



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

“ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA GENÉTICO
POBLACIONAL DE ABULON AZUL *Haliotis fulgens*
EN BAJA CALIFORNIA, MÉXICO”.

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuicultura)

Presenta

José Luis Gutiérrez González

La Paz, Baja California Sur, Febrero de 2006

CONFORMACION DE COMITÉS

La presente tesis fue dirigida por:

Dr. Ricardo Pérez Enríquez Genética Acuícola. CIBNOR.

El comité tutorial estuvo integrado por:

Dr. Ricardo Pérez Enríquez Genética Acuícola. CIBNOR.

Dra. Ana María Ibarra Humphries Genética Acuícola. CIBNOR.

Dr. Miguel Ángel Del Río Portilla Genética Acuícola. CICESE.

Dr. Sergio Guzmán del Próo Facultad de Ciencias. IPN.

Dr. Nick Elliott CSIRO.

El comité revisor de tesis estuvo integrado por:

Dr. Ricardo Pérez Enríquez Genética Acuícola. CIBNOR.

Dra. Ana María Ibarra Humphries Genética Acuícola. CIBNOR.

Dr. Miguel Ángel Del Río Portilla Genética Acuícola. CICESE.

Dr. Sergio Guzmán del Próo Facultad de Ciencias. IPN.

Dr. Nick Elliott CSIRO.

El Jurado de examen de grado estuvo integrado por:

Dr. Ricardo Pérez Enríquez Genética Acuícola. CIBNOR.

Dra. Ana María Ibarra Humphries Genética Acuícola. CIBNOR.

Dr. Miguel Ángel Del Río Portilla Genética Acuícola. CICESE.

Dr. Sergio Guzmán del Próo Facultad de Ciencias. IPN.

Dr. Nick Elliott CSIRO.

Suplentes

Dr. Pedro Cruz Hernández Genética Acuícola. CIBNOR.

Dra. Guadalupe Fabiola Arcos Ortega Genética Acuícola. CIBNOR.

RESUMEN

El abulón es un recurso pesquero con una importancia económica de la cual dependen varias comunidades a lo largo de la península de Baja California, México. El abulón azul *Haliotis fulgens* es la especie de mayor abundancia. En años recientes la población silvestre de este recurso ha disminuido debido a factores naturales y antropogénicos, y esto ha considerado a su pesquería como colapsada. Para diseñar apropiados planes de manejo es necesario entender mejor el estado actual de la diversidad y estructura genética de la población silvestre. Entre las medidas del plan de manejo de abulón, basados en talla mínima, época de veda y cuotas de captura, se incluyen los programas de repoblación, liberando larva competente producida en los laboratorios en la parte central de Baja California. En este estudio se analizó la diversidad genética de organismos que provienen de la captura comercial, así como de un programa de repoblación, para determinar la estructura genética de la población silvestre, el comportamiento del flujo genético y la influencia de los programas de repoblación en dicha estructura derivada de la posible pérdida de variabilidad genética.

Los sitios de muestreo fueron: Isla Magdalena, San Juanico, Punta Abreojos, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Punta Eugenia, Isla de Cedros, e Isla Guadalupe. Se utilizó un método para monitorear los abulones que son liberados en el medio silvestre basado en dos loci de microsatélites. Para la extracción del ADN se utilizó tejido muscular de 50 individuos de cada una de las localidades, la amplificación de los 4 loci de microsatélites fue por PCR (Hka28, Hka56, Hfu260, y Hful603). La diversidad genética del abulón cultivado fue alta (H_o prom = 0.865, número de alelos por sitio = 14) y comparable al lote de reproductores. El número de progenitores que contribuyó genéticamente a la descendencia fue mayor de 80% del total, indicando que esas prácticas de manejo parecen ser adecuadas evitando la reducción significativa en la diversidad genética. La presencia de larvas liberadas en el medio silvestre, se evaluó por muestreo re-captura a los 6, 12, y 18 meses después de la liberación, esta recaptura fue baja, indicando que la estrategia de repoblación debería ser modificada liberando juveniles de mayor edad que pudieran tener mayor sobrevivencia. La baja probabilidad de Identidad ($I = 1.7 \times 10^{-4}$) estimada, combinando los dos loci de microsatélites, indican su potencial para la identificación de individuos en el medio silvestre en los programas de repoblación. En el análisis de la diversidad genética de las nueve localidades, se muestra que el número de alelos observado en todas las muestras con Hka28 y Hka56 están en un rango (23-35 y 15-19, respectivamente), que fue superior a lo observado en Hfu260, y Hful603 (3 y 6 alelos, respectivamente). La heterocigosidad se observó relativamente alta en todas las localidades con el más bajo valor estimado de 0.687 en la Isla Guadalupe. La desviación del Equilibrio Hardy-Weinberg es debido al déficit de heterocigotos, éste se observó en dos sitios en dos loci, indicando que el desequilibrio se debe al azar. Un AMOVA mostró una F_{ST} significativo (el $P < 0.00196$) indicando la diferenciación genética entre las localidades. El análisis pareado usando F_{ST} y frecuencias alélicas mostró que la diferencia significativa fue debido a que la Isla Guadalupe se localizó

distante de la Península, indicando flujo genético restringido entre esta y los otros ocho sitios. No obstante, no se observaron las diferencias significativas entre los sitios a lo largo de la Península. Con estos resultados se concluye que la diversidad genética de todas las localidades estudiadas fue alta, lo que podría ser que la población a pesar de estar considerada como una pesquería colapsada, no manifestó haber pasado por un cuello de botella, por lo que genéticamente el número efectivo de ésta es alto y podríamos sugerir que la población de abulón azul puede llegar a recuperar su población pescable, bajo el estricto manejo pesquero que se viene llevando a cabo, aunado al monitoreo de la diversidad genética.

Dr. Ricardo Pérez Enríquez
Director de tesis

Palabras Clave: *Haliotis fulgens*, diversidad genética, microsatélites, repoblación.

ABSTRACT

Abalone is an economically important fishery resource for several communities along Baja California Peninsula, Mexico. The abundance of the commercial species, among which green abalone *Haliotis fulgens* is the most important, has critically decreased in recent years due to natural and anthropogenic factors, and thus it is considered as a collapsed fishery. The design of appropriate management plans needs a better understanding of the present status of the genetic diversity of the wild population, as well as its genetic structure. Stock enhancement programs for *Haliotis fulgens* have been carried out for several years in Central Baja California to improve depleted populations, usually by the release of competent 5-day old larvae that are raised in hatcheries. In this study, the genetic diversity of nine fishery locations, and of a stock enhancement program, were analyzed to determine the genetic structure of the wild population, the extent of the gene flow, and the possible influence of the stock enhancement practices derived from a possible loss of genetic variability.

Samples from 9 locations along the Baja California Peninsula were obtained, covering the areas in which the commercial fishery is active. The sampling sites were: Isla Magdalena, San Juanico, Punta Abreojos, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Punta Eugenia, Isla de Cedros, and Isla Guadalupe and the individuals used in two hatcheries. Therefore, a method to monitor release abalone in the wild based on microsatellite loci was devised extracted from muscle tissue of 50 individuals from each location, and was used for PCR amplification of 4 microsatellites loci (Hka28, Hka56, Hfu260, and Hful603).

The genetic diversity of the hatchery-reared abalone was high (mean $H_o = 0.865$, number of alleles per locus = 14) and comparable to that of the broodstock. The number of spawners that contributed genetically to the progeny was more than 80% of the total, indicating that management practices appear adequate to avoid significant reduction in genetic diversity. The low presence of released larvae in the wild, assessed by re-capture samplings 6, 12, and 18 months after release, these indicate that the stock enhancement strategy should be modified to release older juveniles that will have better survival. Low probability of identity ($I = 1.7 \times 10^{-4}$), estimated with the combination of the two microsatellites loci, indicates their potential for identification of individuals in the wild in stock enhancement programs. In the genetic diversity analysis of wild population, the number of alleles observed in all samples with Hka28 and Hka56 (23-35 and 15-19, respectively) was higher than that observed in Hfu260, and Hful603 (3 and 6 alleles, respectively). A relatively high heterozygosity was observed in all locations with the lowest value of 0.687 in Isla Guadalupe. A deviation from Hardy-Weinberg Equilibrium due to a heterozygote deficit was only observed in two locations at two loci, indicating that this disequilibrium is random. An AMOVA showed a significant F_{ST} ($P < 0.00196$) indicating genetic differentiation among locations. Pairwise analyses using F_{ST} and allele frequencies showed that the significant difference was due to Isla Guadalupe, an island located distant from the Peninsula, indicating a restricted gene flow between this and the other locations. Nevertheless, no significant

differences were observed among sites along the Peninsula. With these results we concludes that the genetic diversity of all the studied localities was high, could be that this population in spite of being considered as a collapsed fishery, this didn't manifest to have gone by a bottleneck, which genetically the number effective size of the population it is high, and we could suggest that the population of blue abalone can end up recovering its fishery population, under the management strict that one comes carry out, joined to the monitoring of the genetic diversity.

Key words: Genetic diversity, stock enhancement, genetic markers, abalone, microsatellites loci,

DEDICATORIA

A LA MEMORIA DE UN GRAN AMIGO PIONERO EN LAS EVALUACIONES DE ABULÓN “**BETO LEÓN**” QUE ME COMPARTIÓ SUS EXPERIENCIAS SOBRE ESTE RECURSO Y SU GRAN AMISTAD. Q. E. D. *Donde quiera que estés.*

A mi esposa, compañera y amiga Pily, por su apoyo y paciencia durante este proceso. Que comparte todos los momentos conmigo.

A mis hijos, Nalleli y Luis Alfredo. Razón de mi existencia.

A mis padres Martha y Juan, aun en la distancia siempre están conmigo.

A mis hermanos, Jesu, Miguel Ángel, Juan Carlos y Alicia. Por compartir conmigo sus momentos de alegría.

A mi viejo y gran amigo “Don Carlos” tío abuelo, mi padre. Por compartir sus consejos y sabiduría.

A los que forman parte de mi familia “González Martínez y León Carballo”.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo de la beca-crédito Num. 114893.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. (CIBNOR), por haberme brindado la oportunidad de realizar mis estudios de doctorado.

Al Dr. Guillermo Compean Jiménez, Director en Jefe del Instituto Nacional de la Pesca, por brindarme el apoyo de beca mixta en tiempo, para realizar los estudios de doctorado.

Al Dr. Ricardo Pérez Enríquez, por aceptarme como su estudiante.

A mis tutores de tesis: Dr. Ricardo Pérez Enríquez, Dra. Ana María Ibarra Humphries, Dr. Sergio Guzmán del Prío, Dr. Miguel Ángel del Río Portilla y Nick Elliott, por su disponibilidad y aportaciones al documento de tesis.

A los Directores del CRIP-La Paz, Lic. Hilario Pérez Figueroa, Dra. Margarita Casas Valdés, Dr. Luís Gerardo López Lemus, M. en C. Martha Claudia de La Garza Montaña, por brindarme su apoyo en mi superación académica.

A la Dra. Kity y M en C. Laura Palau, por permitirme utilizar el equipo del laboratorio, el termociclador.

Al Dr. Pedro Cruz Hernández, por compartir sus experiencias del laboratorio de genética Acuícola.

A la Ing. Susana Ávila, por su paciencia durante el desarrollo de mis prácticas del laboratorio y compartir su amistad.

Al Dr. Rubén Valles Jiménez, por sus comentarios, apoyo y su amistad.

A la Dra, Fabiola Arcos, por sus observaciones y comentarios a este trabajo de tesis, por su amistad.

Al personal que labora en la dirección de posgrado, por apoyarme durante todos los trámites escolares: Lic. Osvelia, Bety, Claudia, Lupita. Y en especial a la Dra. Thelma Castellanos y Lic. Leticia González-Rubio, por su apoyo en mi estancia en Ensenada y en mi viaje a Chile.

A Horacio y Manuel por la ayuda que me brindaron en el uso y manejo del centro de cómputo de posgrado.

Al M en C. Francisco García, por su compañerismo y apoyo.

A mis compañeros del laboratorio de genética: Susana, Gaby, Clarissa, Pancho, José Luis, Karina, Ángel, Vanesa, Juan Macliz, Rosalio, Ruben, Carlos Ivan.

A la M en C. Carmen Fajardo León, por brindarme su apoyo y palabras de ánimo, por su amistad.

A mis compañeros del proyecto abulón, Biol. Margarita Muciño, Biol. José R. Turrubiates, M en C. Pedro Sierra, por compartirme sus conocimientos sobre el recurso abulón y darme su apoyo para la conclusión de este trabajo.

A las Cooperativas de Producción Pesquera: "Bahía Magdalena", "Puerto Chale", "Punta Abreojos", "California de San Ignacio", "Leyes de Reforma", "Bahía Tortugas", "La Purísima", "Buzos y Pescadores de Baja California" y "Pescadores Nacionales de Abulón", S. C. L.

ÍNDICE GENERAL

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS.....	i
CONFORMACIÓN DE COMITÉ.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	v
DEDICATORIA.....	vii
AGRADECIMIENTOS.....	vii
ÍNDICE GENERAL.....	x
PREFACIO.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE TABLAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	
<i>Pesquería del abulón en el mundo y en México.....</i>	1
<i>Manejo de la Pesquería en B. C. México.....</i>	3
<i>Manejo pesquero, programa de repoblación y Variabilidad genética.....</i>	5
Justificación.....	9
Hipótesis General.....	10
Objetivo general.....	10
Objetivos Particulares.....	11
CAPÍTULO 1	
EVALUACIÓN GENÉTICA DE LA REPOBLACIÓN DE ABULÓN AZUL <i>Haliotis fulgens</i> EN BAJA CALIFORNIA, MÉXICO.....	12
INTRODUCCIÓN.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
<i>Monitoreo de Juveniles de abulón liberados.....</i>	18
<i>Análisis de muestras.....</i>	18
<i>Extracción de ADN.....</i>	18
<i>Amplificación de Microsatélites.....</i>	19
<i>Análisis de datos.....</i>	20

RESULTADOS	23
<i>Diversidad genética crías y progenitores</i>	23
<i>Frecuencias alélicas</i>	23
<i>Análisis de Parentesco</i>	27
<i>Numero efectivo de reproductores</i>	28
<i>Monitoreo de juveniles liberados</i>	29
DISCUSIÓN	31
CAPÍTULO 2	
ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA POBLACIONAL DE ABULÓN AZUL <i>Haliotis fulgens</i> EN BAJA CALIFORNIA, MÉXICO	38
INTRODUCCIÓN	39
MATERIALES Y MÉTODOS	42
<i>Obtención de las muestras</i>	42
<i>Amplificación de microsatélites</i>	42
<i>Análisis de Datos</i>	44
RESULTADOS	46
<i>Frecuencias alélicas</i>	46
<i>Diversidad genética</i>	47
<i>Estructura genética de la población</i>	53
DISCUSIÓN	55
DISCUSIÓN GENERAL	61
<i>Diversidad genética de <i>Haliotis fulgens</i></i>	61
<i>Diferenciación Intraespecífica</i>	64
CONCLUSIONES	66
LITERATURA CITADA	67
APÉNDICE I	80
ANEXOS	81

PREFACIO

La presente tesis esta basada en los siguientes artículos.

1. Gutierrez-Gonzalez, J. L. and Perez-Enriquez, R. 2005. A genetic evaluation of stock enhancement of blue abalone *Haliotis fulgens* in Baja California, Mexico. *Aquaculture*. 247: 233-242.
2. José Luis Gutiérrez González, Pedro Cruz, Miguel Ángel del Río-Portilla, Ricardo Perez-Enriquez. 2006. Genetic structure of green abalone *Haliotis fulgens* population off Baja California, Mexico. (Sometido).

La información que se generó fue presentada en los foros internacionales.

Gutierrez-Gonzalez, J. L. and Perez-Enriquez, R. 2005. A genetic evaluation of stock enhancement of blue abalone *Haliotis fulgens* in Baja California, Mexico. *Internacional Symposium Genetics in Aquaculture (ISGA) GENETICS IN AQUACULTURE VIII*. 9-15 November, 2003.

José Luis Gutiérrez González, Pedro Cruz, Miguel Ángel del Río-Portilla, Ricardo Perez-Enriquez. 2006. Genetic structure of green abalone *Haliotis fulgens* population off Baja California, Mexico. *VI International Abalone Simposium*. Puerto Varas, Chile. Febrero-2006.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Datos históricos de la pesquería de abulón en Baja California Sur.....	3
Figura 2	Zonas geográficas reglamentadas para la captura de abulón y ubicación de algunas cooperativas pesqueras en la Península de Baja California, México.....	4
Figura 3	Ubicación de los laboratorios de producción de abulón a en Bahía Tortugas y Punta Eugenia y sitios de repoblación en Clam Bay, Los Morros y Punta Eugenia	15
Figura 4	Frecuencias alélicas de los reproductores (Barras blancas), y progenie (Barras oscuras) del desove de noviembre (a y b) y diciembre (c y d) del 2000 de Bahía Tortugas en los loci <i>Hka28</i> y <i>Hka56</i>	26
Figura 5	Parejas formadas y (número de crías por pareja) de <i>Haliotis fulgens</i> en el desove de noviembre/ 2000 en Bahía Tortugas.....	28
Figura 6	Localización de los sitios de muestreo de abulón azul <i>Haliotis fulgens</i> , dentro de las 4 zonas de pesca en la Península de Baja California	43
Figura 7a	Frecuencias alélicas del locus: <i>Hka28</i> , de nueve poblaciones de <i>Haliotis fulgens</i> de la costa occidental de la Península de B. C.....	49
Figura 7b	Frecuencias alélicas del locus: <i>Hka56</i> , de nueve poblaciones de <i>Haliotis fulgens</i> de la costa occidental de la Península de B. C.....	50
Figura 7c	Frecuencias alélicas de los loci: <i>Hfu260</i> y <i>Hful603</i> de nueve poblaciones de <i>Haliotis fulgens</i> de la costa occidental de la Península de B. C.....	51
Figura 8	Aislamiento por distancia: regresión entre valores pareados de F_{ST} y el logaritmo de la distancia geográfica de <i>Haliotis fulgens</i> en Baja California Sur.....	54

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Valores de diversidad genética de los lotes utilizados en los programas de repoblación por locus y su promedio de H_o : heterocigosidad observada; H_e : heterocigosidad esperada; n_A : Número de alelos.....	24
Tabla 2	Contenido de la información polimórfica (PIC) por locus y probabilidad de exclusión (EXL, 1, 2), PE: p de exclusión combinada de <i>Haliotis fulgens</i> en Bahía Tortugas.....	26
Tabla 3	Probabilidad de Identidad de <i>Haliotis fulgens</i> en Bahía Tortugas Identidad (I) Num. De alelos por locus (A).....	30
Tabla 4	Diversidad genética para cuatro loci de microsatélites en nueve sitios de <i>Haliotis fulgens</i> incluyendo el número de alelos en cada muestra; n , tamaño de muestra; H_o heterocigosidad observada; H_e , heterocigosidad esperada; *significancia del desequilibrio de Hardy-Weinberg $P < 0.05$ después de la corrección de ajuste de Bonferroni para 36 pruebas pareadas.....	52
Tabla 5	Análisis de Varianza Molecular. Diferencia poblacional de <i>Haliotis fulgens</i> con cuatro loci en nueve poblaciones de B.C.S.....	53
Tabla 6	Análisis pareado Diferenciación poblacional. Después del ajuste de Bonferroni * Valor significativo $P < 0.00138$. IM, Isla Magdalena; SJ, San Juanico; PA, Punta Abreojos; BA, Bahía Asunción; BT, Bahía Tortugas; CO, Corralito; PE, Punta Eugenia; IC, Isla de Cedros; IG, Isla Guadalupe.....	54

INTRODUCCIÓN

Pesquería del abulón en el mundo y en México

El abulón (*Haliotis* spp) es un molusco gasterópodo marino que posee una demanda en el mercado internacional, cotizándose a un alto valor comercial (León y Muciño, 1996). La pesquería del abulón está concesionada a las sociedades cooperativas que se desarrollan a lo largo de la Península de Baja California. De esta actividad económica dependen varias familias que se establecieron en esta región (Ponce-Díaz et al., 1998).

La familia de abulón es considerada monogenérica (Brown y Murray, 1992).

La clasificación taxonómica es como sigue:

Phylum Mollusca

Clase Gasteropoda

Subclase Prosobranquia

Orden Arqueogasteropoda

Superfamilia Pleurotomareacea

Familia Haliotidae

Genero *Haliotis*

El género *Haliotis* spp habita en zonas costeras rocosas, asociado a mantos de macroalgas marinas y está globalmente distribuido en los océanos modernos. Faunas especialmente ricas en especies, se encuentran en el Oeste del Pacífico Tropical, Australia, Japón, África del Sur y a lo largo de las Costas del Pacífico Nororiental, (México, Estados Unidos y Canadá). La abundancia de las capturas

de Haliótidós a escala mundial se ha visto disminuida debido a la pesca ilegal, la sobrepesca de los reclutas y a factores ambientales que en algunos años podrían ser particularmente importantes debido a grandes cambios climáticos (Shepherd y Brown, 1993; Davis, 1995; Werner et al. 1995; Shepherd et al., 1998; Gluyas-Millan y Talavera-Maya, 2003; Guzmán del Prío et al., 2003).

En la Costa Occidental de la Península de Baja California se encuentran 5 especies de Haliótidós sujetos a explotación comercial, cuya distribución espacial es desde la frontera con los Estados Unidos hasta el sur de Isla Margarita en Baja California Sur. La distribución vertical y mayor abundancia se localiza entre 8 y 22 m (Guzmán del Prío, 1992). Las pesquerías de *Haliotis fulgens* (abulón azul) y *H. corrugata* (abulón amarillo) son de carácter regional y contribuyen aproximadamente con el 95 - 98% de la captura total (León y Muciño, 1996). De estas la pesca de *H. fulgens* constituye el 80.4% de la captura total en Baja California (D.O.F., 15/03/04). La pesquería del abulón floreció durante dos décadas después de 1950 hasta iniciar su colapso en 1984 (Shepherd et al., 1998). Muciño-Díaz et al. (2003) reportan los datos históricos de la pesquería de abulón en Baja California Sur (Fig. 1) en donde se observa que la disminución de la abundancia en la población silvestre sucede a partir de 1991 y una ligera recuperación a partir del 2002.

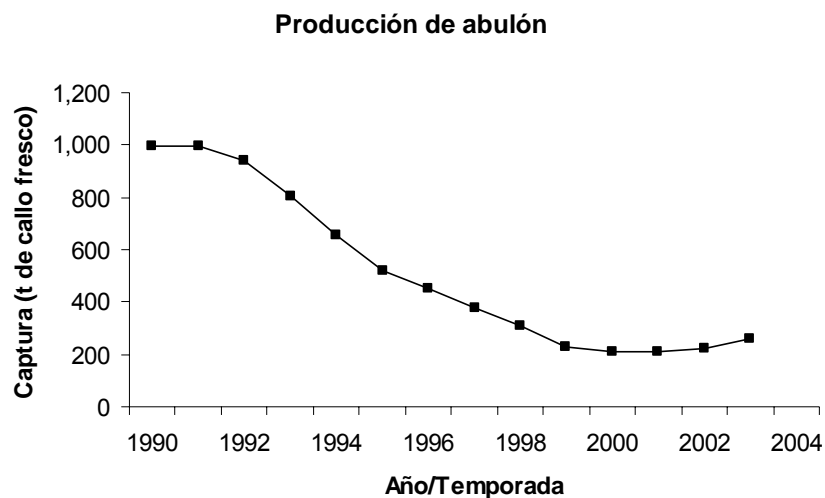


Figura 1. Datos históricos de la pesquería de abulón en Baja California Sur. (Muciño-Díaz *et al.*, 2003)

Manejo de la pesquería en B.C. México

Desde 1982 la pesquería del abulón en Baja California se ha venido regulando (D.O.F. 1981; 1993; León y Muciño, 1996; Reinecke, 1997) con el fin de recuperar la abundancia de la población silvestre, para lo cual se establecieron zonas de captura, cuotas de captura, periodos de veda y talla mínima legal de captura por zona de pesca. Para cada una de las zonas de pesca (Fig. 2) se implementan periodos de veda diferenciales con duración de cinco meses (Departamento de Pesca, 1980) de acuerdo al siguiente esquema:

Zona I: de Islotes Coronado, B.C. (frontera con E.U.), a Punta Malarrimo, B.C.S.; del 1° julio al 30 de noviembre

Zona II: de Punta Malarrimo al primer tercio noroeste de Bahía Asunción, B.C.S.; del 1° de agosto al 31 de diciembre

Zona III: de Bahía Asunción a Punta Holcomb, B.C.S.; del 1° de agosto al 31 de diciembre

Zona IV: de Punta Holcomb a Arroyo El Conejo, B.C.S.; del 1° de septiembre al 31 de enero.

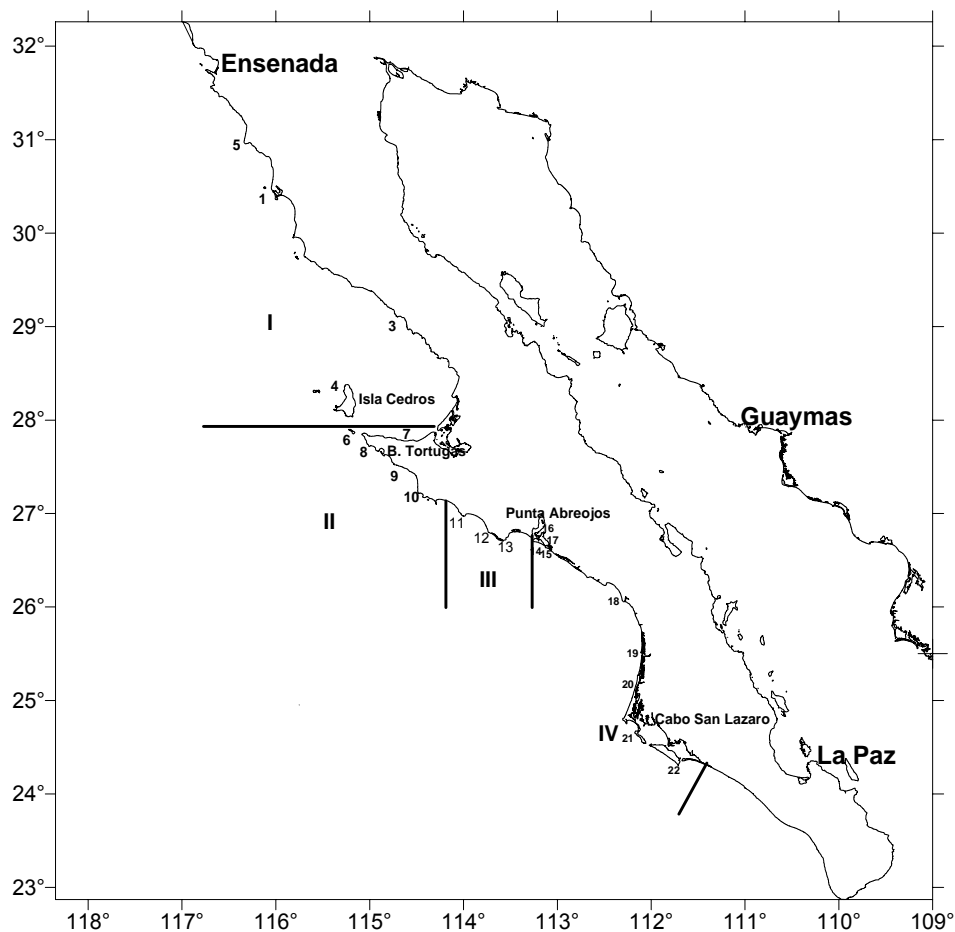


Figura 2. Zonas geográficas reglamentadas para la captura de abulón y ubicación de algunas cooperativas pesqueras en la península de Baja California, México. (Muciño y Sierra, 2005)

Para la definición de las tallas mínimas de captura, actualmente vigentes de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-005-PESC-1993, se utilizaron los valores de reclutamiento reproductor reportados por Guzmán del Prío *et al.* (1980), publicados en el Diario Oficial de la Federación (22.08.81).

Las evaluaciones de las poblaciones de abulón están basadas desde 1996 en un modelo dinámico de biomasa, modificado para incluir el efecto de las anomalías térmicas (Sierra et al., 1998). El proceso de análisis consiste en ajustar las biomásas pronosticadas por el modelo a las biomásas estimadas de manera directa. Este análisis es la base para la asignación de cuotas que utiliza el esquema de manejo aplicado desde 1996-1997 (Muciño et al., 1999).

Por otra parte, se han venido desarrollando actividades de repoblación con organismos producidos en laboratorio, como una medida adicional para aumentar la abundancia en los bancos abuloneros agotados (Vega et al., 1994). La producción de larvas se viene desarrollando en los laboratorios de Isla de Cedros, La Bocana, Puerto Nuevo y en Bahía Tortugas desde 1983 (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1992) y de Punta Eugenia desde 1994 (Mazón et al., 1996). A pesar de los esfuerzos de repoblación, la población natural sigue manteniendo una abundancia muy baja, y aún cuando en estas zonas de pesca no se cuenta con registros de éxito o fracaso, esta actividad continúa desarrollándose.

A pesar de lo anterior, tanto los planes de manejo basados en el sistema de cuotas y zonas de captura como en la repoblación de bancos se han llevado a cabo sin tomar en consideración si a lo largo de la distribución de la especie existe una o más subpoblaciones.

Manejo pesquero, programas de repoblación y variabilidad genética

La confiabilidad en el manejo de los recursos pesqueros de importancia económica sólo puede lograrse por medio del conocimiento integral de la biología

de la especie. El desconocimiento parcial o total de los procesos biológicos fundamentales de las poblaciones que se explotan comercialmente, ha de propiciar como patrón general el uso y manejo inadecuado de los recursos pesqueros. Por esto, la carencia de bases sólidas para la proposición de estrategias para una explotación adecuada puede traducirse en problemas, que en sus extremos van desde la subutilización hasta la sobreexplotación y el peligro de extinción del recurso.

Los estudios sobre la variabilidad genética han contribuido para dar información sobre la evolución de los recursos genéticos. Asimismo, han demostrado su valía para la resolución de problemas de interés inmediato en el manejo de las pesquerías y acuicultura en el ámbito internacional (de la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1988).

Las poblaciones de especies que presentan una amplia distribución geográfica, están sujetas a distintos regímenes ambientales que pueden determinar cambios en su estructura genética, mismos que pueden caracterizarse por medio de la metodología de la genética molecular.

En las poblaciones naturales existe una tendencia hacia el equilibrio con su ambiente, dependiendo del grado de adaptabilidad de la especie, la cual esta determinada por su reservorio genético (Dobzhansky et al., 1977). En las poblaciones de organismos diploides, la combinación entre alelos que se segregan en un locus dado, da lugar a la formación de los genotipos que representan el material hereditario del organismo. El genotipo determina,

mediante interacciones génicas complejas, los fenotipos que se pueden desarrollar según el ambiente experimentado.

Actualmente los trabajos de investigación en genética se deberían desarrollar en apoyo al manejo óptimo de poblaciones naturales (FAO, 1993). Asimismo, el conocimiento de la información genética y manipulación de los caracteres fenotípicos por medio de entrecruzamientos experimentales, tienen gran importancia para la planeación y éxito de los cultivos de abulón.

Los marcadores genéticos (Alozimas, RFLP, ADN mitocondrial, microsatélites) han sido de suma importancia para resolver diferentes aspectos relacionados al comportamiento genético de las especies, incluyendo la cuantificación de la variación genética (Elliott, 2000). Específicamente, los microsatélites son fragmentos de secuencias de ADN con n repeticiones de di, tri, o tetranucleótidos arregladas en tándem en el genoma (O'Connell y Wright, 1997); son codominantes, neutrales (Li et al., 2003) y altamente polimórficos. Se han usado en estudios de diversidad genética en poblaciones naturales y cultivadas para detectar la pérdida de variabilidad genética (Perez-Enriquez et al., 1999; Evans et al., 2004), en análisis de la estructura de la población pescable (McConnell et al., 1995; O'Reilly y Wright, 1995; Reilly y Ward, 1999; Balloux y Lugon-Moulin, 2002), en el seguimiento de actividades de repoblación mediante análisis de parentesco (O'Reilly et al., 1998; Pérez-Enríquez y Taniguchi, 1999; Boudry et al., 2002) y para la identificación de especies de abulón (Muchmore et al., 1998).

Por otra parte existen diversos trabajos en torno a estudios de la estructura genética de poblaciones de Haliótidos entre los que sobresalen los realizados con *H. rubra* (Elliott et al., 2000; Conod et al., 2002). Para abulón azul, existen trabajos con marcadores genéticos en donde Zúñiga et al. (2000) y Gutiérrez-González (2000) reportan que esta especie en la parte central de Baja California presenta un exceso de homocigosidad con altos índices de homogeneidad de la población y que además no se manifestó una subdivisión en la población en las áreas de estudio.

En cuanto a los programas de repoblación algunos autores mencionan que al aislar organismos silvestres para actividades de cultivo, se cuenta con un potencial para la domesticación y mejoramiento genético; sin embargo, existen posibilidades en el deterioro genético si se mantiene un reducido número efectivo de reproductores (Hedgecock y Sly, 1990; Burton y Tegner, 2000; Smith y Conroy, 1992). Consecuentemente, si la diversidad genética de los organismos liberados es baja, se pone en riesgo la variabilidad genética en la población silvestre (FAO, 1993). En este sentido, con base en los estudios genéticos en especies cultivadas de abulón. Mgaya et al. (1995) revelaron pérdida de heterocigosidad en *H. tuberculata*; Evans et al. (2004) investigaron la variabilidad genética en *H. rubra* y *H. midae* revelando diferencias genéticas entre los stock silvestres y producidos en laboratorio y Díaz-Viloria (2000) observó que la variabilidad genética en *H. fulgens* se encuentra disminuida en los organismos cultivados en Baja California.

En el capítulo I de este trabajo se discute la evaluación genética de los programas de repoblación de los bancos naturales de abulón azul *Haliotis fulgens*,

y su impacto potencial sobre la variabilidad genética en el medio silvestre, así como la eficacia de los microsatélites para monitorear organismos del medio natural e identificar su origen, mediante relaciones de parentesco que permitan diferenciar organismos producidos en el laboratorio de aquellos silvestres.

En el capítulo II, se presentan y se discuten los resultados sobre la diversidad genética y la diferenciación poblacional de abulón azul *Haliotis fulgens*, en la Península de Baja California, utilizando cuatro loci de microsatélites como marcadores genéticos.

Justificación

Se sabe relativamente poco acerca del conocimiento básico sobre la diversidad genética y estructura de la población de abulón azul *Haliotis fulgens*. La información de este trabajo de investigación es esencial para la construcción de un esquema apropiado de manejo pesquero de este recurso en Baja California, México. Los marcadores genéticos apropiados pueden ser usados para elevar la eficiencia en la administración y cultivo de esta especie en la región. Además, la acuicultura sustentable requiere del conocimiento básico sobre la estructura del “stock” de donde provienen los reproductores y el uso idóneo de marcadores genéticos moleculares para establecer programas de manejo adecuado del tamaño efectivo de reproductores utilizados en los laboratorios de cultivo de abulón, y evitar la reducción significativa de la diversidad genética en los lotes de la progenie derivados de la reproducción de organismos adultos.

Por ello, con el estudio sobre la caracterización genético-poblacional de abulón azul, se podrá conocer la función que tienen los bancos abuloneros en el flujo genético entre éstos, dentro de las cuatro zonas donde se explota comercialmente, además de que se contribuirá a proponer estrategias de manejo de reproducción en los laboratorios de producción de abulón utilizados para las actividades de repoblación en Baja California Sur, evitando la pérdida de variabilidad genética.

Hipótesis General

Con base en estudios ecológicos se ha encontrado una baja densidad poblacional de abulón azul, por lo que es considerada como una pesquería colapsada, y dado que las larvas nadan libremente durante un periodo relativamente breve de su fase larval, éstas tienden a asentarse cerca de sus progenitores, aunado a que el movimiento de juveniles de abulón es limitado estos permiten suponer que su población presenta un flujo genético restringido. De ser así, se esperarían observar relativamente una reducida variabilidad genética y patrones de diferenciación genética entre zonas de pesca a lo largo de su área de distribución.

Objetivo General

Determinar la estructura y diversidad genética de la población silvestre de abulón azul *Haliotis fulgens* en la zona de distribución de esta especie y los posibles efectos de los programas de repoblación sobre la estructura y diversidad genética.

Objetivos Particulares.

- Determinar si existe pérdida de la diversidad genética en los programas de repoblación.
- Determinar la estructura genética y conocer el flujo genético en la zona de distribución de *Haliotis fulgens* con base en marcadores de ADN tipo microsatélite.

CAPITULO I

EVALUACIÓN GENÉTICA DE LA REPOBLACIÓN DE ABULÓN AZUL *Haliotis fulgens* EN MÉXICO.

Gutierrez-Gonzalez y Perez-Enriquez. 2005. A genetic evaluation of stock enhancement of blue abalone *Haliotis fulgens* in Baja California, Mexico. *Aquaculture*, 247: 233-242

INTRODUCCIÓN

Debido a una drástica reducción en la producción pesquera del abulón en México (INP, 2000; Shepherd et al., 1991; 1998), se han llevado a cabo programas de repoblación durante varios años en la parte central de Baja California Mazón-Suastegui et al. (1996). Los laboratorios de producción de abulón de Bahía Tortugas y Punta Eugenia, Puerto Nuevo, Isla Natividad e Isla de Cedros han estado participando en los programas de repoblación en un esfuerzo por recuperar las poblaciones agotadas, las cuales manifiestan su impacto por: sobreexplotación (Guzmán del Prío, 1992), fluctuaciones ambientales (Vega et al., 1997), depredación (Tegner et al., 1992; Sasaki y Shepherd, 2001) y mortalidad natural (Tegner y Butler, 1985). Los programas de repoblación consisten en capturar reproductores silvestres durante la época de reproducción de esta especie (Sevilla, 1971) e inducirlos al desove de manera artificial en los laboratorios de cultivo utilizando la técnica de irradiación de agua marina con luz ultravioleta. Con los gametos obtenidos se realiza la fecundación y la progenie resultante es liberada a los cinco días de edad al medio natural. La liberación larval se inició en México desde 1960 (Ortiz-Quintanilla, 1980) y a partir de 1983 se lleva a cabo de manera mas o menos sistemática en algunos laboratorios.

A pesar de la importancia de monitorear la composición y diversidad genética, tanto de organismos producidos en laboratorio como de la población silvestre (Doyle et al., 1995), para el caso del abulón, existen escasos estudios. Selvamani et al. (2001) utilizaron cinco loci de microsatélites para asignar

parentesco con *H. asinina* y evaluar genéticamente a los padres y la progenie producida ratificando la importancia de dar seguimiento a la diversidad genética de los organismos que se producen en los laboratorios. Smith y Conroy (1992) revelaron en su estudio diferencias genéticas con *H. iris* entre la población silvestre y de la progenie producida en laboratorio encontrando pérdida de alelos raros. Mgaya et al. (1995) revelaron pérdida de heterocigosidad en *H. tuberculata*.

Por otra parte, debido a la dificultad que resulta marcar físicamente las larvas de abulón para darles seguimiento, no existe información de sobrevivencia ni de recaptura después de su liberación y por lo tanto, del éxito de estos programas de repoblación en México (Shepherd et al., 2000). Los loci de microsatélites son marcadores genéticos que han servido para el monitoreo de pedigrí y recientemente han sido usados para monitorear la diversidad genética en organismos producidos en laboratorio y su impacto genético sobre la población silvestre (Was y Wene, 2002), así como en actividades de repoblación y análisis de parentesco (O'Reilly et al., 1998; Pérez-Enríquez y Taniguchi, 1999; Boudry et al., 2002; Mackiewicz et al., 2002).

En este capítulo se presentan y se discuten los resultados sobre diversidad genética derivado del estudio de las actividades de la repoblación que han venido desarrollando los laboratorios de producción de abulón azul tanto en Bahía Tortugas como en Punta Eugenia Baja California Sur, utilizando dos loci de microsatélites.

MATERIAL Y MÉTODOS

El análisis de la diversidad genética se llevó a cabo en dos laboratorios de producción de abulón azul: Bahía Tortugas y Punta Eugenia, Baja California Sur, México.

De manera general los laboratorios de producción de abulón de Baja California Sur, utilizan dos métodos para la inducción al desove de abulón. Uno es el tratamiento por desecación mediante el incremento de la temperatura y el otro por irradiación del agua marina con luz ultravioleta.

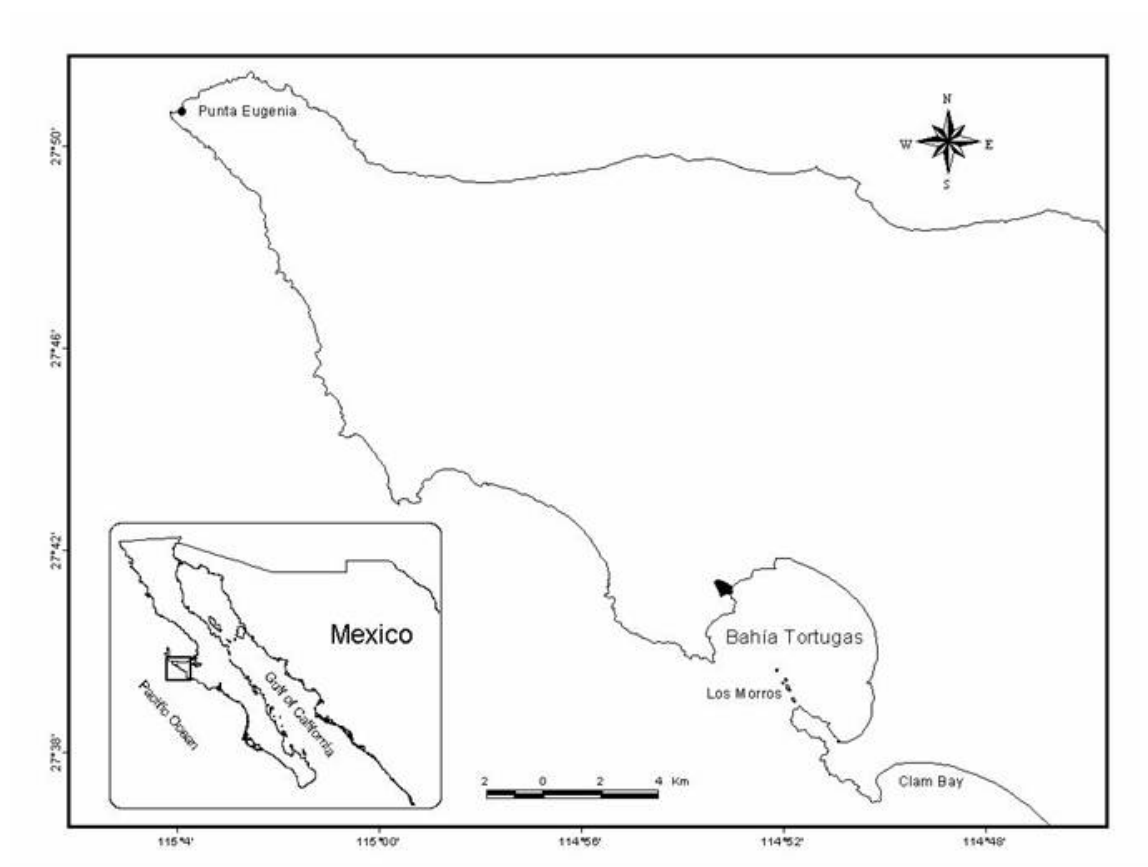


Figura.3. Ubicación de los laboratorios de producción de abulón a en Bahía Tortugas y Punta Eugenia y sitios de repoblación en Clam Bay, Los Morros y Punta Eugenia.

El desove puede ser masivo (Bahía Tortugas) o por parejas (Punta Eugenia). El masivo consiste en colocar todos los reproductores por sexo en tinas separadas; una vez que los organismos desovan, los gametos se colectan y se mezclan para la fecundación en un tanque común. El método por parejas consiste en colocar un macho y una hembra por cubeta hasta la fecundación de sus gametos y desarrollo larval en tinas independientes. En ambos casos, después de la eclosión, las larvas se pasan a un proceso de lavado y separación en lotes, y en un lapso de cuatro a cinco días pasan a fijarse al fondo del tanque, en la etapa llamada “larva competente”. A esa edad un lote se separa para ser mantenido en el laboratorio y el resto se libera al medio natural transportándolas en bolsas de plástico.

En el laboratorio de producción de abulón de Bahía Tortugas se llevaron a cabo dos desoves masivos, en noviembre y diciembre del 2000. En noviembre utilizaron 16 reproductores silvestres en una proporción de sexos de 1:1, y obtuvieron una producción total de 3'250,000 larvas, las cuales fueron liberadas en marea baja en el banco denominado “Clam Bay”. Esta área se localiza en una pequeña ensenada al SE de la punta conocida como Cabo Tórtolo y se ubica a los 27° 37'N y 114° 50' O. En diciembre utilizaron 22 organismos, 10 hembras y 12 machos, con una producción total de 3'850,000 larvas, las cuales fueron liberadas sobre la superficie de mar a bordo de una embarcación en la zona de “Los Morros” ubicada a los 27° 39' N y 114° 52' O, con una profundidad de 3 a 4 m. La larva no liberada de los desoves de noviembre y diciembre, se mantuvo en el laboratorio hasta la etapa de juveniles, de los cuales se tomó una muestra para el análisis

genético de 70 y 57 juveniles de 4 y 3 meses de edad y talla promedio de 5.5 mm y 3.06 mm respectivamente. Aún cuando del desove de noviembre se muestrearon los 16 reproductores para el análisis genético, en diciembre no fue posible muestrear a los 22 individuos, obteniéndose tejido de sólo 16.

En diciembre del 2000, en el laboratorio de Punta Eugenia B.C.S, se realizó la inducción al desove en cubeta, utilizando 11 reproductores silvestres con una proporción promedio de sexos de 1:1.2 macho: hembra.

De este desove, se cultivaron cinco familias que produjeron una cantidad no cuantificada de larvas (G. Lucero, SSCP "La Purísima" com. Per.), algunas fueron liberadas al medio silvestre en una poza intermareal frente al laboratorio de Punta Eugenia (Fig. 3) y otras se mantuvieron en tinas del laboratorio por separado hasta estado juvenil. A los seis meses se tomó una muestra de 10 juveniles por familia de las tinas del laboratorio, para su análisis genético. Dado que los reproductores fueron devueltos al medio natural, no fue posible su muestreo.

La zona intermareal de ambas localidades en donde fueron liberadas las larvas, está formada de una plataforma con rocas sedimentarias grandes y planas, que forman mesetas acanaladas por la erosión. En los canales se depositan restos de rocas de menor tamaño. La flora asociada a los bancos de *Haliotis* spp son los mantos de *Macrocystis pyrifera*, *Phyllospadix torreyi* y *Eisenia arborea*, y la fauna se compone de: caracol *Tegula eiseni*, esponjas, briozoarios, estrella de mar, ofiuras y quitones (Carreón et al., 2003).

Monitoreo de juveniles de abulón liberados

En junio y noviembre del 2001, (6 y 12 meses después de su liberación), se realizaron muestreos de recaptura de juveniles liberados. En Clam Bay, se utilizaron cinco transectos perpendiculares a la costa de 10 m de largo por 3 m de ancho y en Punta Eugenia, un transecto de 10 m de largo por 3 m de ancho. El muestreo se realizó durante la bajamar, revisándose cada una de las piedras de diferente tamaño, con una área superficial desde 0.03 m² hasta 0.2 m², distribuidas a lo largo de cada transecto colectando los juveniles que se encontraron dentro de éste para su análisis genético. En el banco de “Los Morros” se realizó un muestreo, pero no fue posible capturar organismos, debido a las malas condiciones climatológicas.

Análisis de muestras

Para el análisis genético de los reproductores se colectó un trozo de epipodium, de los juveniles del laboratorio el organismo completo, y de los juveniles silvestres tejido muscular. Los tejidos se fijaron en etanol al 95% en tubos de microcentrifugación.

Extracción de ADN

De los tejidos de abulón colectados se realizó la extracción del ADN, utilizando el protocolo de Sweijd et al. (1998). Se obtuvieron aproximadamente 0.5 g de tejido, los cuales fueron digeridos con solución buffer TNES (Tris 100 mM,

NaCl 400 mM, EDTA 50 mM, SDS 1%, pH 8) y proteinasa K (0.5mg/ml), incubándose a 55° C durante 16 h. Para extraer el exceso de mucopolisácaridos se usó NaCl (0.75 M) y CTAB (1%, Sigma) y se pusieron en incubación a 65° C por 1 h. Se realizó la extracción, lavando tres veces con Cloroformo-Alcohol isoamílico (24:1); en cada lavado se centrifugó a 4,000 rpm por 10 min, al sobrenadante se le agregó etanol al 100% para favorecer el precipitado del ADN y se puso en el congelador a -20° C durante 30 min, se centrifugó a 10,000 rpm por 10 min. El precipitado se lavó con etanol al 70%, se centrifugó a 10,000 rpm por 10 min y se resuspendió en 200 µl de Buffer TE (pH. 7.2)

El análisis genético se llevó a cabo utilizando los loci de microsatélites *Hka28* y *Hka56* desarrollados para *Haliotis kamtschatkana* (Miller et al., 2001). Se utilizó una reacción de 25µl de volumen total, a cada tubo se agregó 0.5 µl de ADN de aproximadamente 50ng/µl de concentración, 0.48 µM de cada iniciador (los iniciadores de reversa se marcaron con biotina en la posición 5'), 80 µM de cada dNTP, 0.625 U de *Taq* polimerasa, 3µl de PCR Buffer 10X y H₂O (milliQ) hasta completar los 25 µl.

Amplificación de microsatélites

Para la amplificación de ADN se llevó a cabo el método de reacción en cadena de la polimerasa (*PCR*) por siglas en ingles, utilizando un termociclador Progene (Techne). Las condiciones de amplificación por *PCR* en ambos loci fueron las siguientes: desnaturalización a 95° C por 2 min, 35 ciclos de

desnaturalización a 94° C por 30 s, alineamiento a 52° C por 30 s y extensión a 72° C por 45 s, y una extensión final a 72° C por 2 min.

Las variantes alélicas de los loci fueron separadas mediante electroforesis, utilizando gel de poliacrilamida al 6%. Los fragmentos de ADN se visualizaron mediante quimioluminiscencia, usando el protocolo del Phototope – Star Detection Kit (New England Biolabs) de manera similar como lo desarrollaron Pérez-Enríquez *et al.* (2001). Para ello, el ADN se transfirió a una membrana de nylon (Nytran) por capilaridad por 50 minutos y fijándose con calentamiento a 75° C por 50 minutos y posteriormente con luz UV por 1 min. La detección del ADN se realizó mediante incubaciones sucesivas con soluciones que contienen estreptavidina, biotina-fosfatasa alcalina, y el sustrato de quimioluminiscencia CDP-Star (NEB). La membrana se envolvió con plástico y fue expuesta en una película fotosensible (Kodak Biomax Light Film) por 20 min, para detectar emisiones de luz que corresponde a la señal del marcador con las variantes alélicas de los loci de microsatélites, confirmándolo mediante un proceso de revelado fotográfico. La lectura de los alelos se realizó con base a una escalera de ADN del plásmido pUC19, utilizando Sequitherm Cycle Sequencing Kit (Epicentre).

Análisis de datos

Se calcularon las frecuencias alélicas para los dos loci de microsatélites de reproductores y progenie, a las que se les aplicó una prueba de heterogeneidad de χ^2 para determinar la existencia de diferencias significativas. La diversidad

genética se determinó con el número de alelos por locus, heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e), tanto para los reproductores como para la progenie.

La información del contenido polimórfico (PIC), la probabilidad de exclusión de falso parentesco para el primer y segundo padre (EXCL.1,2) para cada locus y la probabilidad total de exclusión (PE) para los dos loci fueron calculados usando el software CERVUS versión 2.0 (Marshall, 1998-2001). Asimismo, se llevaron a cabo análisis de parentesco entre los reproductores y la progenie. El análisis de parentesco consistió en comparar los genotipos de cada locus para cada uno de los individuos de la progenie con los genotipos de cada locus de los reproductores, registrando la pareja que se encontró, todo ello mediante la paquetería de Microsoft Excel. En el anexo 1 se presenta un ejemplo de estos análisis. Similar al análisis realizado por Pérez-Enríquez y Taniguchi (1999). La potencia de la prueba de parentesco se calculó mediante la probabilidad de identidad I (Paetkau y Strobeck, 1994), esto es, la probabilidad de encontrar dos organismos de una población que tomados al azar tengan los mismos genotipos. Para cada locus esta probabilidad está dada por la siguiente expresión $I = \sum_i p_i^4 + \sum_i \sum_{j>i} (2p_i p_j)^2$, donde p_i y p_j son las respectivas frecuencias de los i -ésimos y j -ésimos alelos encontrados en la población. En este caso la población se conforma con el conjunto de los reproductores silvestres ($n = 32$) utilizados en los desoves de noviembre y diciembre del 2000 de Bahía Tortugas. La probabilidad total de identidad es el producto del valor obtenido por cada locus.

Para determinar si los juveniles colectados durante los muestreos de recaptura en Clam Bay fueron producidos en el laboratorio o eran de origen silvestre, se llevaron a cabo análisis de parentesco con los reproductores de Bahía Tortugas tal y como se describió con anterioridad. En el caso de Punta Eugenia, los genotipos de los organismos encontrados se contrastaron con los genotipos de las familias producidas.

Con el fin de cuantificar el número efectivo de reproductores (N_e), es decir, conocer cuantos individuos realmente se reprodujeron y aportaron material genético a la siguiente generación. N_e se estimó de acuerdo a como lo estimó Gall (1987) con $N_e = 4N_fN_m / N_f + N_m$ donde N_f y N_m son el número de hembras y machos. Se aplicó una corrección de N_e debido a la distribución no azarosa de tamaño de la familia por padres usando $N_e = 8N_e / (4 + V_{kf} + V_{km})$, donde V_{kf} y V_{km} son las varianzas en el tamaño de la familia para hembras y machos respectivamente.

RESULTADOS

Diversidad genética de crías y progenitores

Para Bahía Tortugas considerando ambos loci, en la progenie de noviembre se observó una alta heterocigosidad promedio de $H_o = 0.862$ y el número promedio de alelos observados fue de 14 por locus (Tabla 1). De manera similar, en la progenie de diciembre se observó una heterocigosidad promedio de $H_o = 0.885$ y el número promedio de alelos observados fue de 12 por locus. Estos parámetros de diversidad genética fueron aproximadamente un 12 % menores que los observados en los progenitores de cada lote (Tabla 1). Al combinar los dos desoves de Bahía Tortugas, en la progenie se observó una ligera disminución en la heterocigosidad promedio y el número de alelos por locus aumentó; sin embargo, la diferencia con los reproductores se incrementó hasta un 25% (Tabla 1). En las familias producidas en Punta Eugenia, la heterocigosidad promedio fue ligeramente más baja ($H_o = 0.676$), pero no significativa en comparación con los lotes de Bahía Tortugas y el número de alelos fue semejante.

Frecuencias alélicas

En las frecuencias alélicas de noviembre y diciembre, los loci *Hka28* y *Hka56* se observan en un rango de 0.007 a 0.275 tanto en los reproductores como en la progenie de los lotes estudiados, siendo el alelo 115 el más común en noviembre con la mayor frecuencia (Fig. 4b). Los alelos que contiene la progenie representan a la mayor parte de los alelos de los reproductores utilizados, lo

Tabla 1. Valores de diversidad genética de los lotes utilizados en los programas de repoblación.
 Por locus y su promedio de H_o : heterocigosidad observada; H_e : heterocigosidad esperada;
 n_A : Número de alelos.

Desoves	Locus		
	<i>Hka28</i>	<i>Hka56</i>	Promedio
Noviembre/2000			
Reproductores			
H_o	1	0.938	0.969
H_e	0.899	0.891	0.895
n_A	16	16	16
Progenie			
H_o	0.725	1.000	0.862
H_e	0.811	0.870	0.841
n_A	13	15	14.0
Diciembre/2000			
Reproductores			
H_o	1.000	0.938	0.969
H_e	0.936	0.879	0.907
n_A	18	12	15
Progenie			
H_o	0.788	0.942	0.865
H_e	0.810	0.855	0.833
n_A	12	12	12
Reproductores Ambos desoves			
H_o	1	0.938	0.969
H_e	0.929	0.898	0.914
n_A	24	21	22.5
Progenie de Ambos desoves			
H_o	0.752	0.877	0.815
H_e	0.878	0.885	0.881
n_A	17	17	17
Familias Punta Eugenia			
Progenie			
H_o	0.720	0.633	0.676
H_e	0.888	0.846	0.867
n_A	17	10	13.5

que indica que la mayoría de los reproductores participaron efectivamente en los desoves realizados en el laboratorio de Bahía Tortugas.

La prueba de heterogeneidad, realizada entre las frecuencias de los alelos más comunes de la progenie de noviembre con respecto a sus progenitores, mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) en los alelos 213 para el locus *Hka28* y 95 y 125 para el locus *Hka56* (Fig. 2 a, b). Cabe señalar que aún cuando los alelos 211, 214, 233 y 249 del *Hka28* y 121 del *Hka56* no estuvieron representados en la progenie, las diferencias no fueron significativas ($P > 0.05$), básicamente porque esos alelos tuvieron una baja frecuencia en los reproductores. Cabe mencionar que también podría ser que los alelos no representados en la progenie pertenecen a los progenitores que no se reprodujeron.

En la progenie de diciembre los alelos de mayor frecuencia que presentaron diferencia significativa con los progenitores ($P < 0.05$) fueron: 209, 217 y 219 para el locus *Hka28*. En este resalta la presencia de los alelos 210 del *Hka28* y 95, 113, 121, 127 y 129 del *Hka56* los cuales no están representados en los progenitores (Fig. 4c, d), lo que indica que esos alelos no representados pertenecen muy probablemente a los progenitores que fueron regresados al medio marino y no se muestrearon.

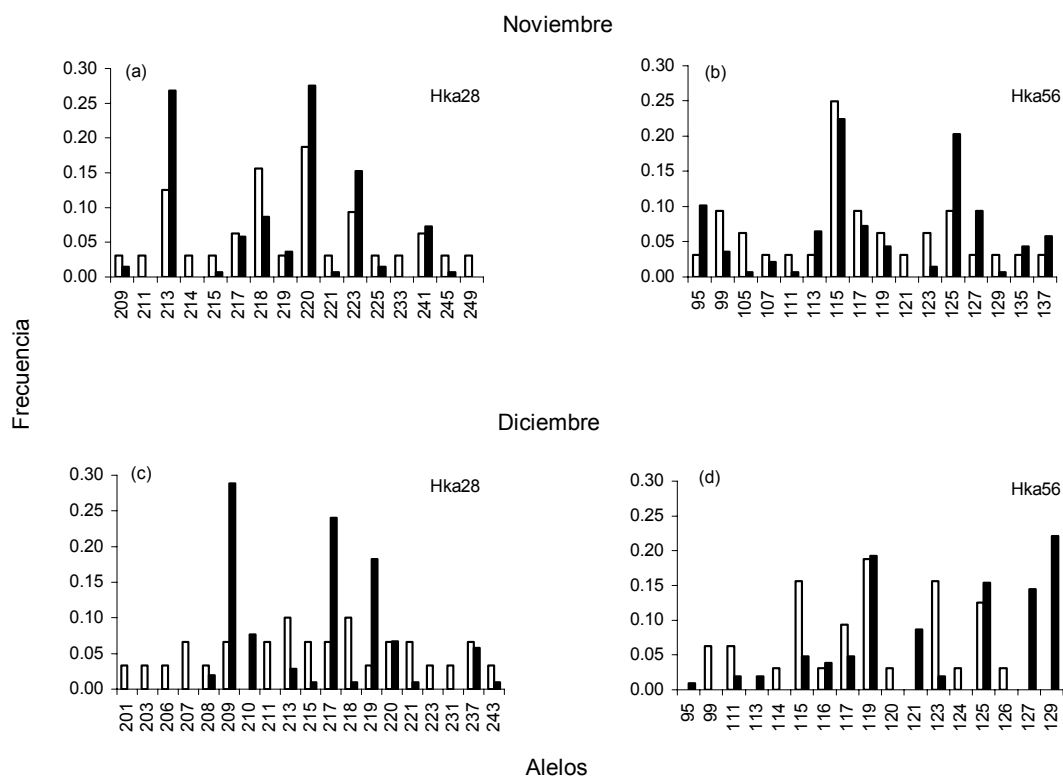


Figura 4. Frecuencias alélicas de los reproductores (Barras blancas), y progenie (Barras oscuras) del desove de noviembre (a y b) y diciembre (c y d) del 2000 de Bahía Tortugas en los loci *Hka28* y *Hka56*.

Tabla 2. Contenido de la información polimórfica (PIC) por locus y Probabilidad de exclusión (Excl. 1, 2), PE: p. de exclusión combinada de *Haliotis fulgens* en Bahía Tortugas.

Locus	PIC	Excl (1)	Excl (2)
<i>Hka28</i>	0.787	0.461	0.635
<i>Hka56</i>	0.858	0.592	0.745
Ambos loci (PE)		0.780	0.907

Análisis de Parentesco: Potencialidad de los marcadores y Num. Efectivo de reproductores

Se observó un alto valor promedio del contenido de información polimórfica (PIC=0.822) para los dos loci de microsatélites (Tabla 2). En la misma tabla se muestra la potencia total de exclusión (PE), esto es, la probabilidad de estar excluyendo apropiadamente un padre no relacionado, y combinando ambos loci fue 0.780, lo que significa la probabilidad de exclusión de un padre no verdadero combinando ambos loci. La potencia total de exclusión (PE) para el segundo padre fue 0.907. Estos altos valores de probabilidad de exclusión fueron un fuerte indicador para que estos loci de microsatélites pudieran ser efectivos al ser utilizados como marcadores genéticos en la asignación del parentesco.

El análisis de parentesco en el desove de diciembre de Bahía Tortugas y Punta Eugenia, no fue posible llevarlo a cabo por la falta de reproductores en los muestreos.

De la progenie de noviembre de Bahía Tortugas, más del 90% (64 individuos) amplificó productos legibles para ser utilizados en el análisis de parentesco realizado con ambos loci (*Hka28* y *Hka56*). De esos, al 77% (49 individuos) de dicha progenie se les logró asignar parentesco de manera inequívoca, es decir se identificó a la pareja que lo produjo (Fig. 5, Anexo I). Se estimó que el 23 % (15 individuos) de los genotipos de la progenie podría provenir de dos o más posibles parejas, por lo que sería necesario utilizar por lo menos un microsatélite adicional para determinar inequívocamente sus progenitores. Al 7%

restante, no fue posible asignarle parentesco, debido a que se observaron tanto productos ilegibles como inespecíficos para ambos loci.

Numero efectivo de reproductores

Del análisis de parentesco se observó que de los 16 reproductores utilizados en el desove de noviembre, 14 (ocho machos y seis hembras) son los reproductores actuales (N_a) que intervinieron con su aporte genético para esa progenie (Fig. 5). De la diferencia en el número de machos y hembras, el número efectivo de reproductores (N_e) fue de 13.7, es decir un total de 87%. Del número de individuos analizados (49), al parecer la familia formada por la pareja: hembra #12 y macho # 2 contribuyeron con el mayor porcentaje de la progenie (12.5%), y que las hembras # 12 y # 10 formaron el mayor número de parejas (33%), cada una cruzándose con 6 machos (Fig. 5). Esta varianza en el número de crías por padres redujo el número efectivo al 50% ($N_e= 6.85$).

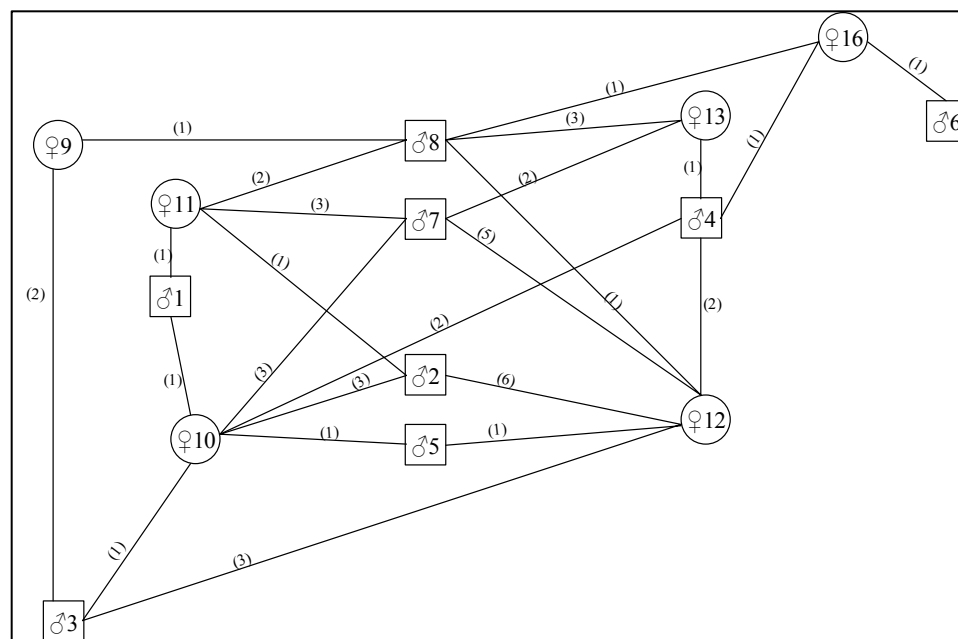


Figura 5. Parejas formadas y (número de crías por pareja) de *Haliotis fulgens* en el desove de noviembre/ 2000 en Bahía Tortugas.

Monitoreo de juveniles liberados

En el muestreo de recaptura realizado a los 12 meses después de la liberación de la progenie, se encontraron 5 juveniles en Clam Bay con una talla promedio de 27 mm en un área total de muestreo de 150 m², que corresponde a una densidad de 0.03 individuos/m². También a los 12 meses en Punta Eugenia se encontraron 3 juveniles con una talla promedio de 29 mm en una área total de muestreo de 30 m² (0.1 ind./m²). Las tallas de esos juveniles fueron semejantes a las tallas esperadas para un año de edad (Shepherd *et al.*, 1995; Tarr, 1995), así como de los juveniles que se mantuvieron en los laboratorios de Bahía Tortugas (desove de noviembre) y Punta Eugenia, lo que permitió suponer que pertenecían a la misma camada. Al contrastar los genotipos de los juveniles colectados en Clam Bay con los genotipos de la progenie mantenida en el laboratorio de Bahía Tortugas y realizar los respectivos análisis de parentesco con los progenitores de dicho laboratorio, no se encontró alguna pareja que los hubiera producido, lo que indica que muy probablemente estos individuos no fueron producto del laboratorio sino producto del medio natural. En contraste, dos de los tres juveniles colectados en Punta Eugenia tuvieron genotipos compuestos de ambos loci iguales a los genotipos de una de las familias producidas en esa localidad, indicando que estos dos organismos probablemente provienen de laboratorio y hayan sido liberados en diciembre del 2000. Para descartar la idea de que los genotipos de estos dos individuos podrían venir del medio silvestre, se calculó la probabilidad de Identidad (*I*) de los genotipos, considerando el número de alelos en cada locus (Tabla 1,

reproductores de ambos desoves), dando valores de probabilidad de 0.009 y 0.018 respectivamente.

De acuerdo con el valor estimado de la probabilidad de Identidad ($I = 1.7 \times 10^{-4}$) considerando ambos loci (Tabla 3), significa que aproximadamente 1 de cada 6,000 individuos podría tener el mismo genotipo compuesto en la población silvestre. Lo anterior refuerza la identificación positiva observada de los organismos de Punta Eugenia.

Tabla 3. Probabilidad de Identidad de *H. fulgens* en Bahía Tortugas
Identidad (I) Num.de alelos por locus (A).

Locus	A	I
<i>Hka28</i>	24	0.009
<i>Hka56</i>	21	0.018
2 loci	45	1.7×10^{-4}

DISCUSIÓN

Las actividades de repoblación liberando larvas producidas en los laboratorios, se han convertido en una práctica común para recuperar poblaciones agotadas. De ello, se han derivado varias sugerencias con relación al impacto genético que esta práctica puede ocasionar. La deriva génica asociada con los efectos del cuello de botella, la reducción en el tamaño efectivo de la población, la selección y la endogamia, han sido sugeridas como posibles causas de los cambios en la variabilidad genética en las poblaciones producidas en cautiverio y que son utilizadas en los programas de repoblación (Taniguchi et al., 1983; Allendorf y Ryman, 1987; Hindar et al., 1991; Ryman, 1991; Cross, 2000).

Si la reducción de la diversidad alélica en la progenie respecto a sus progenitores fuera significativa, los efectos genéticos podrían ser más evidentes, como los que se estimaron en peces (Poteaux et al., 1999; Hansen et al., 2000), en *Mercenaria mercenaria* (Dilon y Manzi, 1987) y en abulón (Smith y Conroy, 1992; Mgya et al., 1995). La heterocigosidad observada y el número promedio de alelos fueron estimados con dos loci de microsatélites y se observaron ligeramente reducidos de padres a la progenie, pero solamente fue significativa para la heterocigosidad. Esto es muy similar a lo reportado en otras especies marinas producidas en laboratorio como *Pagrus major* (Pérez-Enríquez et al., 1999) y la ostra perlera *Pinctada margaritifera*. Durand et al. (1993), estimaron una heterocigosidad muy semejante utilizando 20 reproductores.

De acuerdo con nuestro estudio, podría considerarse que la alta diversidad genética que estimamos en la progenie liberada en diferentes fechas durante la

temporada de desove de esa especie aún con una ligera reducción en la heterocigosidad observada con ambos desoves, no pondría en riesgo la diversidad genética de la población silvestre. Esta heterocigosidad observada promedio es mayor a la que encontraron Evans et al. (2004) con *H. rubra* y *H. midae*. El mantener estos niveles de diversidad genética se deben principalmente a que en estos dos desoves progresivos participó el 87 % de reproductores y consecuentemente un gran número de padres se reprodujeron y contribuyeron genéticamente hacia las crías, por lo que podría considerarse que los 38 reproductores utilizados y el manejo que se les dio en el laboratorio de producción de abulón de Bahía Tortugas fueron adecuados. Esto asegura un amplio espectro de variabilidad genética representada en las crías (Taniguchi et al., 2003). Sin embargo, en el desove de noviembre el número efectivo de reproductores (N_e) se redujo 50% después de la corrección para un número desigual de machos y hembras, y para la distribución no azarosa del tamaño de familias (Gall, 1987). Aun cuando esta reducción en N_e da como resultado un incremento en el coeficiente de endogamia ($F = \frac{1}{2} N_e$) de 0.07 a 0.15, el efecto en el medio silvestre podría diluirse cuando se llevan a cabo varios desoves durante la época de reproducción. Este incremento en la endogamia podría no ser muy diferente a lo que pasa en el medio silvestre, cuando el comportamiento reproductivo indica que durante la fertilización muy probablemente no está involucrada la tasa de proporción sexos 1:1 macho a hembra, porque más bien ocurre como un desove masivo. Por lo menos este es el caso para otras especies de abulón (Sasaki y Shepherd, 1995).

Aún después de haber estimado una alta diversidad genética en estos programas de repoblación, se podría sugerir a los laboratorios de producción de abulón de Bahía Tortugas y Punta Eugenia, utilizar por lo menos 50 progenitores en una proporción de sexos 1:1 como lo recomienda la FAO (1993), ya que de esta manera se asegura no poner en riesgo la reducción de la variabilidad genética en la población silvestre en subsecuentes generaciones.

Los altos valores estimados de probabilidad de exclusión (esto es, la exclusión de padres no verdaderos para unas crías en una prueba de parentesco, sobrando solamente los padres relacionados) nos hacen suponer que los dos loci de microsatélites que sirvieron para este estudio, manifestaron su potencialidad para ser usados como marcadores genéticos en la asignación de parentesco y para distinguir organismos capturados en el medio silvestre, pero que fueron originados en laboratorios de producción de semillas en los programas de repoblación con *Haliotis fulgens*. Algunos autores han utilizado a los loci de microsatélites como marcas genéticas con otros organismos acuáticos en programas de repoblación (O'Reilly et al., 1998; Pérez-Enríquez y Taniguchi, 1999). Otros autores han utilizado marcas físicas en abulón en estudios de marca y recaptura (Prince et al., 1988); sin embargo, dado que hacerlo con larvas resulta difícil, las marcas genéticas utilizando estos loci de microsatélites polimórficos, nos facilitaron asignar un alto porcentaje de parentesco en la progenie de noviembre en Bahía Tortugas. No obstante, el uso de dos marcadores no fue suficiente para asignar el 100 % de parentesco. En este sentido Selvamani et al. (2001) y Huvet et al. (2001) reportaron resultados similares en sus experimentos usando dos loci,

pudiendo asignar hasta el 100% de parentesco utilizando tres loci de microsatélites. En este estudio, al 23 % de la progenie del desove de noviembre no se le pudo asignar parentesco debido a que tenían dos o más posibles parejas; esto indica, que se tendría que utilizar al menos un microsatélite adicional para aumentar el porcentaje de asignación. Esto además permitiría obtener una probabilidad de identidad más baja, incrementando la precisión de identificación individual, como lo reportan Paetkau y Strobeck (1994), Pérez-Enríquez y Taniguchi (1999) y Pearse et al. (2001), quienes utilizaron cuatro, cinco y cinco loci de microsatélites respectivamente con otras especies, razón por la cual estimaron una identidad muy baja en comparación con este trabajo. Para ello Cruz et al. (2005) aislaron loci de microsatélites específicos para *Haliotis fulgens*, los que servirán para futuros estudios genéticos.

Las siguientes razones podrían haber afectado el asentamiento larval y consecuentemente el incremento de la tasa de mortalidad de esta especie durante los programas de liberación larval. Por ello, la mortalidad y la dispersión larval son las principales razones que podrían explicar la ausencia de juveniles liberados en Clam Bay.

En el primer caso, podría considerarse que la mayoría de los organismos liberados mueren antes de su asentamiento, pues se sabe que la tasa de mortalidad natural es alta en larvas de abulón liberadas (Shepherd et al., 1991; González-Avilés y Shepherd, 1996), Esta tasa de mortalidad pudo ser incrementada si el método de siembra o la selección de el sitio de liberación, no es adecuado, debido a que estos aspectos son importantes para proveer un

microhábitat adecuado para la sobrevivencia del organismo (De Waal et al., 2003).

En el segundo caso, las larvas son transportadas pasivamente a través de las corrientes costeras (McShane, 1992; Guzmán del Prío et al., 2000) removiéndolas del área de liberación. Una tercera explicación pudo ser, porque los juveniles tienen comportamiento críptico (McShane, 1995), es decir que los juveniles actualmente existen cerca de los sitios de liberación, pero están ocultos en las cuevas o grietas pequeñas. Sin embargo, esta explicación de baja recuperación de juveniles es una causa difícil de probar, ya que el área de búsqueda no fue suficiente, aunado al difícil acceso, debido al intenso oleaje y la profundidad. Además, los organismos presentan una considerable movilidad (Werner et al., 1995). Por ello, se asume que la actividad de repoblación no tuvo efecto en el incremento de la población en esa área dado que la densidad de individuos colectados en Clam Bay (0.03 org/m^2) fue similar a la abundancia de la población silvestre reportada por Carreón-Palau (2000) en la temporada de otoño de 1997. Esto indica que, un número considerable de las larvas liberadas pudieron haber muerto durante y después de su asentamiento ó los juveniles podrían haber estado en su hábitat críptico y/o los juveniles podrían haber estado en algún lugar ajeno al sitio de su liberación, o la combinación de esas posibilidades. Aunque no se sabe cuantas larvas fueron liberadas en Punta Eugenia, la recaptura de juveniles liberados en esa área probablemente se facilitó por que el sitio de liberación fue una área semi-protegida en la cual la dispersión larval pudo ser limitada. Prince et al. (1988) mencionan en su trabajo que en zonas semi-protegidas la dispersión es más limitada en contraste a lo que sucede en zonas

abiertas como lo fue Clam Bay.

En un estudio de recaptura de abulón liberado *H. iris*, Tong et al. (1987) enfatizaron que la tasa de sobrevivencia es alta cuando los organismos son liberados con tallas más grandes. Kojima (1995) y De Waal y Cook (2001) también observaron una alta tasa de sobrevivencia en organismos liberados cuando la talla de los individuos se incrementó, ellos enfatizan que los factores físicos y biológicos deben ser considerados durante las actividades de repoblación, para conseguir una mejor comprensión de los factores que afectan la sobrevivencia de las semillas de abulón. Esas observaciones podrían ser suficientes para sugerir a los laboratorios de cultivo de abulón en Baja California que en sus actividades de repoblación pueden probar liberando juveniles mayores a 24 mm (De Waal y Cook, 2001), para incrementar la tasa de sobrevivencia.

Con la probabilidad de Identidad estimada asumimos que estos dos loci de microsatélites son potencialmente útiles para distinguir los organismos que provienen de los cultivos o del medio silvestre, llevando a cabo un muestreo de recaptura. En este trabajo a pesar de haber utilizado solamente dos loci de microsatélites, la probabilidad de Identidad que se estimó esta dentro del rango de la Identidad teórica que estimaron Waits et al., (2001).

En conclusión, el método utilizado en este trabajo fue de gran utilidad, debido a que facilitó evaluar la composición genética de los lotes de reproductores de origen silvestre y compararla con su progenie utilizada en los programas de repoblación de abulón azul. Solamente se deberán incluir otros loci de microsatélites como marcadores genéticos con el fin de disminuir la probabilidad

de identidad e incrementar el porcentaje de asignación de parentesco, lo cual permitirá monitorear organismos liberados en estos programas en las localidades de mayor intensidad de esta actividad. Además, la diversidad genética de los organismos en los dos laboratorios de Baja California Sur no está comprometida.

CAPITULO II

ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DE ABULÓN AZUL *Haliotis fulgens* EN BAJA CALIFORNIA, MÉXICO.

José Luis Gutiérrez-González, Pedro Cruz, Miguel Ángel del Río-Portilla, Ricardo Perez-Enriquez. 2006. Genetic structure of green abalone *Haliotis fulgens* population off Baja California, Mexico. *J. Shellfish Res.* (Sometido)

INTRODUCCIÓN

El abulón (*Haliotis* spp.) es un recurso pesquero de gran importancia económica en la costa occidental de la Península de Baja California. Su producción actual es de 285 t anuales con valor de 26 millones de dólares (Carreón-Palau et al., 2003). A pesar del alto valor comercial de la pesquería del género *Haliotis* en el ámbito mundial, existe relativamente poco conocimiento de la estructura genético poblacional de algunas especies de abulón (Withler, 2000). Existen diversos estudios sobre Haliótidos a escala mundial para conocer la estructura genética poblacional utilizando diferentes metodologías, entre las cuales se encuentra la obtención de zimogramas a partir de la aplicación de electroforesis en geles de almidón y el revelado de estas alozimas mediante técnicas de tinción. Estos métodos han probado ser adecuados para la medición de la variabilidad genética en poblaciones naturales.

La estructura genética de abulón rojo *Haliotis rufescens* ha sido estudiada con cuatro loci de alozimas (Gaffney et al., 1996), además de la diversidad haplotípica con la secuencia del gen Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) del ADN mitocondrial (ADNmt) (Burton y Tegner, 2000) y con un microsatélite (Kirby et al., 1998); con los datos generados en esos estudios se concluye que no existe diferenciación genética de esta especie. En California, Hamm y Burton (2000) encontraron diferenciación poblacional con tres loci de alozimas en *H. cracherodii*. Zúñiga et al. (2000) reportan alta homogeneidad analizando seis loci de alozimas en *H. fulgens* en algunas localidades de la parte central de Baja California. En la

misma región pero en Isla de Cedros e Islas Benitos, Del Río Portilla y González Avilés (2001) observaron diferenciación poblacional en abulón amarillo *Haliotis corrugata*. Estos resultados sugieren que cada especie de Haliótidós puede tener un comportamiento específico y ser estudiada a través de diversos marcadores genéticos. En este sentido Brown (1991) en su trabajo con *Haliotis rubra* utilizó alozimas y determinó la estructura poblacional concluyendo que sobre el manejo del “stock” de reclutamiento de esta especie debería ser de manera local, manifestando que para determinar los límites de una población necesariamente se debería usar información biológica, geográfica e hidrológica. Por otra parte existen trabajos donde se han utilizado los loci de microsatélites en Haliótidós. En Australia fueron caracterizados nueve loci de microsatélites en *H. rubra* por Evans et al. (2000) con el fin de que estos marcadores genéticos se utilizaran en beneficio de los programas de acuicultura y manejo pesquero. Elliott et al. (2000) utilizaron este tipo de marcadores genéticos en *H. rubra* para estudiar la estructura genética de esta población, confirmando lo encontrado con alozimas en poblaciones de Haliótidós Australianos.

Un conocimiento apropiado de la estructura y diversidad genética de las poblaciones de abulón es una tarea importante de ayudar a los responsables del manejo pesquero para definir los stocks pesqueros y analizar datos y modelos en términos de los límites geográficos y ecológicos de las poblaciones.

Debido a su alta variabilidad, los loci de microsatélites se han utilizado ampliamente para determinar la estructura genética de especies marinas. Para los Haliótidós, los loci de microsatélites han sido caracterizados para *H. rufescens*

(Kirby et al., 1998), *H. rubra* (Evans et al., 2000), *H. discus* (Sekino y Hara, 2001), *H. kamtschatkana* (Miller et al., 2001) y ser utilizados para la acuicultura y población natural. Recientemente Cruz et al. (2005) desarrollaron loci de microsatélites para *H. fulgens* y en el primer capítulo se demostró la posibilidad de utilizar los loci de microsatélites de *H. kamtschatkana* en *H. fulgens*.

En este capítulo se discute la diversidad genética y la diferenciación poblacional de abulón azul *Haliotis fulgens* en nueve localidades de la costa occidental de la Península de Baja California, utilizando cuatro loci de microsatélite como marcadores genéticos.

MATERIAL Y METODOS.

Obtención de muestras

Para el análisis de genética poblacional, el área de estudio comprendió la costa occidental de la Península de Baja California en bancos de las localidades de: Isla Guadalupe e Isla de Cedros B.C., Punta Eugenia, Bahía Tortugas (en esta localidad se muestrearon dos bancos, los que se mencionan como “Bahía Tortugas” y “El Corralito”), Bahía Asunción, Punta Abreojos, San Juanico e Isla Magdalena B.C.S. (Fig. 6) Las colectas fueron realizadas de febrero a junio del 2000 provenientes de las capturas comerciales por banco en cada localidad durante la temporada de pesca. El tejido (fragmento de epipodium) de 50 organismos por localidad se fijó con etanol al 95 %. La extracción del ADN se realizó utilizando el protocolo de Sweijd et al. (1998) descrito en el capítulo I.

Amplificación de Microsatélites

Se utilizaron cuatro loci para el análisis genético *Hka28*, *Hka56*, *Hfu260* y *Hful603*. Los dos primeros fueron desarrollados para *Haliotis kamtschatkana* (Miller et al., 2001), mientras que *Hfu260* ($T_a = 57^{\circ}\text{C}$) y *Hful603* ($T_a = 54^{\circ}\text{C}$) se desarrollaron para *H. fulgens* por Lojero (2002) y Cruz et al. (2005) respectivamente. Los criterios de amplificación por PCR fueron los mismos a los descritos en el Capítulo I y las temperaturas de alineamiento se presentan entre paréntesis para los dos últimos loci.

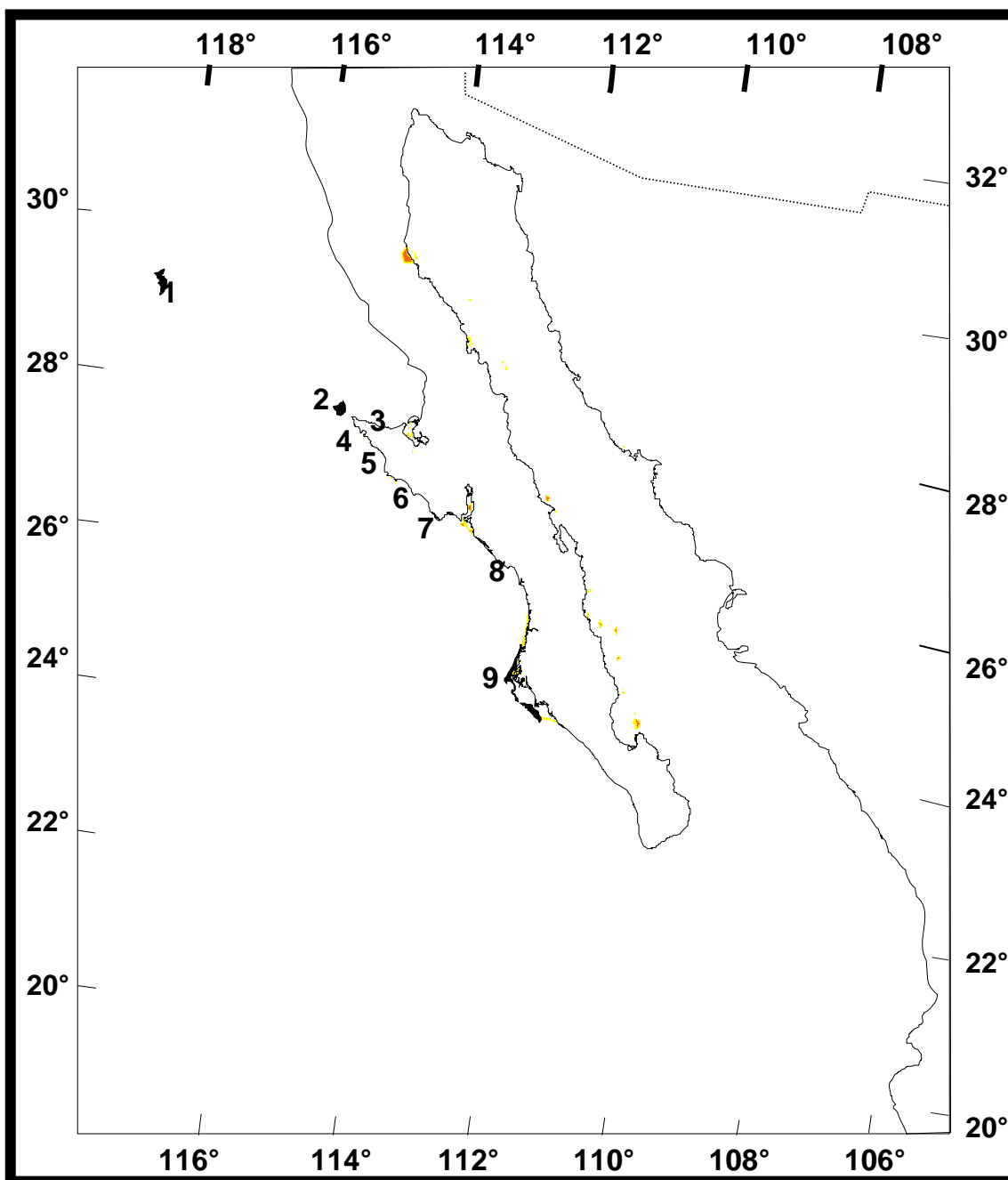


Figura 6. Localización de los sitios de muestreo de abulón azul *Haliotis fulgens*, en la Península de Baja California. 1, Isla Guadalupe; 2, Isla de Cedros; 3, Punta Eugenia; 4, B. Tortugas; 5, El Corralito; 6, B. Asunción; 7, Punta Abreojos; 8, San Juanico; 9, Isla Magdalena.

Análisis de datos

La diferenciación genética con las frecuencias alélicas se realizó usando la prueba exacta de Fisher con todos los individuos en cada una de las localidades de la población silvestre y para cada locus, utilizando el programa GENEPOP ver. 3.4 (Raymond and Rousset, 1995). Las pruebas de desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) por locus y por localidad, fueron realizadas usando pruebas de probabilidades exactas basadas sobre cadenas de Markov mediante GENEPOP ver. 3.4. Para calcular la diversidad genética, se determinó el número de alelos por locus (N_A), heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e). Se determinó la diferenciación genética mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA) utilizando el paquete ARLEQUIN ver. 2000 (Schneider et al., 2000), para conocer la estructura genética entre y dentro de las poblaciones con un nivel de significancia del 5% usando el índice de fijación de Wright (F_{ST}). La prueba de significancia se llevó a cabo comparando los F_{ST} entre poblaciones de manera pareada mediante el programa FSTAT ver. 2.9.3.2 (Goudet, 1993). Los niveles de significancia en todos los casos de análisis pareado fueron ajustados para pruebas múltiples usando la corrección de Bonferroni (Rice, 1989).

Primero se formó un solo grupo entre todas las localidades para conocer si existía diferencia poblacional entre ellas y posteriormente se formaron dos grupos después de identificar la población que fue diferente mediante el análisis pareado. Los valores de F_{ST} se basan en el Modelo del Alelos Infinitos y la distancia genética se determinó entre pares de localidades de acuerdo a Nei (1978) usando ARLEQUIN. Se hizo la prueba de aislamiento por distancia y la significancia del

coeficiente de correlación de Spearman entre la distancia genética y distancia geográfica, se evaluó con la prueba de Mantel (Mantel, 1967) con base en la distribución de 10000 permutaciones de matrices usando GENEPOP ver. 3.4. Usando la correlación lineal $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ (Slatkin, 1993) y distancia geográfica como el logaritmo de la distancia (Rousset, 1997)

RESULTADOS

Frecuencias alélicas

Las frecuencias alélicas de los cuatro loci polimórficos de las nueve poblaciones se presentan en la Fig. 7 (a, b); el patrón de distribución de frecuencias alélicas en los loci *Hka28* y *Hka56* es muy semejante entre ellas en donde la gran mayoría de los alelos presenta menos del 10 %. Para el locus *Hka28* destacan los alelos con mayor frecuencia, el 213 en Punta Eugenia en un 15 % y 221 (16 %) en Isla Guadalupe. Asimismo, se observaron alelos particulares en las poblaciones de Punta Abreojos (alelo 236), Bahía Tortugas (192, 240 y 242) y El Corralito (197 y 234). En el locus *Hka56* sobresale el alelo 120 con mayor frecuencia (20%) en Punta Eugenia. El alelo 98 se observó en Isla Guadalupe con una frecuencia de 13 % pero está ausente en las poblaciones de San Juanico, Punta Abreojos y Bahía Tortugas. También se observaron alelos particulares en este locus: para Punta Eugenia 94, 104 y 140, Punta Abreojos 99 y 142, San Juanico 102, e Isla de Cedros 113 y 117 (Fig. 7 a, b,).

Para el locus *Hfu260* las frecuencias de los alelos 196 y 199 fueron muy similares en todas las localidades, pero el de mayor frecuencia fue el 199. Los alelos particulares observados fueron el 194 y 201 con baja frecuencia para Punta Eugenia e Isla Guadalupe, respectivamente (Fig. 7 c).

Para el locus *Hful603* en Bahía Asunción el alelo 196 fue el más frecuente (52%) y el 204 fue muy similar en todas las localidades, pero el alelo 200 no lo presentó Isla Magdalena, Bahía Asunción y Punta Eugenia sin embargo no es muy

importante, y el alelo 208 solamente se presentó en Bahía Tortugas e Isla Guadalupe aunque en ambos casos con baja frecuencia (Fig. 7 c).

Diversidad genética

Se muestrearon un total de 431 organismos procedentes de la captura comercial de los nueve sitios. El nivel de polimorfismo varió sustancialmente entre los loci en un rango que va desde 4 alelos en el locus *Hfu260* hasta 36 en *Hka28*. Algunos organismos, en los cuales al menos un microsatélite no amplificó, se les pusieron la etiqueta de datos perdidos al momento de su análisis.

Los cuatro loci examinados fueron altamente polimórficos exhibiendo un elevado número de alelos y presentaron altos valores de heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) bajo las condiciones del equilibrio de Hardy-Weinberg en la mayoría de las localidades (Tabla 4).

Cuando se realizaron las pruebas de Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) de la distribución de genotipos esperados mediante las pruebas exactas de Fisher, únicamente dos de las 36 pruebas fueron significativas $P < 0.05$ después de la prueba de ajuste de Bonferroni (Rice, 1989) (Tabla 4). En cada uno de los casos se observó déficit de heterocigotos. Ese desequilibrio lo presentó Punta Eugenia en el locus *Hka28* ($P = 0.0027$) y Bahía Tortugas en el *Hka56* ($P = 0.0002$).

Las nueve localidades revelaron altos niveles de variabilidad genética. La diversidad alélica fue relativamente alta y constante para los loci *Hka28* y *Hka56* para todas las muestras (Tabla 4). La mayor cantidad de alelos se observaron en el locus *Hka28* en un rango de 21 hasta 36 en donde Punta Eugenia tuvo el menor

número de alelos y San Juanico y Bahía Tortugas el mayor. Asimismo, el número promedio de alelos por locus en San Juanico y Bahía Tortugas fue el más alto y muy similar entre ellas (14.75 y 15 respectivamente). En el locus *Hka56* se observó el número de alelos en un rango de 14 hasta 20, en donde Isla Guadalupe tuvo el menor valor y Punta Eugenia el mayor. A pesar de que Isla Guadalupe tuviera el mayor número de alelos en los loci *Hfu260* y *Hful603*, en esta localidad se observó el número promedio de alelos más bajo (11.75)

La heterocigosidad observada y esperada fue muy similar en la mayoría de las muestras en todos los loci (Tabla 4). La heterocigosidad observada promedio se presenta en un rango de 0.687 – 0.737 (promedio total de 0.715) la cual es semejante entre las nueve localidades. Isla Guadalupe presenta la heterocigosidad promedio más baja ($H_o = 0.687$), en contraste con Isla de Cedros que tiene la variación más alta ($H_o = 0.737$). El Corralito a pesar de tener un tamaño de muestra de 40 organismos, tiene una heterocigosidad observada comparable con el resto de las localidades, con una $H_o = 0.721$.

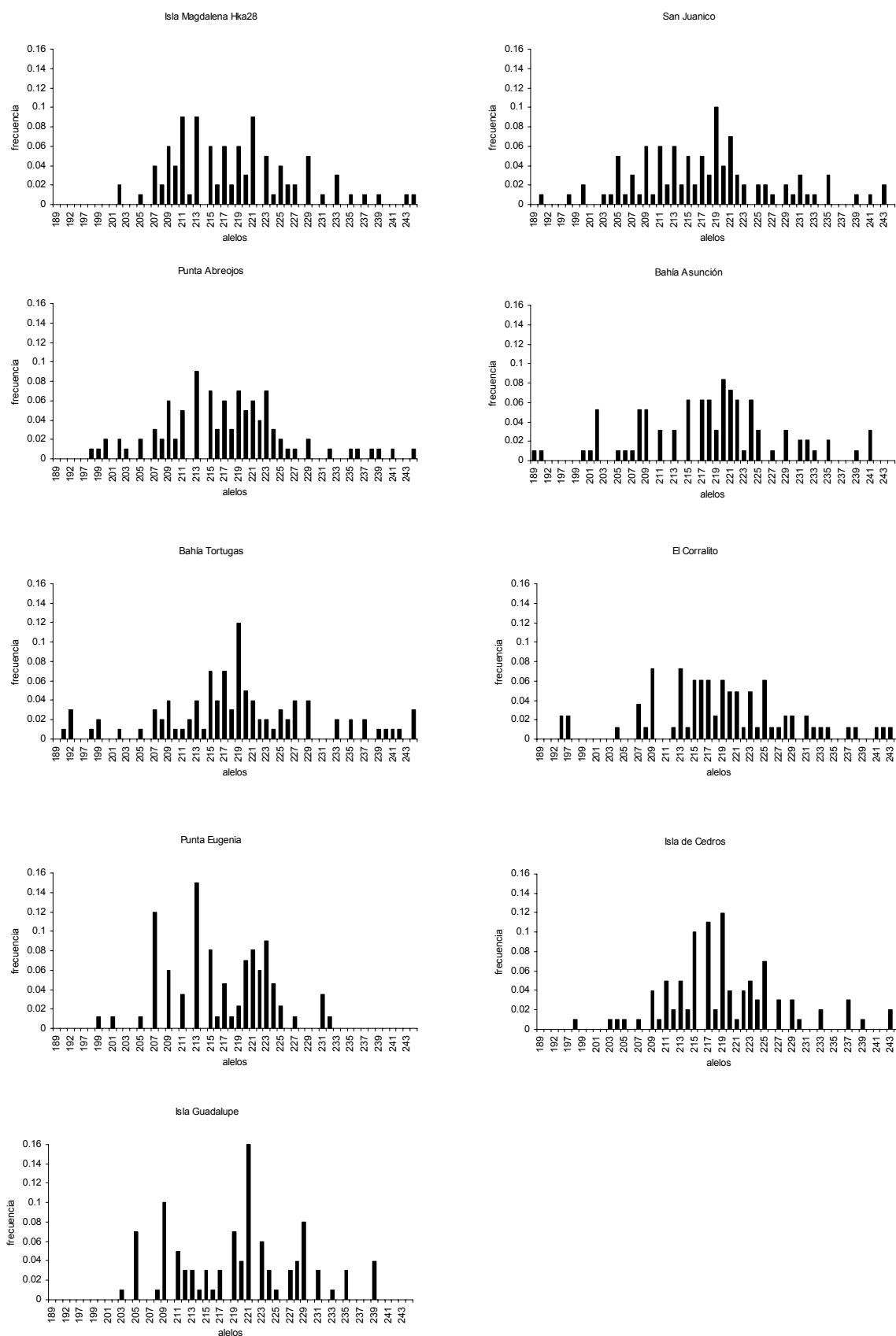


Figura. 7a. Frecuencias alélicas del locus: *Hka28*, de nueve poblaciones de *Haliotis fulgens* de la costa Occidental de la Península de B. C.

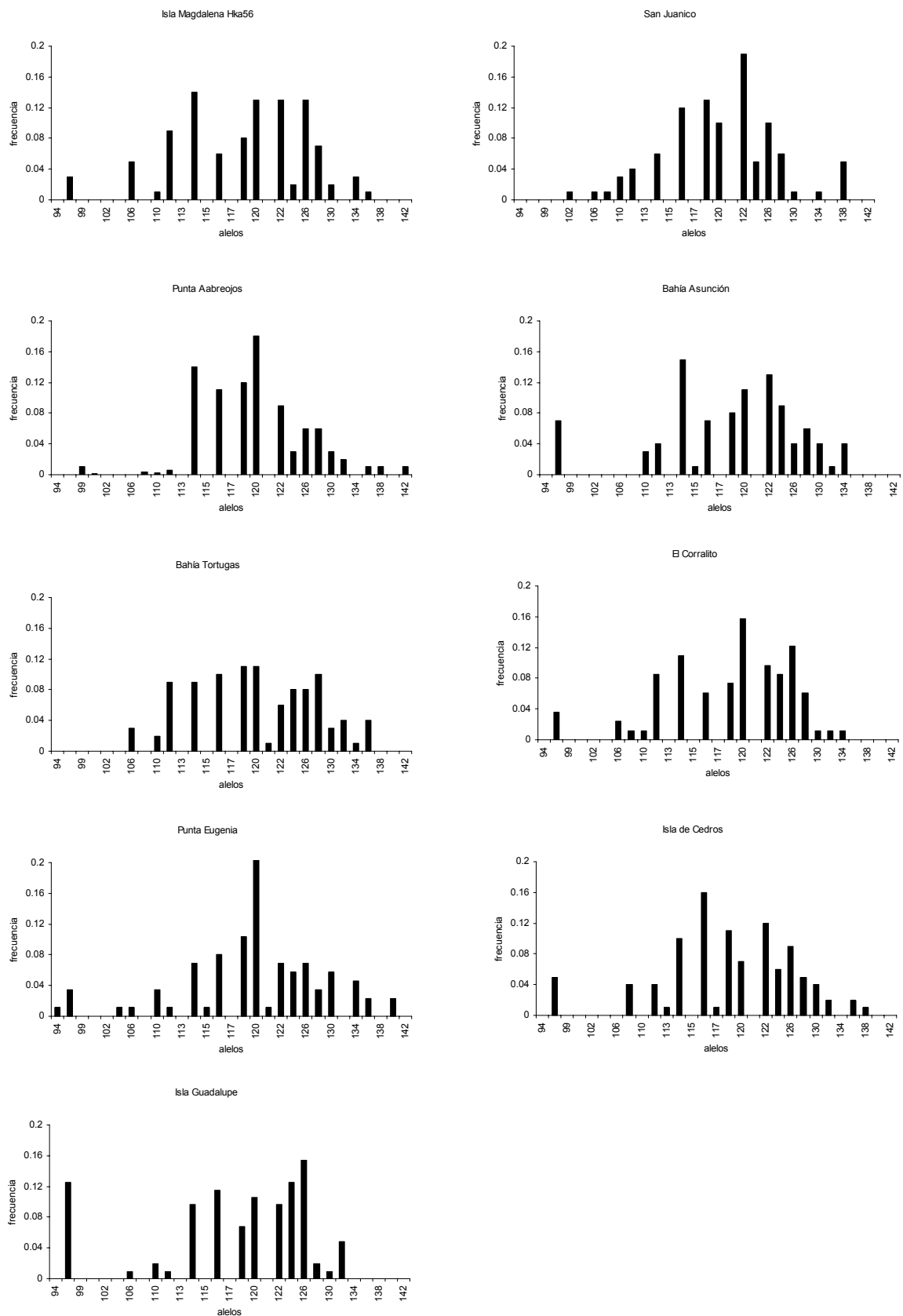


Figura. 7b. Frecuencias alélicas del locus: *Hka56*, de nueve poblaciones de *Haliotis fulgens* de la costa Occidental de la Península de B. C.

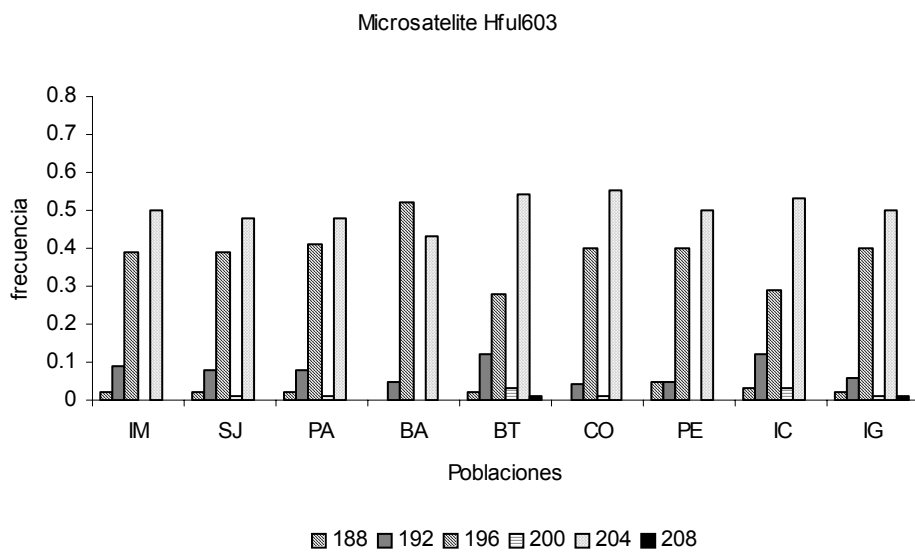
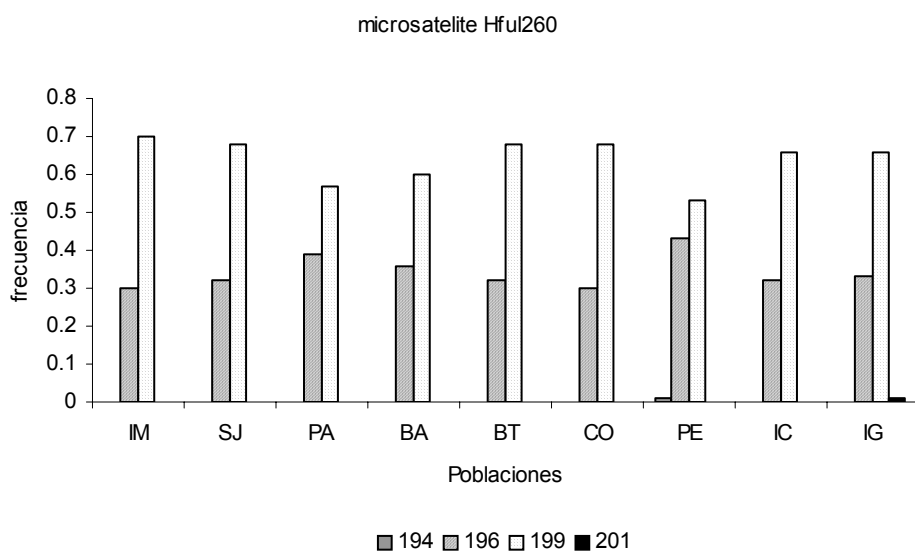


Figura. 7c. Frecuencias alélicas de los loci: *Hfu260* y *Hful603* de nueve poblaciones de *Haliotis fulgens* de la costa Occidental de la Península de B. C.

Tabla 4. Diversidad genética para cuatro loci de microsatélites en nueve muestras de *Haliotis fulgens* incluyendo el número de alelos en cada muestra; n , tamaño de muestra; H_o heterocigosidad observada; H_e , heterocigosidad esperada; *significancia del desequilibrio de Hardy-Weinberg $P < 0.05$ después de la corrección de ajuste de Bonferroni para 36 pruebas pareadas.

Loci	I.Magdalena	S.Juanico	P.Abreojos	B.Asunción	B.Tortugas	Corralito	P.Eugenia	I.Cedros	I.Guadalupe
<i>Hka28</i>									
n	50	50	50	48	50	40	43	48	51
No. alelos	29	36	33	31	36	33	21	28	24
H_o	0.900	0.940	0.980	0.917	1.000	0.950	0.837	0.918	0.882
H_e	0.957	0.966	0.962	0.962	0.964	0.966	0.934	0.947	0.939
P	0.103	0.176	0.234	0.108	1.000	0.272	0.0027*	0.130	0.054
<i>Hka56</i>									
n	50	49	50	48	50	40	43	50	52
No. alelos	15	16	18	15	16	16	20	17	14
H_o	0.920	0.939	0.940	0.979	0.780	0.950	0.954	0.940	0.846
H_e	0.910	0.902	0.908	0.918	0.928	0.915	0.915	0.919	0.904
P	0.480	0.451	0.780	0.985	0.0002*	0.894	0.818	0.775	0.098
<i>Hfu260</i>									
n	50	50	48	46	50	40	42	49	52
No. alelos	2	2	2	2	2	2	3	2	3
H_o	0.400	0.380	0.438	0.435	0.440	0.400	0.571	0.429	0.481
H_e	0.425	0.447	0.488	0.472	0.440	0.426	0.511	0.452	0.463
P	0.464	0.225	0.336	0.413	0.625	0.489	0.831	0.481	0.644
<i>Hful603</i>									
n	50	49	50	48	50	41	43	50	52
No. alelos	4	5	5	3	6	4	4	5	6
H_o	0.660	0.510	0.540	0.563	0.620	0.585	0.535	0.660	0.538
H_e	0.595	0.602	0.600	0.549	0.620	0.541	0.588	0.625	0.591
P	0.885	0.239	0.312	0.592	0.467	0.743	0.298	0.795	0.060
<i>Promedio</i>									
n	50	49.50	49.50	47.50	50.00	40.25	42.75	49.25	51.75
No. alelos	12.50	14.75	14.50	12.75	15.00	13.75	12.00	13.00	11.75
H_o	0.720	0.692	0.724	0.723	0.710	0.721	0.724	0.737	0.687
H_e	0.722	0.729	0.739	0.725	0.738	0.712	0.737	0.736	0.724

Estructura genética de la población

Se observó un alto número de alelos en los loci *Hka28* y *Hka56*. Se hicieron comparaciones de las frecuencias alélicas combinando todos los loci entre poblaciones de manera pareada con el fin de encontrar diferencias. Se pudo observar que la mayoría de los alelos observados se encuentran en las nueve poblaciones (Tabla 4 y Fig. 7).

El análisis de variancia molecular (AMOVA) comparando las nueve localidades con los cuatro loci mostró una F_{ST} de 0.00016 que a pesar de ser muy baja fue significativamente diferente de cero ($P = 0.00196$) (Tabla 5). Después de realizar la comparación entre dos grupos de poblaciones, un grupo conformado por Isla Guadalupe y el otro por el resto de las poblaciones, se pudo observar que Isla Guadalupe fue diferente significativamente ($P < 0.05$) en relación con las otras ocho localidades; esta localidad se comporta como una población aislada.

Tabla 5. Análisis de Varianza Molecular. Diferencia poblacional de *Haliotis fulgens* con cuatro loci en nueve poblaciones de B.C.S.

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	8	4.230	0.00031	0.06
Dentro de poblaciones	859	428.714	0.49909	99.94
Total	867	432.945	0.49939	
Índice de fijación F_{ST} : 0.00062				
Prueba de significancia (1023 permutaciones) F_{ST} : P = 0.00196				

Se realizaron comparaciones pareadas entre muestras indicando diferencias significativas, después de aplicar la corrección de Bonferroni (Rice, 1989) (Tabla 6), entre Isla Guadalupe y el resto de las poblaciones excepto El

Corralito. Sin embargo, cuando se excluyó del análisis a Isla Guadalupe el resto de las poblaciones no fueron significativamente diferentes entre ellas.

Tabla 6. Análisis pareado de diferenciación poblacional. IM, Isla Magdalena; SJ, San Juanico; PA, Punta Abrejos; BA, Bahía Asunción; BT, Bahía Tortugas; CO, Corralito; PE, Punta Eugenia; IC, Isla de Cedros; IG, Isla Guadalupe.

	SJ	PA	BA	BT	CO	PE	IC	IG
IM	0.4608	0.5458	0.0838	0.3191	0.6591	0.0055	0.0130	0.0003*
SJ		0.8552	0.0527	0.2778	0.4647	0.0019	0.1666	0.00083*
PA			0.2058	0.6222	0.5005	0.1636	0.2091	0.0003*
BA				0.0055	0.2258	0.0958	0.0011*	0.0011*
BT					0.5916	0.0003*	0.2252	0.0003*
CO						0.0222	0.0572	0.0028
PE							0.0003*	0.0003*
IC								0.0003*

* Valor significativo $P < 0.00138$ (después del ajuste de Bonferroni).

De acuerdo a la prueba de Mantel, incluyendo todas las poblaciones, se detectó que la correlación entre la distancia genética y geográfica estimada a través de F_{ST} ($r = 0.21520$; $\alpha = 0.05$) no fue significativa, indicando que las diferencias genéticas no podrían ser explicadas por la distancia geográfica (Fig. 8).

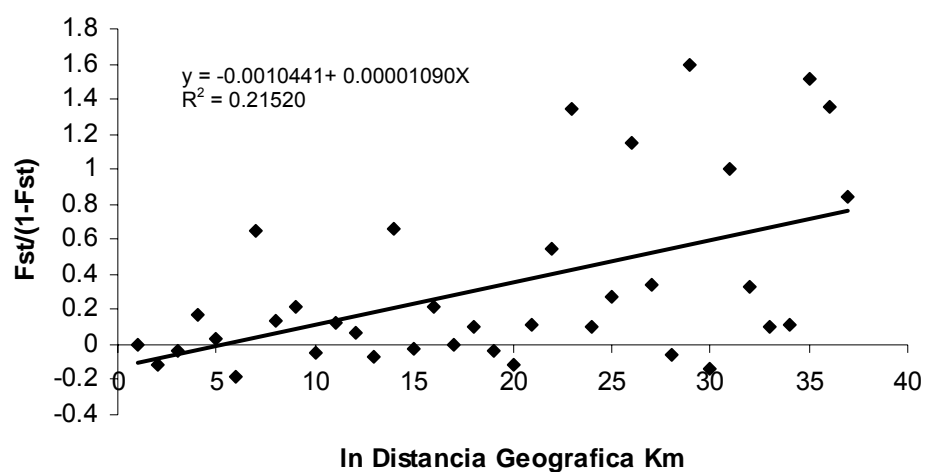


Figura. 8. Aislamiento por distancia: regresión entre valores pareados de F_{ST} y el logaritmo de la distancia geográfica de *Haliotis fulgens* en Baja California Sur.

DISCUSIÓN

Recientemente, se han desarrollado varios estudios que han mostrado el uso de microsatélites, alozimas, ADN mitocondrial y otros marcadores genéticos para análisis de la estructura genética de poblaciones (Pérez-Enríquez y Taniguchi, 1999; Huang et al., 2000; Zúñiga et al., 2000; Del Río-Portilla y González-Avilés, 2001; Conod et al., 2002; Klinbunga, et al., 2003; Li et al., 2004; Valles et al., 2004). Para este trabajo, se utilizaron loci de microsatélites con alto nivel de polimorfismo y se eligieron las zonas más importantes de la península de Baja California, México, en donde se realiza la pesquería de abulón azul. Esta fue la razón de mayor interés por conocer el material genético representativo de la zona de distribución de este recurso pesquero.

En trabajos previos realizados con poblaciones de abulón de Baja California, se mencionan parámetros de la variabilidad genética utilizando alozimas. Zúñiga et al. (2000) reportaron un número promedio de alelos por locus de 1.9 y heterocigosidad observada promedio de 0.1186, en los bancos de *Haliotis fulgens*. Del Río-Portilla y González-Avilés (2001), reportaron 2.8 promedio de alelos y una heterocigosidad promedio de 0.1568, y observaron diferenciación genética entre las poblaciones de Isla de Cedros e Islas Benitos con *H. corrugata*. Los loci de microsatélites *Hful603* y *Hfu260* utilizados en este estudio presentaron bajo número de alelos similar a las alozimas, pero con alta heterocigosidad. A pesar de haber encontrado altos niveles de variabilidad genética (Num. Promedio de alelos = 13.33 y H_o prom. = 0.715) en las nueve poblaciones, esta variabilidad fue baja en comparación a los resultados que fueron reportados con loci de

microsatélites por Withler et al. (2001) en poblaciones de *Haliotis kamtschatkana* en Canadá (Num alelos prom. = 25.5 y H_o prom = 0.89). Esa diferencia puede ser a que Withler et al. (2001) utilizaron 12 loci de microsatélites para su análisis con *H. kamtschatkana* (Withler et al., 2001). Sin embargo, a pesar de que en este trabajo se usaron solamente cuatro loci, éstos fueron suficientemente polimórficos y variables, lo que permitió observar una alta diversidad genética con *H. fulgens* en estas localidades estudiadas de Baja California.

Prácticamente todas las localidades estuvieron en Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) con la única excepción de dos localidades (Punta Eugenia en el locus *Hka28* y Bahía Tortugas en el locus *Hka56*), lo que indica esta población se entrecruza azarosamente, a diferencia de lo que se ha observado en *H. fulgens* (Zúñiga et al., 2000) con alozimas, así como con otras especies de Haliótidos. En este sentido, Huang et al. (2000) Withler et al. (2001), Del Río-Portilla y González-Avilés (2001), Conod et al. (2002) y Maynard et al. (2004) observaron desequilibrio de Hardy-Weinberg en las poblaciones estudiadas, argumentando que el déficit de heterocigotos encontrado probablemente se deba a la presencia de alelos nulos y que la endogamia también esté contribuyendo a este déficit debido a un restringido reclutamiento larval. Cabe mencionar que el déficit de heterocigotos ha sido frecuentemente observado en invertebrados marinos, incluyendo a los moluscos (Gaffney et al., 1990; Bierne et al., 1998).

El análisis de diferenciación genética con base en las frecuencias alélicas mostró que con pocas excepciones, la mayoría de los alelos se presentaron en todos los sitios. Sin embargo, en dos loci (*Hka28* y *Hka56*) no se encontró ningún

alelo predominante y la mayoría de las frecuencias variaron sin un patrón específico. Esto puede ser una indicación de la homogeneidad entre poblaciones o un eventual efecto del tamaño de muestra. Aun cuando el número de individuos muestreados de cada población fue basado en las sugerencias de Ruzzante (1998) quién mostró que las muestras de 50 o más individuos por población son apropiados para los estudios de la población basados en loci de microsatélites, no podemos cerrar la posibilidad de que un tamaño de muestra mayor pudiera revelar alguna diferencia no detectada, particularmente por el elevado número de alelos observados en dos loci.

El AMOVA y el análisis pareado entre los sitios muestreados con *H. fulgens* usando F_{ST} , revelaron dos casos importantes en la diferenciación poblacional. Por un lado, se presentó diferenciación significativa entre Isla Guadalupe y el resto de las localidades, y por el otro una baja diferenciación entre las localidades de la Península. En el primer caso, es muy probable que esa diferencia se deba a un restringido flujo genético causado por la distancia geográfica (Isla Guadalupe se localiza a 303 Km alejada de la localidad más cercana que es Isla de Cedros), y a los procesos oceanográficos locales como corrientes, movimientos de mareas y vientos propios del lugar. En estudios de estructura genético poblacional en *H. rubra* con diversos marcadores genéticos (RAPDs, microsatélites, RFLPs) Conod et al. (2002) y Huang et al. (2000) revelaron diferencias poblacionales entre las localidades de Victoria y Tasmania en Australia, atribuyendo la diferencia a que esas localidades se encuentran a 240 Km aproximadamente de separación por el canal "Bass Strait" y consecuentemente de barreras físicas, como corrientes

locales y arrecifes. En aquellas regiones en donde existe un hábitat continuo, aún a lo largo de grandes distancias, diversas especies como *H. rubra* y *H. roei* muestran bajos niveles de diferenciación genética (Brown 1991; Hancock 2000; Conod et al., 2002).

En contraste, en poblaciones de Baja California, Del Río-Portilla y González-Avilés (2001) reportan diferenciación genética entre las localidades de Isla de Cedros e Islas Benitos en abulón amarillo *H. corrugata* ubicadas geográficamente cercanas. De manera similar, Brown y Murray (1992) encontraron diferencias genéticas entre poblaciones cercanas de *H. laevigata*. Lo anterior sugeriría que no se requieren grandes distancias geográficas para que exista diferenciación poblacional en algunas especies de Haliótidós.

Diversos estudios ecológicos sugieren que la dispersión larval de Haliótidós se lleva a cabo por cortas distancias (Sluczanowski, 1984; Prince et al., 1987, 1988; McShane et al., 1988; Shepherd et al., 1992; Tegner, 1992; Guzmán de Próo et al., 2000; Rogers-Bennett et al., 2004) debido a factores como: un corto periodo larvario de 3 a 5 días (Leighton, 1974), la topografía e hidrodinámica de los bancos y la densodependencia de la abundancia de adultos sexualmente maduros (Breen, 1992). Sin embargo, tanto los resultados de este trabajo como los obtenidos en otras especies indican que mientras no existan barreras geográficas u oceanográficas evidentes, el flujo genético entre bancos no se ve limitado. Dicho de otra manera, es probable que la presencia continua de bancos a lo largo de la región desde Isla de Cedros hasta Isla Magdalena asegure la conexión y el flujo larval, manteniéndose el flujo genético entre estas localidades

costeras. Este comportamiento es similar a lo reportado con *H. kamtschatkana*. (Withler et al., 2001)

Por consiguiente, estas localidades costeras no se estimarían como unidades genéticamente diferentes entre ellas, sino que se comportan como una población panmíctica. Esto concuerda con las observaciones de Zúñiga et al. (2000), quienes no encontraron diferencias entre las localidades de la región central de Baja California desde el norte de Punta Eugenia hasta Bahía Tortugas.

Lo anterior permitiría rechazar la hipótesis de que el abulón azul se encuentra genéticamente aislado en subpoblaciones por factores como un reducido tamaño efectivo de la población ocasionado por la sobrepesca (Muciño et al., 1997) y la baja tasa de dispersión causada por el patrón hidrodinámico dominante en la parte central de Baja California (Guzmán del Prío et al., 2000). Aun cuando en este trabajo no se estimó el tamaño efectivo de la población, la elevada diversidad genética (expresada por el número de alelos por locus) permite suponer que la sobrepesca aun no ha mermado el banco genético disponible.

Por otra parte, tomando en cuenta que los picos de desove en la zona de distribución de abulón son entre agosto y diciembre (Guzmán del Prío, 1992) es posible suponer que las corrientes costeras juegan un papel importante en el transporte larval. Existen dos corrientes que son consideradas de gran interés por la importancia en el transporte de nutrientes: El sistema de Corriente de California de la costa occidental de la Península Baja California que incluye a la Corriente de California que transporta agua subártica del Pacífico hacia el ecuador, que durante la primavera alcanza su máxima intensidad y se debilita notablemente durante

verano/otoño, mientras que la contracorriente costera se intensifica de otoño/invierno y acarrea agua de origen tropical hacia el norte (Lluch-Belda, 2000). Esta última coincide con la temporada de desove y habría la posibilidad que esta contracorriente costera influya sobre los movimientos hidrodinámicos costeros locales (mareas, oleaje) que probablemente ayuden a transportar al abulón durante su periodo de vida larval (3-5) días. Se sabe que en Baja California Sur, se presentan flujos hacia el polo solamente en algunas localidades, asociados con la morfología de la costa y con afloramientos locales (Durazo et al., 2005). Cabe señalar, sin embargo, que debido a que poco se conoce sobre la deriva larval entre los bancos de Baja California, se requieren más estudios ecológicos para probar la hipótesis sobre la dirección y magnitud de la migración larval.

Por último, lo que faltaría para continuar estudiando en el ámbito genético de esta especie, será identificar los bancos o unidades reproductivas de mayor importancia que se encargan de mantener el aporte larval y genético de abulón en las localidades estudiadas dentro de la zona de distribución del recurso para que sirvan de unidades de manejo pesquero, manteniendo un número adecuado de reproductores con el fin de conservar y aprovechar la especie.

DISCUSION GENERAL

*Diversidad genética de *Haliotis fulgens**

La variación genética está relacionada con la composición genética del individuo y su variación a nivel del ADN o gen. Esta área es examinada a través del uso de varios marcadores genéticos, como las alozimas, ADN mitocondrial, o marcadores de ADN nucleares como los microsatélites. Los marcadores genéticos son vitales para estudiar varios aspectos, por ejemplo en programas de mejoramiento genético, en los cuales se debe realizar la cuantificación de la variación genética, endogamia y número efectivo de reproductores (Elliott, 2000).

Este estudio proporciona un primer análisis de estructura genética en abulón azul *Haliotis fulgens*, basado en loci de microsatélites tanto de la población silvestre como de lotes de laboratorio. Los niveles relativamente altos de diversidad genética y bajos de diferenciación genética entre las distintas muestras de los sitios geográficos, proporcionan una importante información de apoyo para el establecimiento de los programas de manejo y conservación de poblaciones silvestres que son explotadas de manera comercial, así como en la selección de reproductores en las actividades de acuicultura.

En los programas de repoblación en los que participan las localidades donde existen laboratorios de producción de abulón (principalmente: La Bocana; Bahía Tortugas; Punta Eugenia B.C.S., e Isla de Cedros B.C.) el análisis de la diversidad genética es un elemento de suma importancia para el manejo. Los resultados de este trabajo indican que los lotes de juveniles que se produjeron en

los laboratorios de Bahía Tortugas y Punta Eugenia cuentan con una alta variabilidad genética, probablemente debido a que en estos dos laboratorios se realizó adecuadamente el manejo de los progenitores durante el proceso reproductivo. Por ello se considera que si durante las actividades de repoblación hubiera asentamiento de algunos organismos producto de estos desoves, la diversidad genética de la población silvestre no quedaría comprometida. Guzmán del Prío et al. (2004) comentan en su estudio sobre seguimiento de marcado y recaptura comparando juveniles silvestres con cultivados, que el desplazamiento y desarrollo de crecimiento fue menor en los cultivados que en los silvestres sin embargo esas diferencia no son significativas.

Por ello se sugiere dar continuidad en la aplicación de este conocimiento generado, mediante el monitoreo de diversidad genética de los progenitores y los juveniles derivados de los programas de cultivo que son utilizados en las actividades de la repoblación, buscando maximizar los números efectivos de reproductores. Para este fin, diversos autores recomiendan utilizar durante la temporada reproductiva de 50 a 100 individuos con igual proporción de sexos (Withler et al., 2001). La cruce de organismos por parejas es particularmente recomendada, debido a que se ha observado que en desoves masivos no necesariamente se asegura un número grande de adultos que contribuyan genéticamente a la siguiente generación (Hedgecock y Zly, 1990). También será importante el manejo de crías de la población producida para evitar el entrecruzamiento entre parientes cercanos (Maynard et al., 2004),

Los programas de manejo de los recursos pesqueros son básicos, ya que para recomendar la cuota de captura, primero se requiere conocer el tamaño de la población con el fin de conservar la biomasa y el reclutamiento. Con base en el conocimiento que se ha generado sobre la estructura poblacional de abulón azul y conociendo la diversidad genética de la población silvestre de esta especie, se proporcionan más argumentos que servirán para manejar esta pesquería de abulón, con el fin de mantener el número efectivo de la población. Esto significa mantener la densidad de la población de abulón azul en las localidades estudiadas lo que permitirá conservar esa alta diversidad genética en la población silvestre. De igual manera el monitoreo de la diversidad genética de la población silvestre servirá a las autoridades de la administración pesquera para poner atención en la población silvestre cuando esa diversidad genética lleve la tendencia hacia abajo, evitando que la densidad del recurso disminuya, corrigiendo su estrategia de manejo para no poner en riesgo esa diversidad genética de la población, manteniendo los bancos abuloneros con mayor variabilidad genética y conservar a los que tienen menos hasta su recuperación. La importancia de mantener la variabilidad genética, radica en que constituye el material de partida sobre el que actúan los agentes que producen los cambios de la estructura genética de las poblaciones. Existen estudios en donde se ha observado baja diversidad genética en poblaciones que han sufrido cuellos de botella como el que reportaron Hamm y Burton (2000) en *H. cracherodii*.

A pesar de considerarse que la pesquería de *Haliotis fulgens* está colapsada (Shepherd et al., 1998; Gluyas-Millan y Talavera-Maya, 2003), este

estudio demuestra que la diversidad genética permanece alta, indicando que la población se encuentra genéticamente estable y con potencial para la recuperación, debido a que podría tener la capacidad de soportar los cambios climáticos y enfermedades a los que están expuestos todos los organismos silvestres. Esta es una información relevante para los administradores pesqueros ya que éstos resultados muestran expectativas para mantener y aumentar la densidad de la población con un adecuado manejo pesquero.

Diferenciación intraespecífica

El manejo pesquero tiene como uno de sus principales objetivos la necesidad de asegurar la sustentabilidad del recurso. Esto no es fácil, debido a que las comunidades biológicas son muy variables por naturaleza en espacio y tiempo y adicionándole los impactos de la pesca que a menudo son muy mal entendidas. Los datos científicos requeridos para manejo de pesquerías se incluyen principalmente, estimaciones de abundancia, productividad e información de la dinámica del “stock” (Ward, 2000). La unidad genética reproductora es usualmente denominado “stock” en biología pesquera (esto es aproximadamente equivalente a una población a un genetista) (Thorpe *et al.*, 2000), para la identificación de “stock” (Unidades reproductoras) y unidades de conservación, a partir de este estudio con abulón azul, se sugiere que la continuidad de este tipo de estudios se dirijan a identificar las unidades reproductoras más importantes por localidad, por lo que se requiere principalmente delimitar e identificar áreas de muestreo a menor escala, que para esta pesquería de abulón se denominan

bancos, involucrando estudios de tipo ecológicos para poderlos diferenciar fenotípicamente.

Por consiguiente, el conocimiento que se generó sobre la diversidad genética, deberá ser una herramienta básica que sirva para el manejo de esta pesquería, manteniendo el nivel de explotación adecuado para no poner en riesgo la diversidad genética, evitando disminuir la densidad de organismos provocado por la sobreexplotación del recurso, que consecuentemente disminuye el número efectivo de la población, por lo que se sugiere que durante la explotación de este recurso se sigan aplicando la modalidad de rotación de bancos abuloneros durante su actividad pesquera para dar espacio de recuperación del banco que se explota y mantener su poza genética. De igual manera se recomienda establecer periódicamente el monitoreo de la diversidad genética tanto de bancos como de zonas de pesca como un seguimiento genético para el mantenimiento sano de esta pesquería.

CONCLUSIONES

Los loci de microsatélites que se utilizaron en este estudio mostraron altos niveles de variabilidad genética en comparación a los reportados con alozimas en estudios con poblaciones naturales del abulón azul (*Haliotis fulgens*), y se detectó diferenciación genética poblacional entre Isla Guadalupe con el resto de las localidades ubicadas a lo largo de la costa occidental de la Península de Baja California.

En los programas de repoblación realizados en Bahía Tortugas y Punta Eugenia no se puso en riesgo la variabilidad genética en los lotes de las crías producidas en noviembre y diciembre del 2000, debido a que la pérdida de alelos de padres a hijos no fue significativa.

Los estudios de genética, basados en loci de microsatélites con altos niveles de variación, son útiles en el diseño de estrategias del manejo de reproductores en programas de cultivo del abulón azul.

La necesidad para explicar apropiadamente unidades de manejo (Stock) para el abulón azul, requiere del desarrollo de estudios ecológicos y genéticos adicionales empleando un mayor rango de marcadores moleculares aplicados en la población silvestre.

LITERATURA CITADA

- Allendorf, F. W. & N. Ryman. 1987. Genetic management of hatchery stocks. **En:** Ryman, N., y Uter, F. (Eds). *Population genetics and fishery management*. University of Washington, USA pp 141-159.
- Balloux, F. & N. Lugon-Moulin. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11: 155-165.
- Bierne, N., S. Laurney, Y. Naciri-Graven & F. Bonhomme. 1998. Early effect of inbreeding as revealed by microsatellite analyses on *Ostrea edulis* larvae. *Genetics*. 148: 1893-1906.
- Boudry, P., B. Collet, F. Cornette, V. Hervouet & F. Bonhomme. 2002. High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. *Aquaculture*. 204: 283-296.
- Breen, P. A. 1992. A review of models used for stock assessment in abalone fisheries. **En:** Shepherd, S. A., M.J. Tegner & S.A. Guzmán-del Prío. (Eds). *Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture*. Proc. 1st Intern. Symp. Abalone. Fishing News Books. Oxford, London, pp.
- Brown, L.D. 1991. Genetic variation and population structure in the blacklip abalone, *Haliotis rubra*. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 42: 47-90.
- Brown, L. D. & N. D. Murray. 1992. Population genetics, gene flow, and stock structure in *Haliotis rubra* and *Haliotis laevis*. **En:** Shepherd, S. A., M.J. Tegner & S.A. Guzmán-del Prío. (Eds). *Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture*. Proc. 1st Intern. Symp. Abalone. Fishing News Books. Oxford, London, pp. 24-33.
- Burton, R.S. & M. Tegner. 2000. Enhancement of red abalone *Haliotis rufescens* stocks at San Miguel Island: reassessing a success story. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 202: 303-308.
- Carreón P.L. 2000. Microhábitat, distribución y abundancia de juveniles de abulón, *Haliotis fulgens* y *H. corrugata* en Bahía Tortugas, B.C.S. México. *Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Escuela de Ciencias Biológicas: Sección de estudios de posgrado e investigación*. México, D.F. 69 pp.
- Carreón, P.L., S. A. Guzmán del Prío, P. J. Belmar, L. J. Carrillo & F.R. Herrera. 2003. Microhábitat y biota asociada de juveniles de abulón *Haliotis fulgens* y *H. corrugata* en Bahía Tortugas, B. C. S. México. *Ciencias Marinas*. 29(3): 325-341.

- Conod, N., J. P. Bartlett, B. S. Evans & N. Elliott. 2002. Comparison of mitochondrial and nuclear DNA analyses of population structure in the blacklip abalone *Haliotis rubra* Leach. *Mar. Freshwater Res.* 53: 711-718.
- Cross, T.F. 2000. Genetic implications of translocation and stocking of fish species, with particular reference to Western Australia. *Aquaculture Res* 31: 83-94.
- Cruz, P., A. M. Ibarra, G. Fiore-Amaral, C. E. Galindo-Sánchez & G. Mendoza-Carrión. 2005. Isolation of microsatellite loci in green abalone (*Haliotis fulgens*) and cross-species amplification in two other North American red (*Haliotis rufescens*) and pink (*Haliotis corrugata*) abalones. *Mol. Ecol. Notes. Primer Note.* 853-855.
- Diario Oficial de la Federación. 1981. Acuerdo mediante el cual se establecen medidas de regulación para la extracción de abulón. *D.O.F.* Sept. 22 de 1981.
- Diario Oficial de la Federación. 1993. Norma Oficial Mexicana. NOM-005-PESC-1993, Para regular el aprovechamiento de las poblaciones de las distintas especies de abulón en aguas de jurisdicción Federal de la Península de Baja California. *D.O.F.* 01, septiembre de 1993.
- Diario Oficial de la Federación. 2004. Acuerdo mediante el cual se establecen medidas de regulación para la extracción de abulón. *D.O.F.* Marzo 15 de 2004.
- Daume, S., S. Brand-Gardner & W.J. Wolkerling. 1999. Preferential settlement of abalone larvae: diatom films vs. non-geniculate coralline red algae. *Aquaculture.* 174 (3-4): 243-254.
- Davis, G.E. 1995. Recruitment of juvenile abalone (*Haliotis* spp.) measured in artificial habitats. *Mar. Freshwater Res.* 46: 549-554.
- De la Rosa, V. J. & F. Rodríguez Romero. 1988. Aplicabilidad de la variabilidad genética a la pesquería del Ostión americano *Crasostrea virginica*. Gmelin del Golfo de México. *Ciencias Marinas.* 14 (4): 53-56.
- De Waal, S. & P. Cook. 2001. Quantifying the physical and biological attributes of successful ocean seeding sites for farm-reared juvenile abalone (*Haliotis midae*). *J. Shellfish Res.* 20 (2): 857-861.
- De Waal, S.W.P., G. M. Branch & R. Navarro. 2003. Interpreting evidence of dispersal by *Haliotis midae* juveniles ceded in the wild. *Aquaculture* 221: 299-310.

- Del Río-Portilla, M. A. & J. G. González-Avilés. 2001. Population genetics of the yellow abalone, *Haliotis corrugata*, in Cedros and San Benitos islands: a preliminary survey. *J. Shellfish Res.* 20 (2): 765-770.
- Departamento de Pesca. 1980. Análisis de la pesquería de abulón en Baja California y fundamentos biológicos para un nuevo régimen de explotación del recurso. *Informe Técnico del Instituto Nacional de la Pesca* (inédito).
- Díaz-Viloria, N. 2000. Cambios en la composición genética evaluados mediante alozimas en progenies de abulón azul (*Haliotis fulgens*; Philippi, 1845) producidos en laboratorios de Baja California Sur. *Tesis Profesional de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz B.C.S.* 60 pp.
- Dillon, R.T. & J. J. Manzi. 1987. Hard clam, *Mercenaria mercenaria*, broodstocks: genetic drift and loss of rare alleles without reduction in heterozygosity. *Aquaculture.* 60: 99-105.
- Dobzhanski, T., F.J. Ayala, G.L. Stebbins & J.W. Valentine. 1977. *Evolution.* H. H. Freeman and Co. San Francisco. 522 pp.
- Doyle, R.W., C. Herbinger, C.T. Taggart & S. Lochmann. 1995. Use of DNA microsatellite polymorphism to analyze genetic correlations between hatchery and Natural fitness. *Am. Fisheries Soc.* 15: 205-211.
- Durand, P., T. W. Katsuhiko & F. Blanc. 1993. Genetic variation in wild and hatchery stocks of black pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, from Japan. *Aquaculture.* 110: 27-40.
- Durazo, R., G. Gaxiola-Castro, B. Lavaniegos, R. Castro-Valdez, J. Gómez-Valdés & A. Da S. Mascarenhas Jr. 2005. Condiciones oceanográficas frente a la costa occidental de Baja California, 2002-2003: Influencia de un El Niño débil y del incremento de agua Subártica. *Ciencias Marinas.* 31 (3): 537-552.
- Elliott, N.G., B. Evans, N. Conod, J. Bartlett, R. Officer N. & Sweijd. 2000. Application of molecular genetics to the understanding of abalone population structure – Australian and South African case studies. *J. Shellfish Res.* 19 (1): 510.
- Elliott, N. G. 2000. Genetic improvement programs in abalone: what is the future?. *Aquaculture Res.* 31: 51-59.

- Evans, B., J. Bartlett, N. Sweijd, P. Cook & N.G. Elliot. 2004. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery produced abalone in Australia (*Haliotis rubra*) and South Africa (*Haliotis midae*). *Aquaculture*. 233: 109-127.
- Evans, B., W.R. White & G.N. Elliott. 2000. Characterization of microsatellite loci in the Australian blacklip abalone (*Haliotis rubra*, Leach). *Mol. Ecol.* 19 (8): 1183-1184.
- FAO. 1993. Report of the Expert Consultation on Utilization and Conservation of aquatic genetic resources. *FAO. Fish. Rep.* 491. 58 pp.
- Gaffney, P. M., T.M. Scott, R. K. Koehn & W. J. Diehl. 1990. Interrelationships of heterozygosity, growth rate and heterozygote deficiencies in the coot clam, *Mulinia lateralis*. *Genetics*. 124: 687-699.
- Gaffney, P. M., V. P. Rubin, D. Hedgecock, D. A. Powers, G. Morris & L. Herford. 1996. Genetic effects of artificial propagation: signals from wild and hatchery populations of red abalone in California. *Aquaculture*. 143: 257-266.
- Gall, G.A.E. 1987. Inbreeding. **En:** *Population genetics and fishery management*. Ryman, N. & Uter, F. (Eds). University of Washington, USA pp 47-87.
- Gluyas-Millan, M.G. & J. Talavera-Maya. 2003. Composición por tallas y edades de las poblaciones de abulón *Haliotis fulgens* y *H. corrugata* de la zona de Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas*. 29 (1): 89-101.
- González-Avilés, G. & S. A. Shepherd. 1996. Growth and survival of the Blue abalone *Haliotis fulgens* in barrels at Cedros Island, Baja California, with a review of abalone barrel culture. *Aquaculture* 140: 169-176.
- Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (vesion 2.9.3).
- Gutiérrez-González, J. L. 2000. Variabilidad genética de cuatro poblaciones de abulón azul *Haliotis fulgens*, en la Costa Occidental de Baja California. *Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California Sur*. La Paz B.C.S. México. 49 pp.
- Gutiérrez-González, J. L. & R. Pérez-Enríquez. 2005. A genetic evaluation of stock enhancement of blue abalone *Haliotis fulgens* in Baja California, Mexico. *Aquaculture*. 247: 233-242.

- Guzmán-del Prío, S. A. 1992. A review of the biology of abalone and its fishery in Mexico. **En:** Shepherd, S. A., M.J. Tegner & S.A. Guzmán-del Prío. (Eds). *Abalone of the World: Biology, Fisheries and culture*. Proc. 1st Intern. Symp. Abalone. Fishing News Books. Oxford, London, pp 341-360.
- Guzmán del Prío, S.A., J. Pineda, B.J. Molina, F. Uribe, R. Aguilar, M. Andrade, G. León, V. Marín & C.E. Castro. 1980. Análisis de la pesquería del abulón de Baja California: fundamentos biológicos para un nuevo régimen de explotación del recurso. *Informe Técnico del Instituto Nacional de la Pesca* (documento interno no publicado):1-294.
- Guzmán del Prío, L. Correón-Palau, J. Belmar-Perez, J. Carrillo. & L. R. Herrera-Fregoso. 2003. Effects of the “El Niño” event on the recruitment of benthic invertebrates in Bahía Tortugas, Baja California Sur. *Geofísica Internacional*. 42(3): 429-438.
- Guzmán-del Prío, S.A., F. Salinas., O. Zaytev., J. Belmar-Perez & J. Carrillo-Laguna. 2000. Potential dispersion of reproductive products and larval stages of abalone (*Haliotis* spp.) as a function of hydrodynamics of Bahía Tortugas, Mexico. *J. Shellfish Res.* 19 (2): 869-881.
- Guzmán-del Prío, S.A., J. Carrillo-Laguna., J. Belmar-Perez., L. Correón-Palau & A Castro. 2004. Transplanting of wild and cultivated juveniles of green abalone (*Haliotis fulgens* Philippi 1845): Growth and survival. *J. Shellfish Res.* 23 (3): 855-860.
- Hamm. D.E. & R.S. Burton. 2000. Population genetics of black abalone, *Haliotis cracherodii*, along the central California coast. *J. Experimental Mar. Biol. and Ecol.* 254: 235-247.
- Hancock, B. 2000. Genetic subdivision of Roe’s abalone, *Haliotis roei* Grey (Mollusca: Gastropoda), in South-Western Australia. *Mar. Freshwater Res.* 51: 679-87.
- Hansen, M.M., D. E. Ruzzante, E. E. Nielsen, & K. L. D. Mensberg. 2000. Microsatellite and mitochondrial DNA polymorphism reveals life-history dependent interbreeding between hatchery and wild brown trout (*Salmo trutta* L.). *Mol. Ecol* 9: 583-594.
- Hedgecock, D. & F. Sly. 1990. Genetic drift and effective population sizes of hatchery- propagated stocks of the pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*. 88: 21-38.

- Herbinger, C.M., M.B. Vercaemer, B. Gjetvaj, & R. K. O'Dor. 1998. Absence genetic differentiation among geographically close sea scallop (*Placopecten magellanicus*) beds with cDNA and microsatellites markers. *J. Shellfish Res.* 17 (1): 117-122.
- Hindar, K., N. Ryman & F. Utter. 1991. Genetic effects of cultured fish on natural fish populations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 945-957.
- Huang, B., R. Peakeall, & P.J. Hanna. 2000. Analysis of genetic structure of blacklip abalone (*Haliotis rubra*) populations using RAPD, minisatellite and microsatellite markers. *Mar. Biol.* 16 (2): 207-216.
- Huvet, A., K. Balabaud, N. Bierne & P. Boudry. 2001. Microsatellite analysis of 6-hour-old embryos reveals a preferential intraspecific fertilization between cupped oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata*. *Mar. Biotechnol.* 3: 448-453.
- Jarayabhan, P., P. Pripue, S. Klinbunga & A. Tassanakajon. 2002. Identification of species-diagnostic markers of abalone in Thailand using PCR-RFLP of 16S rDNA. *Fisheries Sci.* 68: 1091-1094.
- Kirby, V. L., R. Villa & D. A. Powers. 1998. Identification of microsatellites in the California red abalone, *Haliotis rufescens*. *J. Shellfish Res.* 17 : 801-804.
- Klinbunga, S., P. Pripue, N. Khammtong, N. Puanglarp, A. Tassanakajon, P. Jarayabhand, I. Hirono, T. Aoki & P. Menasveta. 2003. Genetic diversity and molecular markers of the tropical abalone (*Haliotis asinina*) in Thailand. *Mar Biotechnol.* 5: 505-517.
- Kojima, H. 1995. Evaluation of abalone stock enhancement through the release of hatchery-reared seeds. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 46 (3): 689-695.
- Leighton, D. L. 1974. The influence of temperature on larval and juvenile growth in three species of southern California abalone. *Fish. Bull.* 72: 1137-1145.
- León, J. G. & M. Muciño. 1996. Pesquería del Abulón. **En:** Casas, V.M. y G. Ponce-Diaz (Eds). *Estudio del potencial Pesquero y Acuicola de Baja California Sur.* I 15-41.
- Li, Z & Chen, C. 2004. Genetic structure of cultured *Haliotis diversicolor supertexta* (Reeve) populations. *J. Shellfish Res.* 23 (4): 1135-1137.

- Lluch-Belda Daniel. 2000. Centros de Actividad Biológica (en la Costa Occidental de Baja California) **En:** BAC. Centros de Actividad Biológica del Pacífico Mexicano. D. Lluch-Belda, J. Elorduy-Goray, S.E. Lluch-Cota y G. Ponce-Díaz (Eds). México: *Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste*, S.S. 2000. pp. 49-64.
- Lojero-Zepeda, G. A. 2002. Aislamiento de microsatélites de abulón azul *Haliotis fulgens*. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Los Mochis, Sin. México. 63 pp.
- Mackiewicz, M., D. E. Fletcher, D. Wilkins, A. DeWoodys & C. Avise. 2002. A genetic assessment of parentage in a natural population of dollar sunfish (*Lepomis marginatus*) based on microsatellite markers. *Mol. Ecol.* 11: 1877-1883.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research.* 27: 209-220.
- Marshall, T.C, J. Slate, L. E. B. Kruuk & J. M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood – based paternity inference in natural population. *Mol. Ecol.* 7: 639-655.
- Maynard, B, P.J. Hanna, & J.H. Benzie. 2004. Microsatellite DNA analysis of southeast Australian *Haliotis laevis* (Dovovan) populations – implications for Ranching in Port Phillip Bay. *J. Shellfish Res.* 23 (4): 1195-2000.
- Mazón, S. J.M., M. Muciño, & L. A. Bazúa. 1996. Cultivo de Abulón. **En:** Casas - Valdés, M. y G. Ponce – Díaz (Eds). *Estudio Potencial Pesquero y Acuicola de Baja California Sur*. México, pp 475 – 511.
- McConnell, S., L. Hamilton, D. Dorris, D. Cook, D. Paquet, P. Bentzen & J. Wright. 1995. Isolation of salmonid microsatellite loci and their application to the population genetics of Canadian east coast stocks of Atlantic salmon. *Aquaculture.* 137: 19-30.
- McShane, P.E., K. P. Black & M. G. Smith. 1988. Recruitment processes in *Haliotis rubra* (Mollusca Gasteropoda) and regional hydrodynamics in southeastern Australia imply localized dispersal larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 124: 175-203.
- McShane, P.E. 1992. The early life history of abalone: a review. **En:** Shepherd, S.A., Tegner, M.J., y Guzmán del Proo, S.A. (eds). *Abalone of the world: biology fisheries and culture*. Fishing News Books.Blackwell, Oxford. Pp 120-140.

- McShane, P.E. 1995. Recruitment variation in abalone: its importance to fisheries management. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 46 (3): 555-570.
- Mgaya. Y.D., E. M. Gosling, J. P. Mercer & J. Donlon. 1995. Genetic variation at there polymorphic loci in wild and hatchery stocks of the abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus. *Aquaculture.* 136: 71-80.
- Miller, K.M., K. Laberee, K. H. Kaukinen & R. E. Wihltler. 2001. Development of microsatellite loci in pinto abalone (*Haliotis kamtschatkana*). *Mol. Ecol. Notes.* 1: 315-317.
- Muchmore, M. E., G. W. Moy., W. J. Swanson. & V. D. Vacquier. 1998. Direct sequencing of genomic DNA for characterization of a satellite DNA in five species of Easter Pacific abalone. *Mol. Mar. Biol. Biotech.* 7 (1): 1-6.
- Muciño-Díaz, M. & P. Sierra-Rodríguez. 2005. Estado de las poblaciones de abulón azul (*Haliotis fulgens*) y abulón amarillo *H. corrugata* por zona reglamentada en la costa Occidental de la Península de Baja California. Temporada 2004-2005. *Informe de investigación, Instituto Nacional de la Pesca.* 17 pp.
- Muciño-Díaz, M., P. Sierra-Rodríguez, J. R. Turrubiates-Morales & J. L. Gutiérrez-González. 2005. Pesquerías del océano Pacífico: Abulón. **EN:** Sustentabilidad y pesca responsable en México, Evaluación y Manejo. *SAGARPA-INP.* (En Prensa).
- Muciño-Díaz, M., P. Sierra-Rodríguez, J. A. Vélez-Barajas, E. Zarate-Becerra, M. A. Reineke-Reyes, J. R. Turrubiates-Morales, J. Talavera-Maya & G. León-Carballo. 1997. Pesquerías del océano Pacífico: Abulón. **EN:** Sustentabilidad y pesca responsable en México, Evaluación y Manejo. *SEMARNAP-INP.* 217-262.
- Muciño-Díaz, M., P. Sierra-Rodríguez, J. A. Vélez-Barajas, E. Zarate-Becerra, J. Talavera-Maya, J. R. Turrubiates-Morales, F. Caballero-Alegría & M. A. Reineke-Reyes. 1999. Pesquerías del océano Pacífico: Abulón. **EN:** Sustentabilidad y pesca responsable en México, Evaluación y Manejo. *SAGARPA-INP.* 120-158.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics.* 89: 583-590.
- O'Connell, M. & J.M. Wright. 1997. Microsatellite DNA in fishes. *Fish Biol and Fisheries* 7: 331-363.

- O'Reilly, P. & J.M. Wright. 1995. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. *J. Fish Biol.* 47 (suplement. A) 29-55.
- O'Reilly, P.T., C. Herbinger & J. M. Wright. 1998. Analysis of parentage determination in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellites. *Anim. Genet.* 29: 363-370.
- Ortíz-Quintanilla, M. 1980. Un sistema para inducir al desove de abulón en los campos pesqueros de Baja California, México. *Memorias del segundo simposio latinoamericano de acuicultura*, 1: 871-881.
- Paetkau, D. & C. Strobeck. 1994. Microsatellite analysis of genetic variation in black bear population. *Mol. Ecol.* 3: 489-495.
- Pearse, D.E., C. M. Eckermen, F. J. Jansen & J. C. Avise. 2001. A genetic analogue of `mark-recapture` methods for estimating population size: an approach based on molecular parentage assessments. *Mol. Ecol.* 10: 2711-2718.
- Perez-Enriquez, R., M. Takai & N. Taniguchi. 1999. Genetic variability and pedigree tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement, based on microsatellite DNA markers. *Aquaculture*. 173: 413-423.
- Perez-Enriquez, R. & N. Taniguchi. 1999. Use of microsatellites DNA as genetic tags for the assessment of a stock enhancement program of red sea bream. *Fisheries Science*. 65 (3): 374-379.
- Ponce-Díaz, G., A. Vega-Velázquez, M. Ramade-Villanueva, G. León-Carballo & R. Franco-Santiago. 1998. Socioeconomic characteristics of the abalone fishery along the best coast of Baja California Peninsula, Mexico. *J. Shellfish Res.* 17(3): 853-857.
- Poteaux, C., F. Bonhomme & P. Berrebi. 1999. Microsatellite polymorphism and genetic impact of restocking in Mediterranean brown trout (*Salmo trutta* L.). *Heredity*. 82: 645-653.
- Prince, J. D., T. L. Sellers, W. B. Ford & S. R. Talbot. 1987. Experimental evidence for limited dispersal of haliotid larvae (*Haliotis*; Mollusca: Gasteropoda). *Aust. J. Mar. Freshwater. Res.* 36: 701-706.

- Prince, J. D., T. L. Sellers, W. B. Ford & S. R. Talbot. 1988. A method for Ageing the abalone *Haliotis rubra* (Mollusca: Gasteropoda). *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 39: 167-175.
- Raymond, M. & F. Rousset. 2003. GENEPOP (version 3.4): population genetics software for exact test and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248-249.
- Reilly, A. & R.D. Ward. 1999. Microsatellite loci to determine population structure of the Patagonian tooth fish *Dissostichus elegnoide*. *Mol. Ecol.* 8 (10): 1751-1754.
- Reinecke, R. M.A. 1997. Estructura poblacional, abundancia y aspectos reproductivos de *Haliotis fulgens* (Philippi,1845), de Cabo San Lázaro en Isla Magdalena, B.C.S. *Memoria- experiencia profesional. Universidad Autónoma de Baja California Sur.* México. 67 pp.
- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical test. *Evolution* 43: 223-225.
- Rogers-Bennet, L., B. L. Allen & G. E. Davis. 2004. Measuring abalone (*Haliotis* spp.) recruitment in California to examine recruitment overfishing and recovery criteria. *J. Shellfish Res.* 23 (4): 1201-1207.
- Ruzzante, D.E. 1998. A comparison of several measures of genetic distance and population structure with microsatellite data: bias and sampling variance. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55: 1-14.
- Rousset, F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics.* 145: 1219-1228.
- Ryman, N. 1991. Conservation genetics considerations in fishery management. *J. Fish. Biol.* 39: 211-224, (supplement A).
- Salas Garza, A. E. & R. Searcy-Bernal. 1992. Desarrollo y estado actual del cultivo de abulón en México. **En:** Shepherd, S. A., M.J. Tegner & S.A. Guzmán-del Prío. (Eds.). *Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture.* Proc. 1st Intern. Symp. Abalone. Fishing News Books. Oxford, London, pp 538-546.
- Sasaki, R. & S. A. Shepherd. 1995. Larval dispersal and recruitment of *Haliotis discus hannai* and *Tegula* spp, on Miyagi coasts, Japan. *Mar. Freshwater Res.* 46: 519-529.
- Sasaki, R. & S. A. Shepherd. 2001. Ecology and post-settlement survival of the ezo abalone, *Haliotis discus hannai*, on Miyagi coasts, Japan. *J. Shellfish Res.* 20 (2): 619-626.

- Schneider, S., D. Roessli & L. Excoffier. 2000. Arlequin (versión 2003): A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Sekino M. & M. Hara. 2001. Microsatellite DNA loci in Pacific abalone *Haliotis discus discus* (Mollusca Gastropoda, Haliotidae). *Mol. Ecol. Notes* 1: 8-10.
- Selvamani, M.J., M. D. Sandie & M. D. Bernard. 2001. Microsatellite genotyping of individual abalone larvae: Parentage assignment in aquaculture. *Mar. Biotechnol.* 3: 478-485.
- Sevilla, M.L. 1971. Desarrollo gonádico del abulón azul *Haliotis fulgens* Phillipi. *Rev. de la Sociedad Mex. de Historia Nat. México* XXXI: 129-139.
- Shepherd, S. A. 1973. Studies on southern Australian abalone. *Aus. J. Mar. Freshwater Res.* 24: 217-257
- Shepherd, S.A., S.A. Guzmán del Prío, J.R. Turrubiates-Morales, J. Belmar, J.L. Baker, & P.R. Sluczanowski. 1991. Growth, size at maturity, and egg-per-recruit analysis of the abalone *Haliotis fulgens* in Baja California. *Veliger* 34: 324-330.
- Shepherd, S.A. & P.A. Breen. 1992. Mortality in abalone: its estimation variability and causes. **En:** Shepherd, S.A., Tegner, M.J., y Guzmán del Prío, S.A. (Eds). *Abalone of the world: biology fisheries and culture*. Fishing News Books. Blackwell, Oxford, UK. pp 276-204.
- Shepherd, S.A. & L. D. Brown. 1993. What is an abalone stock: Implications for the role of refugia in conservation. *Can. J. Fish. and Aquac. Sci.* 50: 2001-2009.
- Shepherd, S.A., D. Al-Wahaibi & A. R. Al-Azri. 1995. Shell growth of the Omani abalone *Haliotis mariae*. *Aust. J. Mar. Fresh. Res.* 46 (3): 575-582.
- Shepherd, S.A. & J. R. Turrubiates-Morales. 1997. A practical chronology for the abalone *Haliotis fulgens*. *Molluscan Research.* 18: 219-226.
- Shepherd, S.A., J. R. Turrubiates & K. May. 1998. Decline of the abalone fishery at La Natividad, Mexico: overfishing or climate change?. *J. Shellfish Res.* 17 (3): 839-846.
- Shepherd, S.A., P.A Preece & R. W. G. White. 2000. Tired nature's sweet restorer? Ecology of abalone (*Haliotis* spp.) stock enhancement in Australia. **En:** A. Campbell (Ed). *Workshop of rebuilding abalone stocks in British Columbia. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci* 130: 84-97.

- Sierra, R.P., E. Zarate, M. Muciño & A. Vélez. 1998. Incorporación de la variabilidad ambiental en los modelos de producción excedente e incertidumbre en el proceso de ajuste. *Documento Técnico* del Instituto Nacional de la Pesca (inédito).
- Sluczanowski, P.R. 1984. A management oriented model of an abalone fishery whose stocks are subject to pulse fishing. *Can. J. Fish. and Aquatic. Sci.* 41: 1008-14.
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution.* 47: 264-279.
- Smith, P.J. & A. M. Conroy. 1992. Loss of genetic in hatchery – produced abalone, *Haliotis iris*. *New Zea. J. Mar. Freshwater. Res.* 26: 81-85.
- Sweijd, N., R. C. K. Bowie, A. L. Lopata, A. M. Marinaki, E. H. Harley & P. A Cook. (1998). A PCR technique for forensic, species-level identification of abalone tissue. *J. Shellfish Res.* 17: 889-895.
- Taniguchi, N., K. Sumantadinata & S. Iyama. 1983. Genetic change in the first and second generations of hatchery stock of black sea bream. *Aquaculture.* 35: 309-320.
- Tarr, R.J.Q. 1995 Growth and movement of the South African abalone *Haliotis midae*: a reassessment. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 46 (3): 583-590.
- Tegner, M.J. & R. A. Butler. 1985. The survival and mortality of seeded and native red abalones, *Haliotis rufescens*, on the Palos Verdes Peninsula. *Cal. fish and Game.* 71(3): 150-163.
- Tegner, M.J., J. D. DeMartini & K. A. Karpov. 1992. The California red abalone fishery: a case study in complexity. **En:** Shepherd, S.A., Tegner, M.J., y Guzmán del Prío, S.A. (eds). *Abalone of the world: biology fisheries and culture*. Fishing News Books. Blackwell, Oxford, UK. pp 370-383.
- Thorpe, J.P., A.M. Solé-Cava & P.C. Watts. 2000. Exploited marine invertebrates: genetics and fisheries. *Hydrobiological.* 420: 165-184.
- Tong, L.J., G. A. Moss & J. Illingworth. 1987. Enhancement of natural population of the abalone, *Haliotis iris*, using cultured larvae. *Aquaculture.* 62: 67-72.
- Valles-Jiménez R., P. Cruz & R. Perez-Enriquez. (2004). Population Genetics Structure of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: Microsatellite DNA Variation. *Mar Biotechnol.* 6(5): 475-484.

- Vega, A.D., D. Lluch-Belda, M. Muciño, G. León, S. Hernández, D. Lluch-Cota, M. Ramade & G. Espinoza. 1997. Development, perspectives and management of lobster and abalone fisheries off northwest México under a limited access system. **En:** Hancock, D.A., Smith, D.C., Grant, A., y Beumer, J.P. (eds). *Developing and sustaining World Fisheries Res.* CSIRO, Collingwood, Victoria, Australia. pp 136-142.
- Vega, V.A., J.G. León & M. Muciño. 1994. Sinopsis de información biológico pesquera y acuicultura de los abulones (*Haliotis* spp.) de la Península de Baja California, México. *Documento Interno.* SEPESCA/CIBNOR.
- Waits, L.P., G. Luikart & P. Taberlet. 2001. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions, guidelines. *Mol. Ecol.* 10: 249-256.
- Ward, R.D. 2000. Genetics in fisheries management. *Hydrobiological.* 420: 191-201.
- Was, A. & R. Wene. 2002. Genetic differentiation in hatchery and wild sea trout (*Salmo trutta*) in the Southern Baltic at microsatellite loci. *Aquaculture* 204: 493-506.
- Werner, I., S. Flothmann & G. Burnell. 1995. Behavior studies on the mobility of two species of abalone (*Haliotis tuberculata* and *H. discus hannai*) on sand: implications for reseeded programs. *Mar. Freshwater Res.* 46: 681-688.
- Weir, B. S. & C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution.* 38: 1358-1370.
- Withler, R. E. 2000. Genetic tools for identification and conservation of exploited abalone (*Haliotis* spp.) species. *Can. Spec. Publ. J. Fish. Aquat. Sci.* 130: 101-110.
- Withler, R. E., A. Campbell, S. Li, K. M. Miller, D. Brouwer & B. G. Lucas. 2001. High levels of genetic variation in Northern Abalone *Haliotis Kamtschatkana* of British Columbia. *Research Document. 97. Canadian Science Advisory Secretariat.* 27 pp.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution.* 19: 395-420.
- Zúñiga, G., S.A. Guzmán del Prío, R. Cisneros & G. Rodríguez. 2000. Population genetic analysis of the abalone *Haliotis fulgens* (Mollusk: Gastropoda) in Baja California, Mexico. *J. Shellfish Res.* 19 (2): 853-859.

APENDICE I

(a)

	Individuo				Loci			
	162				Hka28		Hka56	
	Hka28		Hka56		A	B	A	B
Machos	Alelo A	Alelo B	Alelo A	Alelo B	220	241	125	135
1	218	233	99	123	-	-	-	-
2	213	217	115	119	-	-	-	-
3	220	241	115	115	A	B	-	-
4	217	220	111	117	A	-	-	-
5	209	218	115	117	-	-	-	-
6	218	249	121	129	-	-	-	-
→ 7	213	220	115	125	A	-	A	-
8	218	219	115	125	-	-	A	-
Hembras								
9	218	221	107	117	-	-	-	-
10	220	245	125	137	A	-	A	-
11	213	223	99	113	-	-	-	-
12	213	223	95	127	-	-	-	-
→ 13	223	241	99	135	-	B	-	B
14	211	220	105	119	A	-	-	-
15	214	225	115	123	-	-	-	-
16	215	220	105	115	A	-	-	-

=SI(O(\$H\$4=B11,\$H\$4=C11),"A","-")
=SI(O(\$J\$5=D17,\$J\$5=E17),"B","-")

(b)

	Individuo				Loci			
	161				220	223	113	115
Machos	Hka28 Alelo A	Hka28 Alelo B	Hka56 Alelo A	Hka56 Alelo B				
1	218	233	99	123	-	-	-	-
2	213	217	115	119	-	-	-	B
→ 3	220	241	115	115	A	-	-	B
4	217	220	111	117	A	-	-	-
5	209	218	115	117	-	-	-	B
6	218	249	121	129	-	-	-	-
→ 7	213	220	115	125	A	-	-	B
8	218	219	115	125	-	-	-	B
Hembras								
9	218	221	107	117	-	-	-	-
10	220	245	125	137	A	-	-	-
→ 11	213	223	99	113	-	B	A	-
12	213	223	95	127	-	B	-	-
13	223	241	99	135	-	B	-	-
14	211	220	105	119	A	-	-	-
15	214	225	115	123	-	-	-	B
16	215	220	105	115	A	-	-	B

Ejemplo de prueba de parentesco. Las figuras indican la comparación entre los genotipos de los reproductores y las crías en los loci Hka28 y Hka56 (con las marcas positivas de A y B, respectivamente). En el ejemplo (a) macho #7 y hembra #13 fue la pareja que produjo a la cría #162. En el ejemplo (b) podría haber más de una pareja de padres de la cría #161 (hembra #11 con cualquiera de los machos #3 o #7).