I.- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

La ostricultura en México, se realiza en lagunas litorales y esteros; las especies que más se cultivan son *Crassostrea gigas* en el Pacífico y *Crassostrea virginica* en el Golfo de México. A nivel nacional en el 2004 se tuvo una producción anual de ostión de 46,601 toneladas por acuacultura (CONAPESCA, 2004).

El ostión de placer, *Crassostrea corteziensis* ha sido reportado desde Baja California, México hasta Paita, Perú. Se han hecho esfuerzos por cultivar esta especie en las costas de algunos estados como Sonora, Sinaloa, Nayarit y Colima. Dichos esfuerzos datan desde 1965 en el área de Guaymas, Sonora (Baqueiro, 1991) y representan una alternativa para la producción de la industria ostrícola (Chávez-Villalba *et al.*, 2005). Por otra parte, el ostión del Pacífico *C. gigas*, es la especie más cultivada a nivel mundial con 4.2 millones de toneladas en el 2002. Tiene su origen en el noreste de Asia y ha sido introducido en Europa, América y Nueva Zelanda.

El cultivo del ostión del Pacífico se originó en Japón desde hace 300 años, por lo que se ha considerado una de las especies de mayor cultivo en ese país. *C. gigas* es un molusco bivalvo muy apreciado por sus dimensiones ya que logra alcanzar dimensiones máximas de 35 cm de longitud, 8 cm de altura, 10 cm de ancho y se considera de tamaño comercial cuando adquiere más de 8 cm (Tanaka, 1975). En México se estableció su cultivo con éxito en 1973 en la Bahía de San Quintín, B.C. con semilla proveniente del estado de Washington, EUA. *C. gigas* es considerada como una especie altamente adecuada para ser cultivada, ya que presenta un crecimiento rápido y resiste un amplio intervalo de temperatura y salinidad (De la Rosa-Vélez *et al.*, 1991). Ozaki y Fujio (1985) atribuyen el éxito de la implantación de poblaciones de *C. gigas* en diversos ambientes a una capacidad ecológica superior, otorgada muy probablemente por los altos niveles de variabilidad genética que presenta esta especie.

Álvarez-Jurado (1987) y Benzie y Williams (1996) mencionan que la producción masiva de organismos de interés acuícola implica el conocimiento y seguimiento de la estructura genética de las poblaciones y que uno de los parámetros básicos de la estructura es la variabilidad, medida principalmente por el nivel de heterocigosis de la población y que por lo general es uno de los primeros rasgos que se erosionan debido a la selección artificial en el proceso de mejoramiento del cultivo. El conocimiento de la estructura y la

dinámica genéticas es la única forma de pretender el mejoramiento de la especie (De la Rosa-Vélez *et al.*, 1991).

Las poblaciones son dinámicas, pueden crecer y expansionarse o disminuir y contraerse mediante cambios en las tasas de nacimientos o fallecimientos, o por migración o por fusión con otras poblaciones. Esto tiene consecuencias importantes y, con el tiempo, puede dar lugar a cambios en la estructura genética de poblaciones. Las frecuencias alélicas y las fuerzas que alteran estas frecuencias, como la mutación, la migración, la selección y la deriva genética al azar, se han examinado cuidadosamente (Klug y Cummings 1999). Estas fuerzas evolutivas influyen la composición del reservorio de la especie modificándola y permitiéndole adaptarse a las fluctuaciones ambientales a largo plazo (De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989).

La variabilidad genética puede estimarse mediante: a) análisis de alozimas; b) del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) del ADNmt; c) el ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD); d) el polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP) y e) los microsatélites. Sin embargo, debido a la cantidad de información generada en los últimos 40 años, la técnica de electroforesis o análisis de alozimas ofrece una amplia base de datos para realizar estudios comparativos en prácticamente todos los grupos de especies. Esta técnica se basa en la separación electroforética de proteínas junto con la especificidad de la detección bioquímica de los productos proteicos de los loci, ofrece un método relativamente barato, rápido y analiza la variación individual de loci en poblaciones de cualquier forma de vida desde bacterias hasta el hombre (May, 1992). Así pues, las metodologías adaptadas para la medición de variabilidad genética, tienen un uso potencial que puede ser aprovechado para los programas de regeneración y cultivo de los bancos ostrícolas (Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989).

Las proteínas naturales están conformadas por 20 aminoácidos comunes, cinco de éstos están cargados eléctricamente, así las proteínas tienden a tener diferentes cargas eléctricas netas dependiendo del balance de éstas en los aminoácidos que las componen. A su vez la carga neta de las proteínas esta influida por el pH del medio (De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989). La electroforesis usa esta propiedad físico-química de las proteínas para separarlas con base a su carga (Utter *et al.*, 1988), y en la aplicación de un

campo eléctrico a través de un soporte inerte donde se encuentran embebidas las moléculas que migrarán hacia alguno de los polos en función de su carga neta (De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989). Las alozimas son formas moleculares de una enzima codificadas por diferentes alelos en un locus específico de un gen (Baker, 2000) y funcionan como marcadores en la cuantificación de heterocigosis, diversidad genética, diferenciación genética y otras medidas para cuantificar variaciones genéticas intra e interpoblacionales (Müller, 2001).

La pérdida de diversidad genética, la reducción del tamaño de población y los efectos deletéreos de la endogamia son aspectos preocupantes en los programas de selección (Appleyard y Ward, 2006). Cualquier programa de reproducción cerrado, necesariamente reduce el nivel de diversidad genética comparado con una población silvestre (Hedgecock y Sly, 1990). La mejora genética implica el aumento en frecuencia de algún carácter particular existente en la población, de interés para el valor comercial del producto, o en ocasiones, la inducción de variantes específicas no presentes en la población natural, por medio de hibridación (De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1988).

Por otro lado, la manipulación del número de conjuntos cromosómicos ha permitido la obtención de diversos productos de interés en la acuacultura (Martínez, 2005). Los organismos triploides tienen varias ventajas potenciales sobre los diploides: son estériles, tienen un mayor crecimiento, una mayor resistencia a enfermedades y una mayor heterocigosis (Ward *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2002).

Una población que presenta disminuida sensiblemente su variabilidad genética, en relación a las demás que componen la especie, puede considerarse con una capacidad reducida para la respuesta a los cambios ambientales (De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989). Cuando una población se lleva al cultivo es de esperarse una reducción de los niveles de variación, por un "efecto del fundador" artificial. El tamaño de la población se reduce y aparecen los fenómenos genéticos aleatorios como la deriva genética (De la Rosa-Vélez *et al.*, 1991).

Los estudios de variabilidad genética han demostrado ser muy importantes en la resolución de problemas de interés inmediato en el desarrollo de pesquerías y cultivos acuícolas (De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1988). La investigación de los niveles de variabilidad genética de poblaciones en explotación da una evaluación del estado de

"salud genética poblacional", lo cual permite emitir un juicio más exacto respecto al vigor de la especie y la explotabilidad de la población estudiada (De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989). El reconocimiento y el seguimiento del recurso genético son actividades que pueden evitar, en un momento dado, que una inversión prometedora se convierta en un fracaso económico (De la Rosa-Vélez *et al.*, 1991). La caracterización de la estructura genética de especies en cultivo, se ha realizado con el fin de compararla con las poblaciones naturales y así identificar las modificaciones genéticas sufridas en la población mediante la siembra en granja (De la Rosa-Vélez *et al.*, 1991).

Por ejemplo, en la población cultivada de camarón de granja, Ramos-Paredes y Grijalva-Chon (2003), llevaron a cabo un análisis en *Pennaeus stylirostris* con el fin de describir la variabilidad genética de linajes cultivados y silvestres para determinar la diferencia con poblaciones silvestres, y de donde resultó que los linajes cultivados presentaron menor diversidad genética, ocasionada principalmente por la pérdida de alelos. Esta pérdida de alelos, incluso puede deberse a la explotación pesquera y puede llevar a modificar la estructura genética poblacional, debido a un mal manejo. Varela-Romero y Grijalva-Chon (2004) encontraron evidencias contundentes del deterioro de la variabilidad genética del pez chano, *Micropogonias megalops*, debido a la desmedida captura comercial. Por lo tanto el equilibrio genético de las poblaciones silvestres como cultivadas, depende en mayor medida de la intervención del ser humano.

La variación genética es comúnmente medida en términos de polimorfismo (P) y heterocigosis (H). P es simplemente la proporción de loci polimórficos y H es la proporción de individuos heterocigotos (Hoelzel y Bancroft, 1992). Un locus es el lugar del cromosoma en donde se sitúa un gen dado, y es considerado polimórfico cuando la frecuencia del alelo más común es menor o igual a 0.95 ó 0.99 (Baker, 2000). Los alelos son formas alternativas de un mismo gen, presentan ligeras diferencias que determinan el mismo carácter. Tomando en cuenta lo anterior, un método utilizado para estudiar la estructura genética de las poblaciones es medir la frecuencia de un alelo dado (Klug y Cummings, 1999).

En organismos cultivados, uno de los puntos de gran interés para los acuacultores es la endogamia asociada a las especies, ésta se produce cuando hay una alta frecuencia de apareamientos entre organismos emparentados, y ocurre principalmente en poblaciones pequeñas, ya que es más probable que los individuos que se aparean estén relacionados entre sí. El resultado es un aumento en la frecuencia de homocigotos y por lo tanto una disminución en la frecuencia de heterocigotos acompañado por una pérdida de vigor general y fertilidad conocida como depresión endogámica (Correa *et al.*, 2004; Gall, 1988), la cual es una medida de la pérdida de la eficacia biológica ocasionada por el parentesco (Klug y Cummings, 1999). Los efectos deletéreos de la endogamia se pueden eliminar por medio de la introducción de alelos nuevos efectuando cruzas con organismos selectos de otras poblaciones en donde se han detectado diferencias genéticas (De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1988).

Los ostiones son animales altamente fecundos y los productores algunas veces usan solamente unos pocos animales por generación como reproductores (Appleyard y Ward, 2006). Una reducción en la heterocigosis promedio es un indicador del efecto fundador, donde las poblaciones son establecidas con un número pequeño de reproductores fundadores. Los cuellos de botella de poblaciones pequeñas también pueden reducir dramáticamente la heterocigosis (Baker, 2000).

Pocos han sido los trabajos que describen la estructura genética del recurso ostión en México. De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero (1988) analizaron la aplicabilidad de las mediciones de variabilidad genética a la pesquería del ostión americano *Crassostrea virginica* de las costas del Golfo de México y propusieron el diseño de programas de hibridación para la regeneración del reservorio genético de las poblaciones estudiadas. También, De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero (1989) hicieron un análisis de poblaciones ostrícolas de *C. virginica* como recurso pesquero en la Laguna de Términos, Campeche, donde vieron una reducción de la variabilidad genética y donde proponen la conservación de tamaños de población adecuados.

En otro estudio realizado por De la Rosa-Vélez *et al.* (1991) se evaluó el estado del recurso genético del cultivo de ostión japonés *C. gigas* de la Bahía de San Quintín, B.C., México y se pudo apreciar que esta población conservaba una alta variabilidad genética. Correa *et al.* (2004) llevaron a cabo un estudio de variabilidad alozímica en *C. gigas* cultivado en Bahía San Quintín, B.C. y encontraron que el ostión cultivado mostró una diversidad genética reducida debido a una deficiencia de heterocigosis, la cual es explicada por el fenómeno de la endogamia y el efecto del cuello de botella. Por otra parte, Cruz *et al.*

(2007) caracterizaron marcadores microsatelitales para *C. corteziensis*, lo que dará nuevas herramientas para estudios genético-poblacionales para esta especie.

Actualmente la ostricultura en las costas de Sonora enfrenta una de las mayores crisis de producción debida a las altas mortalidades de sus cultivos. Desde 1997, *C. gigas* cultivado en Sonora ha venido experimentando pérdidas por mortalidad masiva en todos los sitios de cultivo, la cual alcanza niveles extremos hasta del 90%. Las causas de dichas mortalidades han sido atribuidas a una mezcla de factores bióticos y abióticos (GIIMB, 2008). Por otra parte *C. corteziensis* es una especie nativa que apenas comienzan a realizarse pruebas para su cultivo y se pretende evaluar la salud genética y compararse con *C. gigas*.

Tanaka (1975) cita que las mortalidades masivas pueden estar asociadas a los cambios estacionales de temperatura, a condiciones fisiológicas en la reproducción, altas concentraciones de materia orgánica y azufre, por infecciones bacterianas (*Vibrio* spp), protozoarios (*Haplosporidium nelsoni* y *Perkinsus marinus*), así como otros microorganismos tales como las *Ricketsias* y virus (herpesvirus). Sin embargo poco se sabe si existe algún efecto de la condición genética sobre la mortalidad en los ostiones cultivados en Sonora.

Debido a lo anterior y a la carencia de información sobre la estructura genética poblacional del ostión cultivado en Sonora, el presente trabajo pretende evaluar la calidad genética de dichos organismos. La hipótesis de trabajo es que los ostiones cultivados en el estado de Sonora presentan bajos niveles de variabilidad genética y para cumplir esta investigación se presentaron los siguientes objetivos a continuación.