabla II).

La mayor proporción de loci multialélicos encontrados en *M. capax* se refleja en los niveles de polimorfismo estimados. En términos de polimorfismo con el criterio del 95%

(P₉₅), la variabilidad genética estimada a nivel poblacional fue de 58.3% tanto en la población de la Bahía de La Paz, B.C.S., como en la de San Felipe, B.C. (Tabla VII). Aunque este valor está muy próximo al promedio general de polimorfismo estimado por Maynard (1989) para invertebrados marinos (58.7%), es superior a los niveles de polimorfismo que generalmente se encuentran en el phylum mollusca (25-50%) o en la familia Mytilidae (35-50%) (Milkman y Beaty, 1970; Koehn *et al.*, 1973; Ahmad y Beardmore, 1976; Ahmad *et al.*, 1977; Gosling, 1989).

A nivel intrapoblacional los niveles de polimorfismo también fueron similares en ambas poblaciones; en una de las muestras el polimorfismo fue de 50% y en las dos restantes de 58.3% en las dos poblaciones (Tabla IIIa y b). Tal diferencia interpoblacional no es importante ya que se debe al efecto de un sólo locus, es decir, los demos con 58.3% de polimorfismo mostraron siete loci polimórficos, mientras que el demo de 50% sólo seis, lo cual muy probablemente es el resultado de la subdivisión artificial de la población (Tabla II). En general estos resultados señalan que en términos de polimorfismo, las dos poblaciones son homogéneas tanto intra como interpoblacionalmente.

Es importante señalar, que el polimorfismo (P) como medida de variabilidad genética, tiene un alcance limitado debido a dos problemas fundamentales (Ayala y Kiger, 1984). El primer problema está relacionado a la subjetividad para definir si un locus es o no polimórfico. En general se manejan dos criterios: con uno de ellos se considera a un locus como polimórfico cuando la frecuencia del alelo más común no es superior a 0.99 (P₉₉); con

el segundo, un locus se considera como polimórfico sólo cuando dicha frecuencia no supera el 0.95 (P_{95}). La diferencia en la estimación de P con ambos criterios puede no ser despreciable. Para el caso de *M. capax* por ejemplo, bajo el criterio P_{95} en las dos poblaciones estudiadas el polimorfismo estimado fue de 58.33% (Tabla VII), mientras que con el criterio P_{99} los valores de polimorfismo ascienden a 66.67%, magnitud que colocaría a *M. capax* muy por arriba del promedio de los invertebrados marinos.

El segundo problema del polimorfismo como indicador de variabilidad genética se debe a que tanto los loci ligeramente polimórficos como los altamente polimórficos tienen el mismo peso. Lo anterior no permite que se tenga la objetividad requerida para realizar un análisis profundo de la variabilidad genética de una población sólo en base a esta medida (Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989).

La heterocigosis esperada, en cambio, está considerada como una mejor y más informativa medida de la variabilidad genética debido a que se estima a partir de frecuencias alélicas reales, consecuentemente no intervienen criterios subjetivos y considera la importancia relativa de cada locus en función de su variabilidad alélica.

Este estimador, sin embargo, es muy sensible al número de loci analizados y en menor grado al número de organismos estudiados. Nei (1987) señala que teóricamente la heterocigosis promedio sólo puede ser estimada adecuadamente cuando el número de loci analizados es grande debido a que en casi todas las poblaciones naturales la variación de la heterocigosis en un sólo locus y entre loci es muy grande. En la práctica, sin embargo,

existen serias limitantes de orden técnico para cumplir con el postulado anterior. El problema radica en que a pesar de que existen las técnicas histoquímicas para el revelado de más de 100 enzimas (Harris y Hopkinson, 1978; Richardson, Baverstock y Adams, 1986; Hillis y Moritz, 1990) su resolución depende de poder definir las condiciones físico-químicas adecuadas, las cuales varían según la especie de organismo y tipo de tejido que se este trabajando, y esto se hace empíricamente. Para este estudio por ejemplo, durante la fase de estandarización se trabajaron 25 enzimas y 15 sistemas amortiguadores lográndose el revelado de sólo 12 loci.

Aunque el número de loci analizados en el presente estudio es significativamente menor a los 29 loci manejados por Ahmad *et al.* (1977), está en el intervalo de 6 a 15 que es el que más frecuentemente se utiliza en estudios sobre la variabilidad proteica de bivalvos (Tabla X). Es importante destacar que con ese intervalo no sólo se han caracterizado los niveles de variación genética interpoblacional de *M. edulis* (Ahmad *et al.*, 1977; Skibinski *et al.*, 1980; Yamanaka y Fujio, 1984), *M. galloprovincialis* (Skibinski *et al.*, 1980; Gosling, 1984), *M. californianus* (Levinton y Koehn, 1976), *Modiolus modiolus*, *Perna canalicus* (Skibinski *et al.*, 1980; Sin F.Y. *et al.*, 1990) y *Crassostrea gigas* (Buroker *et al.*, 1975, Buroker, 1979), entre otros, sino también se ha definido el estatus taxonómico de diferentes especies de mejillones y establecido la distribución a nivel mundial de *M. edulis*, *M. galloprovincialis* y *M. trossulus* (Koehn, 1991). Esta ambiciosa tarea se realizó con base en sólo 8 loci polimórficos, 5 de los cuales también resultaron altamente variables en *M. capax*. Los loci en cuestión son Gpi, Lap, Pgm, Idh y Est-1 y su correspondiente número de alelos

fue 19,18,8,7 y 6. Estos loci, de hecho, en el futuro también podrían utilizarse como marcadores genéticos de la especie.

Tabla X Variabilidad genética de algunas especies de moluscos. K es el número de loci estudiados. P₉₅ son los valores de polimorfismo proteico, según el criterio de la frecuencia del alelo más común menor o igual 0.95 respectivamente (todos los valores en porcentaje). Ho es la heterocigosis observada y He la esperada. -: no hay datos.

Especie	K	P ₉₅	Ho	He	Localidad	Referencia
<i>Mytilus edulis</i>	12	41.6	0.149	0.169	15 loc*. en Japón	Yamanaka y Fujio, 1984
	13	-	0.206	0.212	Mumbles, Gales	Skibinski <i>et al.</i> , 1980
	29	21	0.095	0.095	Mumbles, Gales	Ahmad <i>et al.</i> , 1977
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	13		0.224-	0.235	Venecia, Italia	Skibinski <i>et al.</i> , 1980
<i>Modiolus modiolus</i>	13	-	0.176	0.173	Isle of Man, Irlanda	Skibinski <i>et al.</i> , 1980
<i>Perna canaliculus</i>	14	44.0	0.095	0.118	Kaikoura, N. Zelanda	Sin F.Y. <i>et al.</i> , 1990
	14	64.0	0.172	0.184		Sin F.Y. <i>et al.</i> , 1990
	14	64.0	0.148	0.161	Le Bons, N. Zelanda Nelson, N. Zelanda	Sin F.Y. <i>et al.</i> , 1990
<i>Crassostrea gigas</i>	12	53	0.210	0.245	Puget Sound, WA	Buroker <i>et al.</i> , 1975
	17	63	0.222	0.238	Miyagi, Japón	Buroker., 1979
	19	53	0.176	0.203	Seasalter, Inglaterra	Gosling E.M., 1982

El otro factor que argumenta en favor de que las heterocigosis esperadas (He) que se obtuvieron son buenos estimadores de la variabilidad genética de *M. capax* en el Golfo de California, es que el número de organismos analizados por loci fue alto (en promedio 89.2 en cada población). A nivel intrapoblacional, aunque el número de organismos por loci se

redujo a 29.7 en promedio, los errores estándar de las H_e fueron comparables a los obtenidos a nivel poblacional y éstos a su vez semejantes a los que se reportan en otros trabajos (Ayala, 1973; Hedgecock *et al.*, 1976; Ahmad *et al.*, 1977; Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1988; Rosa-Vélez *et al.*, 1991; Escobar-Fernández, 1991), por lo que aún a nivel interpoblacional los valores obtenidos de heterocigosis esperada se pueden considerar buenos estimadores de la variabilidad genética de *M. capax*.

Los valores de H_e a nivel intrapoblacional en las muestras de La Paz fluctuó entre 0.273 ± 0.088 y 0.218 ± 0.078 (El Caimancito y El Barco Hundido, respectivamente) y en San Felipe de 0.240 ± 0.080 , en el 0% de exposición anual a la desecación, a 0.170 ± 0.067 en el 20% de exposición. En ambas poblaciones el patrón de variación de las H_e fue semejante al obtenido en términos de polimorfismo con el criterio del 95% (Tabla IIIa y b). A nivel poblacional la H_e para La Paz fue de 0.260 ± 0.086 y para San Felipe de 0.221 ± 0.075 . Estos valores, sin embargo, no son estadísticamente diferentes ($t_{(1)} = 0.314$, $p < 0.75$) como tampoco lo son las H_e a nivel intrapoblacional (Kruskal-Wallis, $H = 0.174$, $p < 0.9$, en la población de La Paz y $H = 0.029$, $p < 0.9$, en la población de San Felipe). Los resultados anteriores confirman lo que anteriormente se había inferido con base en los datos de polimorfismo, es decir que las poblaciones más extremas de *M. capax* en la costa oeste del Golfo de California presentan el mismo nivel de variación genética.

Por otra parte es importante destacar que las H_e obtenidas a nivel poblacional, aunque de considerable magnitud, se ubican en el intervalo de valores más frecuentemente

reportados en mitílidos ($H_e = 0.200-0.350$, cf. Milkman y Beaty, 1970; Koehn, *et al.*, 1973; Gosling, 1989). En este grupo taxonómico los valores de heterocigosis son generalmente superiores al promedio general de los invertebrados marinos ($\bar{H}_e = 0.100$, Maynard, 1989) e incluso mayores al promedio general de gasteropodos y bivalvos ($\bar{H}_e = 0.170$; Buroker, 1983; Gosling y Wilkins, 1985; Rosa-Vélez, 1986; Suárez-Vásquez, 1989; Romero-Romero, 1989; Mendoza-Aguirre, 1989; Urbina-Sánchez, 1990; Carrillo-Barco, 1990).

Como consecuencia de la gran diversidad de la variación genética entre y dentro de las principales ramas taxonómicas de invertebrados, se han hecho varios intentos por relacionar la variación genética interespecifica, en términos de heterocigosis, con la variación de los factores medioambientales; sin embargo existen serias dificultades para poder relacionar los niveles de variabilidad génica con el estilo de vida de los organismos. Según Ward (1989) ésto no es sorprendente ya que las teorías de la selección realmente no hacen predicciones claras concernientes a la extensión de la variación genética esperada conforme al estilo de vida.

Una explicación alternativa de los altos niveles de variabilidad genética detectados en las poblaciones naturales de bivalvos, y en particular en las poblaciones de los mitílidos, está asociada a la historia de vida y a las características reproductivas de las especies que conforman esta clase. De éstas se destacan: un tamaño efectivo poblacional considerablemente grande y una biología reproductiva que involucra elevada fecundidad y

fecundación externa, consecuentemente una importante recombinación génica al azar, además de una extensa capacidad de dispersión larval (Berger, 1983; Koehn, 1991).

M. capax reúne todas las características antes mencionadas. Es un miembro abundante de las comunidades litorales; presenta una amplia distribución geográfica, desde California central, EUA, hasta Perú incluyendo las islas Galápagos y todo el Golfo de California (Olsson, 1961; Brusca, 1980); es dioico, aunque ocasionalmente se encuentran organismos hermafroditas; su período reproductivo se extiende desde principios de primavera hasta finales del verano, con un máximo de actividad gametogénica y desove entre junio y septiembre (Ochoa-Báez, 1987; Orduña-Rojas y Farfán, 1991).

Como otros mitílidos *M. capax* es muy fecundo (índices gonadosómicos de 30-70% durante el período reproductivo), tiene fecundación externa y la fase larval puede extenderse de 10 a 25 días dependiendo de las condiciones térmicas e incluso, como en otros mitílidos, la metamorfosis pudiera retrasarse en ausencia de sustratos adecuados para el asentamiento de la larva pediveliger. La vida media de *M. capax* no se ha determinado, pero dado que las estructuras en talla de las poblaciones del Golfo de California están dominadas por organismos mayores de 6.5 cm y que las tasas de crecimiento de este mitílido son lentas, su vida media puede ser mayor a los 8 años (Farfán, comunicación personal).

IV.2 Deficiencia heterocigótica

Virtualmente en todos los estudios sobre genética de poblaciones de mejillones, así como de otros bivalvos, se ha reportado una importante deficiencia de individuos heterocigotos para un gran número de loci polimórficos (Zouros y Foltz, 1984; Zouros, 1987; Beaumont, 1990; Koehn, 1991). El presente trabajo no es la excepción.

En las dos poblaciones analizadas una importante fracción de los loci polimórficos se encontraron fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg. A nivel global, de los siete loci polimórficos cinco presentaron deficiencia de heterocigotos; cuatro de éstos registraron deficiencias significativas en las dos poblaciones estudiadas (Est-1, Pgm, Gpi y Gapdh), y el quinto (Idh) estuvo en desequilibrio únicamente en la población de La Paz (Tabla VIII).

A nivel intrapoblacional el patrón fue más complejo; en la población de La Paz, de los cinco loci que se encontraron fuera del equilibrio, sólo dos presentaron deficiencia significativa de heterocigotos en los tres demos estudiados (Gpi y Gapdh), mientras que los tres loci restantes (Idh, Est-1 y Pgm) la presentan sólo en las muestras de La Marina y El Caimancito (Tabla Va). En la población de San Felipe, sólo tres loci registraron deficiencia en los tres niveles del intermareal (Est-1, Gpi y Gapdh), mientras que el cuarto loci con deficiencia de heterocigotos en esta población (Pgi) presentó deficiencia únicamente en los niveles inferiores del intermareal (10 y 0% de exposición promedio anual a la desecación; Tabla Vb).

Las deficiencias de heterocigotos en las poblaciones de bivalvos se han tratado de explicar de diversas formas, mismas que se pueden agrupar en cuatro categorías biológicas y una de orden técnico: 1) endogamia, 2) segregación de alelos nulos o silenciosos, 3) efecto de Wahlund, 4) selección natural y 5) problemas de tinción o de apreciación en la interpretación de los zimogramas (Milkman y Beaty, 1970; Koehn y Mitton, 1972; Tracey, *et al.*, 1975; Koehn, *et al.*, 1976; Ayala y Kiger, 1984; Zouros y Foltz, 1984; Rosa-Vélez, 1986; Zouros, 1987; Beaumont, 1990).

La explicación de orden técnico está vinculada a problemas de tinción o de apreciación en la interpretación de los zimogramas, lo cual conduce a considerar como homocigotos a organismos que en realidad son heterocigotos. En este trabajo, sin embargo, dicha explicación debe descartarse, ya que no sólo se llevó a cabo una cuidadosa estandarización de la metodología electroforética, escogiéndose las mejores condiciones para lograr electromorfos lo más claramente definidos en el electroforegrama, sino que además, cuando se tenían dudas en la interpretación de algún zimograma, ya sea por tinciones difusas o por el gran número y escasa movilidad de los electromorfos, se repetía el análisis incrementando el tiempo de la corrida electroforética y se realizaba una cuidadosa revisión de los resultados. Debido a la certeza en la calibración del método y a la minuciosa revisión de los zimogramas se puede aseverar que los resultados obtenidos son representativos de la variabilidad genética de *M. capax* en el Golfo de California.

Entre los posibles factores de orden biológico responsables de las grandes deficiencias de heterocigotos en las poblaciones naturales de mejillones, la endogamia es a juicio de muchos investigadores la menos probable. La endogamia es un proceso comunmente observado en poblaciones que presentan autofecundación o en poblaciones en las cuales los apareamientos entre organismos emparentados son más frecuentes de lo que se esperaría si los cruzamientos fuesen al azar (Ayala y Kiger, 1984). La endogamia es un proceso que de presentarse de manera significativa en una población, conlleva necesariamente a la deficiencia de heterocigotos (Mayr, 1979, citado por Rosa-Vélez, 1986; Beaumont, 1990). Sin embargo, la biología reproductiva de los mejillones hacen muy remota la posibilidad de que individuos estrechamente relacionados ocurran en la misma localidad. Aún cuando organismos estrechamente emparentados llegaran a ocupar el mismo sitio, para que ocurriera un proceso de endogamia, el desove de dichos individuos tendría que ser sincrónico y tendría que ocurrir en un tiempo diferente que el de el resto de los organismos no emparentados. Por consiguiente, la posibilidad de que se presente un significativo nivel de endogamia en las poblaciones de mejillones se considera muy remota (Beaumont, 1990).

La segregación de alelos nulos o silenciosos es otro de los posible factores biológicos con muy baja probabilidad de explicar por si sólo la deficiencia de heterocigotos en las poblaciones de mejillones. Por una parte, la presencia de alelos nulos no ha sido reportada con frecuencia en estudios electroforéticos de bivalvos y su contribución a la deficiencia de heterocigotos es irrelevante (Foltz, 1986; Thiriot-Quievreux, *et al.*, 1988, citado por Beaumont, 1990). Por otro lado, Zouros, *et al.*(1980), señala que la probabilidad

de una alta frecuencia de organismos heterocigotos que posean alelos nulos en una población es muy pequeña, debido a que esto requeriría que se presentara una alta tasa de mutación, además de que los coeficientes de selección a favor de los organismos heterocigotos con alelos nulos tendrían que ser muy elevados, lo cual también se considera altamente improbable.

En cuanto al efecto de Wahlund, este fenómeno se refiere a una muestra en la cual una importante proporción de sus miembros son organismos que provienen de poblaciones que difieren en sus frecuencias alélicas, es decir, la población se encuentra subdividida en diferentes unidades reproductivas, lo que genera una deficiencia de heterocigotos en proporción con la varianza de las frecuencias alélicas entre las diferentes unidades reproductivas que componen la población (Nei, 1987; Beaumont, 1990; Gaffney, *et al.*, 1990).

A este respecto, Koehn (1991) señala que a pesar de que en algunos de los estudios sobre la variabilidad alozimática de mejillones, particularmente del género *Mytilus*, se había demostrado hábilmente que las deficiencias de heterocigotos estaban asociadas con importantes cambios espaciales en la composición genética a nivel local, lo que implicaría un efecto de Wahlund originado por la mezcla entre poblaciones locales (cf., en Koehn, *et al.*, 1976), en ningún caso las diferencias poblacionales fueron lo suficientemente importantes para poder explicar cuantitativamente las grandes deficiencias observadas.

Una evidencia adicional de que las deficiencias de heterocigotos en las poblaciones de mitílidos no se deben al efecto de Wahlund es que los niveles de deficiencia en juveniles del medio natural son semejantes a los de juveniles obtenidos de “pair matings” y criados en el laboratorio (Gosling y Wilkins, 1985; Mallet, *et al.*, 1985; Beaumont, 1990).

En el presente estudio, la significativa deficiencias de heterocigotos en la mayoría de los loci polimorficos no se correlaciona con la gran homogeneidad genética intra e interpobacional (homogeneidad genética; tablas Va, b y IX), lo que sugiere que las grandes deficiencias observadas no pueden ser atribuidas al efecto de Wahlund.

Finalmente, dentro de las causas de tipo biológico, el argumento de que las deficiencias de heterocigotos en las poblaciones naturales de bivalvos y particularmente de los mejillones, puedan ser causadas por el efecto de la selección natural en contra de los heterocigotos (subdominancia), se contrapone a los principios básicos de las teorías seleccionistas para el mantenimiento del polimorfismo genético por dominancia o sobredominancia (Beaumont, 1990). Lo anterior obedece a que si la subdominancia en algunos loci se presenta generación tras generación dentro de una población, finalmente debe conducir a la fijación de alelos en esos loci. Singh y Green (1984) propusieron un modelo de selección equilibradora bifásica el cual podía conciliar el exceso de homocigotos y el mantenimiento del polimorfismo en las poblaciones. En dicho modelo se postula que la subdominancia ocurre únicamente en un estadio temprano del ciclo de vida y es seguida por

una sobrevivencia preferencial de heterocigotos en los estadios posteriores del ciclo de vida antes de que tenga lugar el mayor esfuerzo reproductivo.

El modelo está fundamentado en que en numerosas poblaciones naturales de bivalvos las deficiencias de heterocigotos son más notables en organismos de talla más pequeña y que dichas deficiencias decrecen con la edad (Koehn *et al.*, 1973; Tracey *et al.*, 1975; Chaisson *et al.*, 1976; Koehn *et al.*, 1976; Singh y Zouros, 1978; Zouros *et al.*, 1980; Singh, 1982). Recientemente Beaumont (1990), proporcionó la primera evidencia directa de que la selección en contra de los heterocigotos después del asentamiento es la causa de las deficiencias de heterocigotos en los juveniles de *M. edulis* en un cultivo de laboratorio.

Una situación que ha generado gran interés y una controversia todavía no resuelta (Koehn, 1990; Zouros, 1990), es la co-ocurrencia de un importante déficit de heterocigotos en aquellos loci donde la heterocigosidad tiene el mayor efecto positivo en el crecimiento. Zouros y Foltz (1987) con su hipótesis de “sobredominancia asociativa” argumentan que los loci muestreados por medio de la electroforesis actúan simplemente como marcadores de las condiciones genéticas que son responsables de la correlación. Por ejemplo, si los organismos aparentemente homocigotos, incluyen individuos con aneuploidia en ciertos loci ligados en desequilibrio u homocigotos para genes deletereos recesivos en loci ligados en desequilibrio, la selección en contra de ellos puede mostrar una aparente superioridad de los heterocigotos. Después de que la selección ha eliminado esos individuos, la asociación entre el desempeño y la heterocigosis enzimática, no necesariamente se tiene que mantener (Gaffney, 1990).

Cabe mencionar que la aneuploidia es un fenómeno muy común en algunos mitílidos, particularmente en condiciones medioambientales de extremo estrés (Dixon, 1982).

Por otro lado Koehn *et al.* (1988) con su hipótesis de “sobredominancia”, proponen que las variantes enzimáticas en los loci muestreados son los responsables directos de la correlación siempre que dichos loci estén directamente relacionados con el catabolismo protéico y glucólisis. Esto requiere la ocurrencia de una verdadera sobredominancia en locus individuales o la dominancia multi-locus en todos o en muchos de los loci muestreados.

Sin embargo, con los conocimientos de las poblaciones naturales generados hasta el momento, no es posible discriminar entre estas dos hipótesis, por lo que el origen de la amplia distribución de las deficiencias de heterocigotos en las poblaciones naturales de mejillones, permanece como un problema que requiere de una mayor investigación (Koehn, 1991).

Con base en lo expuesto anteriormente es evidente que la deficiencia de heterocigotos en la mayoría de los loci polimórficos de *M. capax* es una condición generalizada en las poblaciones naturales de bivalvos y en particular en los mitílidos y que las causas de este fenómeno, así como los mecanismos que permiten el mantenimiento simultáneo de un alto polimorfismo y una elevada deficiencia de heterocigotos aún está debatiéndose. Claramente con la información recopilada en este trabajo no es posible inclinarse por una u otra hipótesis.

IV.3 Estructura genética.

En el presente trabajo, mediante la ecuación de Wright (1965) modificada por Nei (1973) se midió la diferenciación genética de los loci polimórficos (F_{ST}), dentro de cada población (Tabla V) y entre ambas poblaciones (Tabla X) y se encontró que en la población de La Paz solamente el 7.1 % de la variación de la población total está asociada a la variación de las subpoblaciones, es decir que sólo el 7.1 % de los loci polimórficos son heterogéneos respecto a las frecuencias de sus alelos y el 92.9 % son homogéneos. En la población de San Felipe el valor de este estimador fue de 4.5 %, mientras que entre las dos poblaciones se obtuvo un valor de 2.9 %.

Con respecto a la homogeneidad intrapoblacional (F_{IS}) y la homogeneidad de una subpoblación con respecto a las demás (F_{IT}), en el análisis a nivel local se encontró un valor promedio de F_{IS} de 0.482 y de F_{IT} de 0.519, en la población de La Paz y 0.450 y 0.474 respectivamente, en la población de San Felipe, mientras que entre las dos poblaciones el valor de F_{IS} fue de 0.498 y el de F_{IT} de 0.513.

Teóricamente, una correlación F_{IT} con valor máximo (100%), indica que no existen subpoblaciones, y por el contrario, un mínimo (0%), que las poblaciones están completamente aisladas (Wright, 1965). A su vez, el hecho de que F_{IS} (correlación entre dos gametas producidas por un individuo en relación con la subpoblación) sea menor que F_{IT} (correlación entre dos gametas producidas por un individuo en relación con la población total), sugiere la existencia de un importante flujo génico entre dichas poblaciones.

En virtud de que éste es el primer trabajo donde se compara la estructura genética de dos poblaciones del género *Modiolus* (Koehn y Mitton, 1972; Koehn *et al.*, 1973; Mitton *et al.*, 1973; Chaisson *et al.*, 1976), la homogeneidad encontrada sólo puede contrastarse con lo reportado en otros mitílidos, particularmente especies pertenecientes al género *Mytilus* para los cuales existe un importante cuerpo de información.

Antes de 1991, en los estudios de genética de poblaciones del género *Mytilus*, el énfasis era destacar las diferencias poblacionales en su constitución genética a nivel macro y micro geográfico y la opinión que prevelece era que éstas, en general estaban genéticamente muy estructuradas. Es importante mencionar, sin embargo, que desde la década de los 70' los resultados de algunos estudios apuntaban en dirección contraria. Entre éstos cabe mencionar los resultados de Levinton y Koehn (1976), Ahmad *et al.* (1977) y de Skibinski *et al.* (1980) quienes encontraron una gran similitud en la constitución genética en las poblaciones de *M. californianus* de Alaska hasta California central (E.U.A.), *M. edulis* de Inglaterra e Irlanda y de *M. galloprovincialis* del Atlántico y del Mediterráneo, respectivamente.

Actualmente se reconoce que las especies del género *Mytilus* exhiben una composición genética similar a todo lo largo de su rango de distribución geográfica, independientemente de que su distribución espacial sea continua o discontinua (Koehn, 1991). En la mayoría de los casos, las "clinas" genéticas descritas en poblaciones de una especie dada, tanto a nivel local como entre diferentes áreas geográficas, las cuales habían

sido atribuidas a diferencias específicas del hábitat principalmente en términos de temperatura y/o salinidad y posición en el intermareal (Koehn y Mitton, 1973; Koehn *et al.*, 1976, 1980; Theisen, 1978; Gartner-Kepkay *et al.*, 1980, 1983; Berger, 1983; Bulnheim y Gosling, 1988), son en realidad el resultado de una deficiente clasificación taxonómica (por la similitud morfológica de las especies) y/o consecuencia de hibridación interespecífica.

La ocurrencia de hibridación interespecífica en poblaciones simpátricas de *M. edulis* y *M. galloprovincialis* ya había sido postulada por Skibinski y Beardmore (1979), Gosling y Wilkins (1981), Skibinski (1983) y Skibinski *et al.* (1978, 1980, 1983), pero la importancia de este proceso en la genética poblacional de *Mytilus sp.* sólo fue reconocida recientemente por McDonald *et al.* (1991) y Koehn (1991) quienes a través del análisis multivariado de datos electroforéticos demuestran que a nivel mundial existen sólo cuatro genotipos base o taxones para el género (*M. edulis*, *M. galloprovincialis*, *M. californianus* y *M. trossulus*) en lugar de las ocho comúnmente manejadas (además de las primeras tres; *M. planulatus*, *M. platensis*, *M. chilensis*, *M. desolationis* y *M. coruscus*), y que los individuos en los espacios multivariados intermedios son invariablemente de localidades donde co-existen *M. edulis*, *M. galloprovincialis* y *M. trossulus*.

En el caso de *M. capax* la homogeneidad genética encontrada en las dos poblaciones extremas de la costa oeste del Golfo de California puede obedecer, por una parte, a que la probabilidad de que ocurra hibridación interespecífica es muy baja y, por otra, a que *M.*

capax se distribuye a lo largo de todo el Golfo de California, incluyendo las islas intermedias (Brusca, 1980), lo cual puede facilitar el intercambio génico entre las poblaciones.

Con respecto al primer punto (hibridación interespecífica) es importante mencionar que aunque dentro del Golfo de California existen otras especies de *Modiolus* (*M. rectus*, *M. pseudotulipus* y *M. eiseni*), con excepción de *M. capax*, quien tiene importantes poblaciones intermareales y submareales, el resto de las especies se les encuentra esporádicamente registrando un incremento en abundancia sólo a partir del estado de Chiapas (Keen, 1971; Brusca, 1980; García-Cubas y Reguero, 1987)

Sobre la posible importancia del flujo génico entre las poblaciones de *M. capax* del Golfo de California deben mencionarse varios aspectos. Primeramente, este mejillón no sólo se distribuye a lo largo del Golfo (≈ 1100 Km) sino que entre sus poblaciones suelen mediar distancias menores a los 70 Km, según se estimó en la prospección de bancos de la especie realizada en la costa de Baja California y Baja California Sur (Farfán, comunicación personal); más aún, la distancia media entre la costa oeste y este del Golfo, donde también existen abundantes poblaciones de *M. capax*, es de sólo 150 Km.

Dado que en condiciones de cultivo la fase planctónica de *M. capax* puede durar de 10 a 25 días dependiendo de las condiciones térmicas (Farfán, comunicación personal), si se considera un transporte neto de 5 cm/seg que es el campo de velocidades estimado para el Golfo Norte durante el período de verano (Filloux, 1973; Lepley *et al.*, 1975; Quirós-Alvarez, 1983; Fu y Holt, 1984; Badán-Dangon *et al.*, 1985; Organista-Sandoval, 1987;

Bray, 1988; Durazo-Arvizu, 1989; Torres-Orosco, 1993), la capacidad de dispersión de las larvas es de 43.2 a 108 Km. Aunque estos valores son inferiores a la capacidad de dispersión estimada por Levinton y Koehn (1976) para *Mytilu edulis* (173 km), quienes consideran una vida planctónica media de 20 días y corrientes con velocidad promedio de 10 cm/seg, obviamente, la capacidad de dispersión de sus larvas va a estar afectada por la disponibilidad de sustratos para el asentamiento y por las fluctuaciones en el campo de velocidad de las corrientes.

Finalmente es importante señalar que el período reproductivo de *M. capax*, el cual se inicia al principio de la primavera y termina a fines del verano (Ochoa-Báez, 1987; Orduña-Rojas y Farfán, 1991), coincide con un período en que la circulación superficial del Golfo se presenta en diferentes direcciones (primavera) y otro período donde el patrón de circulación es más estructurado (verano, flujos hacia el norte). Esta situación muy probablemente incrementa el potencial de dispersión de las larvas de *M. capax*.

Badán-Dangon *et al.* (1985) señala que la vigorosa circulación del Golfo de California está generada por el intenso forzamiento de las corrientes de marea, la batimetría irregular, el calentamiento solar, la interacción con el Océano Pacífico y el viento. Sin embargo, los patrones de circulación general parecen estar regulados por los campos de viento regionales. Durante el invierno predominan los vientos del noroeste y la circulación superficial se caracteriza por flujos hacia el sur, en el verano los vientos son del sureste y la circulación es hacia el norte. Primavera y otoño son períodos de transición donde la

dirección de los vientos es muy variable y no hay un patrón de circulación definido (Wytki, 1967; Alvarez-Sánchez *et al.*, 1978a; Emilsson y Alatorre, 1980; Alvarez-Borrego, 1983; Baumgartner y Christensen, 1985; Badán-Dangon *et al.*, 1985, 1989; Torres-Orosco, 1993).

El Golfo Norte o superior, cuyo límite septentrional es el extremo sur de la isla Tiburón, Son. y Punta San Gabriel, B.C., se caracteriza por ser una zona de intensa mezcla, especialmente en invierno y principios de primavera. En esta región los flujos se deben principalmente a corrientes de marea y a los vientos, lo cual genera una importante circulación residual, giros y filamentos. Durante el verano predomina una circulación superficial ciclónica con un campo de velocidad máximo $\approx 5\text{cm/seg}$, y en invierno la circulación es anticiclónica; en primavera y otoño los flujos son en diferentes direcciones y de velocidad variable (Filloux, 1973; Lepley *et al.*, 1975; Quirós-Alvarez, 1983; Fu y Holt, 1984; Badán-Dangon *et al.*, 1985; Organista-Sandoval, 1987; Bray, 1988; Durazo-Arvizu, 1989; Torres-Orosco, 1993).

El Golfo Sur o inferior, cuyo límite sur es una línea imaginaria entre Cabo San Lucas, B.C.S. y Mazatlán, Sin., es así mismo una región muy dinámica y su patrón de circulación también presenta una gran variabilidad estacional. En la porción norte de esta región ocurren eventos de surgencia todo el año pero se intensifican en invierno y verano. En el primer caso las surgencias son en la costa este y en el verano en la costa oeste; durante estos eventos se detectan filamentos de surgencia que atraviezan el Golfo, siendo más intensos los de dirección este-oeste (de Sonora a Baja California). El Golfo Sur también se

caracteriza por la presencia de pequeños y transitorios remolinos de 20 a 30 Km de diámetro y un giro anticiclónico semipermanente en la cuenca de Guaymas. En la parte central la circulación superficial depende de dirección e intensidad del viento. En la región más sureña, en verano e invierno el flujo superficial es hacia el noreste entrando por la porción oriental de la boca , pero en primavera y otoño los flujos de entrada y salida son variables pudiendo alcanzar velocidades de hasta 50 cm/seg. (Wyrski, 1965 y 1967; Griffiths, 1968; Stevenson, 1970; Alvarez-Sánchez *et al.*, 1978b; Rosas-Cota, 1976; Badán-Dangon *et al.*, 1985, 1989; Torres-Orosco, 1993).

Con base en lo antes expuesto resulta altamente probable que exista un intenso flujo génico, no sólo entre las poblaciones aledañas de *M. capax* (escalonada) y en dirección norte y sur (bidireccional) sino incluso entre las poblaciones de Baja California y Sonora.

V CONCLUSIONES

1.- En términos de polimorfismo y heterocigosis, la estructura genética de *Modiolus capax* Conrad en las tres localidades estudiadas de la Bahía de La Paz, B.C.S.(El Caimancito, La Marina y El Barco Hundido) fue homogénea. En San Felipe, B.C. la estructura genética de *M. capax* en los tres niveles del intermareal estudiadas (20, 10 y 0 % de exposición promedio anual a la desecación) fue también homogénea.

2.- Los niveles de polimorfismo global (P_{95}) en las poblaciones de *M. capax* tanto de San Felipe como de La Paz fue de 58.3 %, valor ligeramente inferior al promedio general de polimorfismo estimado en invertebrados marinos (58.7 %).

3.- En ambas poblaciones la variabilidad alozimática de los loci polimórficos fue alta, en particular en los loci Gpi, Lap, Pgm, Idh y Est-1 (19, 18, 8, 7 y 6, respectivamente) mismas que en trabajos futuros podrían utilizarse como marcadores genéticos.

4.- La heterocigosis observada en la población de La Paz fue de 0.124 ± 0.066 y la heterocigosis esperada de 0.260 ± 0.086 . En San Felipe la heterocigosis observada fue de 0.116 ± 0.065 y la esperada de 0.221 ± 0.075 . En ambas poblaciones el 71.4 % de los loci polimórficos registró deficiencias de heterocigotos.

5.- Los estimadores "F" revelaron que sólo el 2.9 % de la variación genética total de los loci polimórficos estuvo asociada a la variación intrapoblación (F_{ST}). Los valores

promedio de homogeneidad intrasubpoblacional (F_{IS}) e intrapoblacional (F_{IT}) fueron de 0.498 y 0.513, respectivamente, lo que indica un alto grado de homogeneidad genética entre las poblaciones extremas de *M. capax* de la costa occidental del Golfo de California.

6.- La homogeneidad genética de *M. capax* en el Golfo de California pudiera obedecer por una parte a que las posibilidades de que ocurra un grado importante de hibridación interespecífica es baja y por otro lado a que *M. capax* se distribuye a lo largo del Golfo de California incluyendo las islas intermedias, lo cual aunado a la vigorosa dinámica de la circulación superficial del Golfo puede facilitar un importante flujo génico entre las poblaciones aledañas e incluso entre las poblaciones de la península de Baja California y Sonora.

7.- En virtud de la homogeneidad genética observada se deduce que el manejo de las poblaciones de *M. capax* del Golfo de California en términos de trasplantes, repoblamiento u operaciones de cultivo no alteraría el reservorio genético local de la especie.

LITERATURA CITADA

- Abreu-Grobois, A. 1983. Population genetics of *Artemia*. Tesis Doc. Univ. College of Swansea. 438 pp.
- Aguirre-Hinojosa, E. y L.F. Bückle-Ramírez. 1992. Fijación y crecimiento del mejillón *Modiolus capax* sobre sustratos artificiales en la Bahía de los Angeles B.C., México. Ciencias Marinas. Vol. 118(2): 33-48.
- Ahmad, M. y Beardmore, J. A. 1976. Genetic evidence that the "Padstow Mussel" is *Mytilus galloprovincialis*. Mar. Biol. 35: 139-144.
- Ahmad, M., Skibinski, D. O. F., y Beardmore, J. A. 1977. An estimate of the genetic variation in the common mussel, *Mytilus edulis*. Biochem. Genet. 15: 833-846.
- Alvarez-Borrego, S. 1983. Gulf of California, in Estuaries and Enclosed Seas. En: B. H. Ketchum (eds.), Elsevier, Amsterdam. 500 pp.
- Alvarez-Sánchez, L. G., M. R. Stevenson y B. Wyatt. 1978a. Circulación y masas de agua en la región de la boca del Golfo de California en la primavera de 1970. Ciencias Marinas. 5(1):57-69.
- Alvarez-Sánchez, L. G., M. R. Stevenson y B. Wyatt. 1978b. Corrientes en la región de la boca del Golfo de California en la primavera de 1970. Ciencias Marinas. 5(1):105-117.
- Ayala, F. J. 1973. Genetic variation in *Tridacna maxima*: an ecological analog of some unsuccessful evolutionary lineages. Evolution. Vol. 27(2):176-191.
- Ayala, F. J. y J. A. Kiger, Jr. 1984. Genética Moderna. Fondo Educativo Interamericano S.A.; México. 813 pp.
- Badán-Dangon, A., C. J. Koblinsky y T. Baumgartner. 1985. Spring and summer in the Gulf of California: Observations of surface thermal patterns. Oceanol. Acta. 8:13-22.
- Badán-Dangon, A., J. M. Robles y J. García. 1989. Poleward flows off México's Pacific Coast. En: S. J. Neshyba, Ch. N. K. Mooers, R. L. Smith y R. T. Barber (eds.). Poleward Flows Along Eastern Ocean Boundaries. In Coastal and Estuarine Studies. Vol. 34: 374 pp.

- Baumgartner, T. R. y Christensen, N. 1985. Coupling of the Gulf of California to large-scale interannual climatic variability. *J. Mar. Res.* 43:825-848.
- Beaumont, A. R. 1990. Genetic studies of laboratory reared mussels, *Mytilus edulis*: heterozygote deficiencies, heterozygosity and growth. *Biol. J. Linn. Soc.* 44:273-285.
- Berger, E. M. 1983. Populations genetics of Marine Gastropods and Bivalves. En: Russell-Hunter, W. D. (ed.). *The Mollusca*. Vol. 6. Ecology. Academic Press, N.Y. 563-590.
- Boyer, J. F. 1974. Clinal and size-depend variation at the Lap locus in *Mytilus edulis*. *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole.* 147: 535-549.
- Bray, N. A. 1988. Termohaline circulation in the Gulf of California. *J. Geophys. Res.* 93(c5):4993-5020.
- Brusca, R. C. 1980. *Commun intertidal invertebrates of the Gulf of California*. Second edition. The University of Arizona Press. 513 pp.
- Bückle-Ramírez, L. F. y Farfán, C. 1987. Experiencias y posibilidades del cultivo de *Modiolus capax* en Bahía de los Angeles, Baja California, México. En: Encuentro Regional Sobre Producción de Mejillón. (Cultivo, Industrialización, Comercialización y Consumo). Ensenada, B.C. 119-128.
- Bulnheim, H. P. y E. M. Gosling. 1988. Population genetic structure of mussel from the Baltic Sea. *Helgol. Meeresunters.* 42: 113-129.
- Buroker, N. E. 1979. Overdominance of a muscle protein (Mp-1) locus in the Japanese oyster, *Crassostrea gigas* (Ostreidae). *J. Fish. Res. Board Can.* 36: 1313-1318.
- Buroker, N. E. 1983. Populations genetics of the American oyster *Crassostrea virginica* along the Atlantic coast and the Gulf of México. *Mar. Biol.* 75: 99-112.
- Buroker, N. E., W.K. Hershberger y K.K. Chew. 1975. Genetic variation in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Fish. Res. Bd Can.* 32: 2471-2477.
- Carrillo-Barco, L. C. 1990. Caracterización del acervo genético mediante electroforesis en gel de almidón de la población local del caracol *Astrea undosa* de la Laguna de San Ignacio, B. C. S., México. Tesis de Lic. FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 41pp.

- Chaisson, R. E., L. A. Serunian y T. J. Schopf. 1976. Allozyme variation between two marshes and possible heterozygote superiority within a marsh in the bivalve *Modiolus demissus*. Biol. Bull. (Woods Hole, Mass.) 151, 404.
- Dixon, D. R. 1982. Aneuploidy in mussel embryos (*Mytilus edulis* L.) originating from a polluted dock. Mar. Biol. Lett. 3: 155-161.
- Durazo-Arvizu, R. 1989. Frentes térmicos de verano en el Alto Golfo de California. Tesis M. C. CICESE, Ensenada, B.C., México. 66pp.
- Emilsson, I. y M. A. Alatorre. 1980. Investigaciones recientes sobre la circulación en la parte exterior del Golfo de California. Centro de Ciencias del Mar y Limnología, Contribución No. 210, Univ. Nal. Autón. México, p 1-23.
- Escobar-Fernández, R. 1991. Variabilidad genética en dos poblaciones distantes del camarón café (*Penaeus californiensis* Holmes, 1900) en el Golfo de California. Tesis M. C. CICESE, Ensenada, B.C., México. 100 pp.
- Espinoza-Peralta, A. M. 1989. Dilación del desove de *Modiolus capax* Conrad (Bivalvia:Mytilidae) en condiciones controladas de temperatura y alimentación. Tesis de Lic. FC-UABC, Ensenada, México. 106 pp.
- FAO, 1990. Anuario Estadístico de Pesca. Captura y desembarque. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Vol.70: 647 pp.
- Filloux, J. H. 1973. Tidal patterns and energy balance in the Gulf of California. Nature. 243:217-221.
- Foltz, D. M. 1986. Null alleles as possible causes of heterozygote deficiencies in the oyster *Cassostrea virginica* and other bivalves. Evolution. 40: 869-870.
- Fu, L. L. y B. Holt. 1984. Internal waves in the Gulf of California: Observations from a spaceborne radar. J. Geophys. Res. 89(C2): 2053-2060.
- Gaffney, P. M. 1990. Enzyme heterozygosity, growth rate, and viability in *Mytilus edulis*: another look. Evolution. 44: 204-210.
- Gaffney, P. M., T. M. Scott, R. K. Koehn y W. J. Diehl. 1990. Interrelationships of heterozygosity, growth rate and heterozygote deficiencies in the coot clam, *Mulinia lateralis*. Genetics. 124: 687-699.

- García-Cubas y Reguero. 1987. Conocimiento actual de los mitílidos tropicales en México. En: Encuentro Regional Sobre Producción de Mejillón. (Cultivo, Industrialización, Comercialización y Consumo). Ensenada, B.C., noviembre de 1987. 139-166 pp.
- Gartner-Kepkay, K. E., L. M. Dickie, K. R. Freeman, y E. Zouros. 1980. Genetic differences and environments of mussel populations in the maritime provinces. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37: 775-782.
- Gartner-Kepkay, K. E., E. Zouros, L. M. Dickie y K. R. Freeman. 1983. Genetic differentiation in the face of gene flow: a study of mussel populations from a single Nova scotian embayment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40: 443-451.
- Garza-Aguirre, M. del C. y L. F. Bückle-Ramírez. 1989a. Ciclo reproductivo del mejillón *Modiolus capax* (Conrad, 1837) (Bivalvia, Mytilidae, Anisomyaria) en Bahía de los Angeles, Baja California, México. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM.* 16(1):157-170.
- Garza-Aguirre, M. del C. y L. F. Bückle-Ramírez. 1989b. Estructura de tallas, reclutamiento y crecimiento del mejillón *Modiolus capax* (Conrad) (Bivalvia:Mytilidae) en Bahía de los Angeles, Baja California, México. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM.* 16(2):245-254.
- Gosling, E. M. 1982. Genetic variability in the hatchery-produced Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture, Amsterdam.* 26: 273-287.
- Gosling, E. M. 1984. The systematic status of *Mytilus galloprovincialis* in Western Europe: a review. *Malacologia.* 25: 551-568.
- Gosling, E. M. 1989. Genetic heterozygosity and growth rate in a cohort of *Mytilus edulis* from the Irish coast. *Mar. Biol.* 100: 211-215.
- Gosling, E. M. y N. P. Wilkins. 1981. Ecological genetics of the mussel *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis* on the Irish coast. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 4: 221-227.
- Gosling, E. M. y N. P. Wilkins. 1985. Genetics of settling cohorts of *Mytilus edulis* (L.): preliminary observations. *Aquaculture, Amsterdam.* 44: 115-123.
- Griffiths, R. C. 1968. Physical, chemical and biological oceanography of the entrance to the Gulf of California, spring of 1960. *U. S. Fish Wildl. Serv. Sci. Rep. Fish.* 573:47 pp.

- Harris, H. y D. A. Hopkinson, 1978. Hand book of enzyme electrophoresis in human genetics. Harris, H. y D. A. Hopkinson (eds.). North-Holland, Amsterdam. 450 pp.
- Hedgecock D., R. A. Shleser y K. Nelson. 1976. Aplications of biochemical genetics to aquaculture. J. Fish. Res. Board Can. 33: 1108-1119.
- Hillis, D. M. y C. Moritz. 1990. Molecular systematics. Hillis, D. M. y C. Moritz (eds.). Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, U.S.A. 588 pp.
- Hubby, J. L. y R. C. Lewontin. 1966. A molecular approach of the study of genetic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles in diferent loci in *Drosophila pseudoobscura*. Genetics. 54:577-594.
- Keen, A. M. 1971. Sea shells of tropical west America. Stanford University Press. 208 pp.
- Koehn, R. K. 1990. Heterozygosity and growth in marine bivalves: comments on the paper by Zouros, Romero-Dorey and Mallet (1988). Evolution. 44: 213-216.
- Koehn, R. K. 1991. The genetics and taxonomy of species in the genus *Mytilus*. Aquaculture, Amsterdam. 94: 125-145.
- Koehn, R. K. y J. B. Mitton. 1972. Populations genetics of marine pelecypods. I. Evolutionary strategy at an enzyme locus. Amer. Natur. 106: 47-56.
- Koehn, R. K. y J. B. Mitton. 1973. Population genetics of marine pelecypods. I. Ecological heterogeneity and evolutionary strategy at enzyme locus. The Amer. Natur. 106:47-56.
- Koehn, R. K., J. E. Pérez y R. B. Merritt. 1971. Esterase enzyme funtion and genetical structure of populations of the freshwater fish, *Notropis stramineus*. Am. Nat. 105: 51-69.
- Koehn, R. K., F. J. Turano y J. B. Mitton. 1973. Population genetics of marine pelecypods. II. Genetic differences in microabitats of *Modiolus demissus*. Evolution. 27: 100-105.
- Koehn, R. K., R. Milkman y J. B. Mitton. 1976. Population genetics of marine pelecypods. IV. Selection, migration and genetic differentiation in the blue mussel *Mytilus edulis*. Evolution. 30: 2-32.

- Koehn, R. K., W. J. Diehl y T. M. Scott. 1988. The differential contribution by individual enzymes of glycolysis and protein catabolism to the relationship between heterozygosity and growth rate in the coot clam, *Mulinia lateralis*. *Genetics*. 118: 121-130.
- Lepley, L. K., S. P. Vonder-Haar, J. R. Hendrickson y G. Calderon-Riveroll. 1975. Circulation in the northern Gulf of California from orbital photographs and ship investigations. *Cien. Mar.* 2(2): 86-93.
- Levinton, J. S. y R. K. Koehn. 1976. Population genetics of mussels. En: B. L. Bayne (ed.). "Marine Mussels: Their Ecology and Physiology". Cambridge Univ. Press, London and New York. 357-384.
- MacDonald, J. H., R. Seed y R. K. Koehn. 1991. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres. *Mar. Biol.* 111: 323-333.
- Mallet, A. L., E. Zouros, K. E. Gartner-Kepkay, K. R. Freeman y L. M. Dickie. 1985. Larval viability and heterozygote deficiency in populations of marine bivalves: evidence from pair matings of mussels. *Marine Biology*. 87: 109-123.
- Maynard, S. J. 1989. The variability of natural populations. En: J. Maynard Smith (ed). *Evolutionary genetics*. Oxford University Press, Oxford. 48-78.
- Mendoza-Aguirre, L. O. 1989. Genética del demo de Rincón de Ballenas del caracol *Astraea undosa* (Wood, 1828) en la Bahía de Todos Santos, B.C., México. Tesis Lic. FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 53 pp.
- Milkman, R. y L. D. Beaty. 1970. Large scale electrophoretic studies of allelic variation in *Mytilus edulis*. *Biol. Bull. (Woods Hole, Mass.)* 139, 430.
- Mitton, J. B., R. K. Koehn y T. Prout. 1973. Population genetics of marine pelecypods. III. Epistasis between functionally related isoenzymes of *Mytilus edulis*. *Genetics*. 73; 487-496.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 70: 3321-3323.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89: 583-590.

- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Nei, M. (ed.). Columbia University Press, New York. 512 pp.
- Ochoa-Báez, R. I. 1987. Aspectos de la biología del mejillón *Modiolus capax* (Conrad, 1837), en la Bahía de La Paz, B.C.Sur, México. Tesis M. C. CICIMAR, La Paz, B.C.S., México. 173pp.
- Olsson, A. A. 1961. Mollusks of the tropical eastern Pacific. Paleontological Research Institute. 574 pp.
- Orduña-Rojas, J. y C. Farfán, 1991. Induced spawning and ontogeny of *Modiolus capax* Conrad (Bivalvia:Mytilidae). The Veliger. 34(3):302-308.
- Organista-Sandoval, S. 1987. Flujos de calor en el Alto Golfo de California. Tesis M.C. CICESE, Ensenada, B.C., México. 142 pp.
- Poulik, M. D. 1957. Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. Nature, 180: 1477-1479.
- Quirós-Alvarez, G. E. 1983. Circulación residual en el Golfo de California. Un modelo numérico. Tesis M.C. CICESE, Ensenada, B.C., México. 98 pp.
- Richardson, B. J., P. R. Baverstock y M. Adams. 1986. Allozyme Electrophoresis. Harcourt Brace Jovanovich (Eds.). Academic Press, Australia. 410 pp.
- Rico-Mora, R. 1987. Efecto interactivo de la temperatura y de la concentración de microalgas en la fisiología alimenticia y la energía potencial para el crecimiento de *Modiolus capax*. Tesis M. C. CICESE, Ensenada, B.C., México. 91 pp.
- Romero-Romero, E. 1989. Variabilidad genética del caracol *Astera undosa* (Wood, 1828), en una población de la Bahía Tortugas, B.C.S., sujeta a extracción comercial. Tesis Lic. FCM-UABC, Ensenada, México. 61 pp.
- Rosa-Vélez, J. de la. 1986. Variabilidad genética poblacional en ostiones de la especie *Crassostrea virginica* del Golfo de México. Tesis Doc. ICML-UNAM, México, D.F., México. 124 pp.
- Rosa-Vélez, J. de la y F. Rodríguez-Romero. 1988. Aplicabilidad de las mediciones de variabilidad genética a la pesquería del ostión americano *Crassostrea virginica* Gmelin del Golfo de México. Cienc. Mar. 14(4): 43-56.

- Rosa-Vélez, J. de la y F. Rodríguez-Romero. 1989. Enfoque genético para el análisis de poblaciones de recursos pesqueros; el caso de la población ostrícola de la Laguna de Términos, Campeche. En: Rosa-Vélez, J. de la y Rodríguez-Romero, F. (eds). Temas de Oceanografía Biológica en México. Univ. Aut. Baja. Calif. 255-284.
- Rosa-Vélez, J. de la, M. T. Gutiérrez-Wing y R. Padilla-Camacho. 1991. El ostricultivo de Bahía de San Quintín, B.C., México: Aspectos Genéticos. Ciencias Marinas. 17(3): 133-145.
- Rosas-Cota, J. A. 1976. Corrientes geostróficas en el Golfo de California en la superficie y a 200 metros. Tesis Lic. ESCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 58 pp.
- Salas-Garza, A y L. García-Pamanes, 1987. Estudios básicos y experiencias en el Cultivo de Mejillón por el I.I.O. en Baja California. En: Encuentro Regional Sobre Producción de Mejillón. (Cultivo, Industrialización, Comercialización y Consumo). Ensenada, B.C. 69-114.
- Schaal, B. A. y W. W. Anderson. 1974. An outline of techniques for starch gel electrophoresis of enzyme from the American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Tech. Rep. Ser. Georgia Mar. Sci. Cent. 74(3): 18 pp.
- Seed, R. 1976. Ecology. En: B. L. Bayne (Ed.). Marine Mussels. International Biological Programme 10. Cambridge University Press, London. 13-60.
- Selander, R. K. 1980. Variación genética en poblaciones naturales. En: Evolución Molecular. Ayala, F.J. (ed). Omega, Barcelona, España. 21-46.
- Shaw, C. R. y R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. Biochem. Genet. 4: 297-320.
- Sin, F. Y., J. Khoo y G. R. Parker. 1990. Enzyme variation between littoral and sublittoral populations of the green-lipped mussel *Perna canaliculus*. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 95B(2): 419-422.
- Singh, S. M. 1982. Enzyme heterozygosity associated with growth at different developmental stages in oysters. Can. J. Genet. Cytol. 24: 421-458.
- Singh, S. M. y E. Zouros. 1978. Genetic variation associated with growth rate in the American oyster, *Crassostrea virginica*. Evolution. 32: 342-353.

- Singh, S. M. y R. H. Green. 1984. Excess of allozyme homozygosity in marine molluscs and its possible biological significance. *Malacologia*. 25: 569-581.
- Skibinski, D. O. F. 1983. Natural selection in hybrid mussel populations. En: G. S. Oxford and D. Rollinson (Eds.). *Protein Polymorphism: Adaptive and Taxonomic Significance*. Systematics Association Special Volume No. 24. Academic Press, London. 238-297.
- Skibinski, D. O. F. y J. A. Beardmore. 1979. A genetic study of intergradation between *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*. *Experientia*. 35: 1442-1444.
- Skibinski, D. O. F., M. Ahmad y J. A. Beardmore. 1978. Genetic evidence for naturally occurring hybrids between *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*. *Evolution*. 32: 354-364.
- Skibinski, D. O. F., T. F. Cross y M. Ahmad. 1980. Electrophoretic investigation of systematic relationships in the marine mussel *Modiolus modiolus*, *Mytilus edulis* L., and *Mytilus galloprovincialis* (Mytilidae; Mollusca). *Biol. J. Linn. Soc.* 13: 65-73.
- Skibinski, D. O. F., J. A. Beardmore y T. F. Cross. 1983. Aspects of the populations genetics of *Mytilus* (Mytilidae; Mollusca) in the British Isles. *Biol. J. Linn. Soc.* 19: 137-183.
- Smithies, O. 1955. Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. *Bioch. J.* 61: 629-641.
- Spencer, N., D. A. Hopkinson y H. Harris. 1964. Phosphoglucomutase polymorphism in man. *Nature*. 204: 742-745.
- Stevenson, M. R. 1970. On the physical and biological oceanography near the entrance of the Gulf of California, October 1966 - August 1967. *Inter.-Amer. Trop. Tuna Comm. Bull.* 14(3):389-504.
- Suárez-Vásquez, A. 1989. Genética bioquímica en caracoles de la especie *Astraea undosa* de la Bahía de Todos Santos, B. C. Tesis de Lic. FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 66 pp.
- Swofford, D. L. 1989. BIOSYS-I, A computer program for the analysis of allelic variation in the population genetics and biochemical systematics. Univ. of Illinois. 43 pp.

- Tracey, M. L., N. F. Ballet y C.D. Gravem. 1975. Excess allozyme homozygosity and breeding population structure in the mussel *Mytilus californianus*. Mar. Biol. 32: 303-311.
- Theisen, B. F. 1978. Allozyme clines and evidence of strong selection in three loci on *Mytilus edulis* L. (Bivalvia) from Danish waters. Ophelia. 17: 135-142.
- Torres-Orosco, E. 1993 Análisis volumétrico de las masas de agua del Golfo de California. Tesis M. C. CICESE, Ensenada, B.C., México. 80 pp.
- Urbina-Sánchez, G. A. 1990. Estudio electroforético de la población comercial del caracol (*Astraea undosa*) del Rosario, B. C., México. Tesis de Lic. FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 43pp.
- Utter, F. M., H. O. Hodgins y F. W. Allendorf. 1974. Biochemical genetics studies of fishes: potentials and limitations. p. 213-238. En: D. C. Maling y J. R. Sargent (eds.). Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology. Vol. I. Academic Press. London. 343 pp.
- Ward, R. D. 1989. Molecular population genetic of marine organisms. En: J. S Ryland y P. A. Tyler (Eds.). Reproduction, Genetics and Distribution of Marine Organisms. London. 235-249.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. Evolution. 19: 395-420.
- Wyrki, K. 1965. Surface currents of the eastern tropical Pacific Ocean. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm. Bull. 9(5): 269-304.
- Wyrki, K. 1967. Circulation and water masses in the eastern equatorial Pacific Ocean. Int. J. Oceanol. Limnol. 7(2): 117-147.
- Yamanaka, R. y Y. Fujio. 1984. Heterogeneity within and between geographical populations of the bay mussel *Mytilus edulis*. Tohoku Journal of Agricultural Research. 34: 73-84.
- Zouros, E. 1987. On the relation between heterozygosity and heterosis: an evaluation of the evidence from marine mollusks. In M.C. Rattazzi, J.G. Scandalios y G.S. Whitt (Eds.), Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research, 15: 255-279. New York. Alan R. Liss.

- Zouros, E. 1990. Heterozygosity and growth in marine bivalves: response to Koehn's remarks. *Evolution*. 44:216-218.
- Zouros, E. y Foltz, D.W. 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. *Malacologia*, 25: 583-591.
- Zouros, E. y Foltz, D.W. 1987. The use of allelic isozyme variation for the estudy of heterosis. En: M.C. Rattazzi, J.G. Scandalios y G.S. Whitt (Eds.). *Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research*. Alan R. Liss. New York., 13: 1-59.
- Zouros, E., S. M. Singh y H. E. Miles. 1980. Growth rate in oyster an overdominant phenotype and its possible explanation. *Evolution*. 34: 856-867.

