

EL OSTRICULTIVO DE BAHIA DE SAN QUINTIN, B.C., MEXICO: ASPECTOS GENETICOS

OYSTER CULTURE IN SAN QUINTIN BAY, B.C., MEXICO: GENETIC ASPECTS

Jorge de La Rosa-Vélez¹
María Teresa Gutiérrez Wing²
Rufino Radilla Camacho³

¹ Facultad de Ciencias Marinas
Universidad Autónoma de Baja California
Apartado Postal 453
Ensenada, Baja California, México 22800

² Centro de Investigación Científica y
Educación Superior de Ensenada
Apartado Postal 2732
Ensenada, Baja California, México 22800

³ Escuela Superior de Ciencias
Universidad Autónoma de Baja California
Apartado Postal 453
Ensenada, Baja California, México 22800

Ciencias Marinas (1991), Vol. 17-3, No. 3, pp. 133-145.

RESUMEN

Con el fin de evaluar el estado del recurso genético del cultivo ostrícola de la Bahía de San Quintín, se efectuó un análisis electroforético de siete loci génicos en una muestra de 50 organismos de la especie *Crassostrea gigas*. Los resultados obtenidos respecto a la variabilidad genética fueron comparados con tres poblaciones naturales del Japón, cuyos niveles de variación genética ya habían sido reportados en la literatura. Además, se estimaron las similitudes y distancias genéticas de la población de San Quintín analizada, con respecto a las poblaciones japonesas, deduciéndose la posibilidad de que el origen de la población que se utilizó para iniciar el cultivo en la Bahía de San Quintín, haya sido la población japonesa de Miyagi. Se puede apreciar el mantenimiento de los niveles de variación genética en la población mexicana, sin embargo, cuatro de siete loci analizados presentaron deficiencia de heterocigotos. Las posibles causas de este fenómeno en este caso son: selección natural en contra de los genotipos heterocigotos en el nuevo ambiente experimentado por la especie, endogamia producida por el sistema de cruzamiento exhibido y/o el efecto de Wahlund provocado por la introducción indiscriminada de semilla procedente de diferentes laboratorios productores en la costa oeste de Norteamérica.

ABSTRACT

In order to assess the genetic resource of San Quintín Bay oyster culture, an electrophoretic analysis on seven genetic loci from 50 organism sample of *Crassostrea gigas* was performed. The values of genetic variability obtained were compared with those found previously by other authors in three Japanese populations. Besides, genetic similarities and distance were estimated between the San Quintín population and Japanese population, obtaining evidence on the probable origin

of the San Quintin population in the Japanese population of Miyagi. Maintenance of genetic variability was evident in the Mexican population, however, heterozygosity deficiency was detected in four out of seven loci assayed. The most probable causes of this outcome are: natural selection against heterozygote genotypes in the new environment experienced by the species; inbreeding produced by means of the mating system employed and/or Wahlund effect provoked by the indiscriminate introduction of spat from different American Coast hatcheries.

INTRODUCCION

El ostión japonés *Crassostrea gigas* Thunberg fue introducido en la bahía de San Quintín, B.C., con fines de cultivo en 1973. La semilla provino de un laboratorio de producción ubicado en el estado de Washington, EUA que, a su vez, inició su actividad ostricultora con semilla procedente de Japón (Islas Olivares, 1975).

Desde la implementación del cultivo piloto, el desarrollo de los ostiones fue exitoso, ya que se obtuvieron cosechas en aproximadamente ocho meses. Esta tasa de crecimiento tan acelerada, que supera la de los cultivos en Washington, está dada por la continuidad en el desarrollo, sin el marcado retardo invernal observado en latitudes mayores (Islas Olivares, 1975).

La continuidad de la producción ostrícola en esta localidad se ha logrado por la introducción periódica de semilla de diversos laboratorios y granjas de los estados de Oregon y Washington, aunque sin ningún control ni registro (Gutiérrez Wing, 1988).

C. gigas es considerada como una especie altamente adecuada para ser cultivada y representa una importante fuente de divisas para el Japón, quien exporta la semilla en volúmenes considerables a Norteamérica y Europa. Ozaki y Fujio (1985) atribuyen el éxito de la implantación de poblaciones de *C. gigas* en diversos ambientes, a una capacidad ecológica superior otorgada, muy probablemente, por los altos niveles de variabilidad genética que presenta esta especie. Todos los reportes de variación genética publicados hasta ahora para distintas poblaciones naturales y cultivadas del ostión japonés, indican niveles de heterocigosis media superiores al 20% (Buroker *et al.*, 1975; Buroker *et al.*, 1979; Gosling *et al.*, 1982; Fujio *et al.*, 1983; Ozaki y Fujio, 1985). Este valor supera a los reportados para 17 especies de la familia Ostreidae (Ozaki y Fujio, 1985).

A pesar de la gran potencialidad del recurso y del éxito obtenido durante su cultivo en aguas de la bahía de San Quintín, mediante

INTRODUCTION

The Japanese oyster *Crassostrea gigas* Thunberg was introduced in San Quintín Bay, B.C., with culture purposes, in 1973. Spat came from a commercial hatchery in Washington State, U.S.A. that started off its oyster cultures with Japanese spat (Islas-Olivares, 1975).

Since the beginning of the culture, oyster development was successful, and harvests were obtained in about eight months. This accelerated growth rate, exceeding the Washington cultures, is given by developmental continuity, without the winter delay observed in higher latitudes (Islas-Olivares, 1975).

Continuity in oyster production in this locality has been achieved by the periodical introduction of spat from a diversity of laboratories and hatcheries in the states of Oregon and Washington, although without scoring, nor any kind of inner control (Gutiérrez Wing, 1988).

C. gigas is regarded as a highly suitable species for aquaculture. It represents an important source of income for Japan by means of considerable volumes of spat exportations to North America and Europe. Ozaki and Fujio (1985) ascribe the *C. gigas* population implantation success in diverse environments to a superior ecological fitness rendered, likely, by the high genetic variability levels shown by this species. Every reports on genetic variation of natural or cultured populations of Japanese oysters published up to now, show mean heterozygosity levels higher than 20 % (Buroker *et al.*, 1975; Buroker *et al.*, 1979; Gosling *et al.*, 1982; Fujio *et al.*, 1983; Ozaki and Fujio, 1985). This figure exceeds the ones reported for 17 species of the Ostreidae family (Ozaki and Fujio, 1985).

In spite of the resource's great potentiality and the San Quintin Bay culture success, a high larvae mortality was scored in experiments performed in our laboratory, when we mated oysters collected in the San Quintin culture area. Following field observa-

experimentos en nuestro laboratorio, se obtuvo una alta mortalidad de larvas al efectuar cruzamientos con ostiones procedentes de ese cultivo. Según nuestras observaciones en el campo, esta situación es salvada por los ostricultores de San Quintín llevando al desove a un número considerable de reproductores. Por otro lado, se han utilizado a los mismos individuos como reproductores por espacio de cinco o seis años. Estas medidas prácticas aplicadas sin ningún conocimiento profundo del fenómeno biológico subyacente, pueden llegar a tener consecuencias en el cultivo a mediano o largo plazo.

El reconocimiento y el seguimiento del recurso genético son actividades que pueden evitar, en un momento dado, que una inversión prometedora se convierta en un fracaso económico. Tanto en las granjas japonesas como en las de Norteamérica, se ha invertido una gran cantidad de esfuerzo en investigación para ganar conocimiento sobre la genética de la especie en cultivo. Estos programas han sido dirigidos hacia la caracterización de la estructura genética poblacional de los cultivos, para poder comparar a éstos con las poblaciones naturales y, así, identificar las modificaciones genéticas sufridas al llevar a cabo la reducción del tamaño de población mediante la siembra en la granja. De esta manera, se han investigado los efectos de la endogamia (Beattie *et al.*, 1987), de la selección artificial y el apareamiento sistemático (Hershberg *et al.*, 1984), el efecto de determinados genotipos en la sobrevivencia y la tasa de crecimiento (Sugita y Fujio, 1982), la heredabilidad de caracteres de importancia para la ostricultura (Lannan, 1972), la factibilidad de la selección de líneas genéticas con resistencia a las infestaciones (Buroker *et al.*, 1975), etc.

Cuando una población se lleva al cultivo es de esperarse una reducción de los niveles de variación, por un "efecto del fundador" artificial. El tamaño de población se reduce y los fenómenos genéticos aleatorios, como la deriva genética, aparecen. Además, en el caso de la población cultivada en la bahía de San Quintín, el hecho de que este es el cultivo implementado en la más baja latitud, implica presiones ambientales selectivas no experimentadas antes por la especie, que deben estar influyendo en la composición genética de la población. Por este motivo, consideramos importante estimar, en relación a las poblaciones naturales originales del Japón, los niveles de variabilidad genética de la

San Quintín breeders dodge the situation by carrying out spawnings with a considerable number of parents. On the other hand, the same individuals have been used as parents for five or six years. These empirical measures applied without any deep knowledge of the biological underlying phenomena may result in undesirable consequences for the culture upon the time.

Assessing and monitoring of the genetic resource are activities that can avoid a financial failure in a given moment. Japanese as well as North American hatcheries, have invested paramount efforts in scientific research, in order to gain knowledge about genetics of cultured species. These programs have been directed to the characterization of population genetics structure of cultures, to be able to compare them with natural populations, and, thus, to identify genetic modifications undergone by the population when its size is reduced in the culture. In this way, inbreeding effects (Beattie, *et al.*, 1987), artificial selection and assortative mating (Hershberger *et al.*, 1984), some genotype effects on surviving and growth rate (Sugita y Fujio, 1982), heredability of important features for oyster culture (Lannan, 1972), feasibility of selection of genetic lines with infestation resistance (Buroker *et al.*, 1975), etc., have been investigated.

When a population is cultivated there is likely to be reduction in variation by an artificial "founder effect". Population size is reduced, and random genetic phenomena, like random genetic drift, appear. Moreover, the San Quintín Bay *C. gigas* population is the one cultured in the southernmost latitude. This fact implies environmental selective pressures never experienced before by this species; selective forces that must be affecting the population genetic composition. This is the main reason why it is important to assess, in connection with the Japanese populations, the San Quintín Bay cultured population genetic variability levels, to estimate the inbreeding degree, and compute the genetic distances among this population and the Japanese ones. The latter in order to identify genotype modifications in the cultured population in the Mexican locality, in case they exist.

MATERIALS AND METHODS

In order to assess the current genetic status of the cultured population of *C. gigas* in

población en cultivo de la bahía de San Quintín, para evaluar el grado de endogamia y calcular la distancia genética de esta población respecto a las japonesas, con el fin de identificar las modificaciones en el genotipo del ostión cultivado en la localidad mexicana, en el caso de que tales modificaciones existan.

MATERIALES Y METODOS

Con el fin de evaluar el estado genético actual de la población en cultivo del ostión *C. gigas* en San Quintín, se efectuó un análisis electroforético de homogenizados de músculo aductor de 50 organismos colectados directamente de las sartas de cultivo ubicadas en una zona de la bahía de San Quintín, conocida como Bahía Falsa (Fig. 1).

La colecta se realizó en octubre de 1988. Los especímenes se mantuvieron vivos hasta su sacrificio, posterior al cual se disecaron los músculos aductores y se liofilizaron. El tejido liofilizado se resuspendió en la mínima cantidad de agua destilada y se centrifugó a 3,000 r.p.m. por 30 min. Los sobrenadantes se utilizaron para llevar a cabo el análisis electroforético en placa horizontal de gel de almidón (Sigma) al 12 %, según los procedimientos y sistemas amortiguadores recomendados por Schaal y Anderson (1974).

En función de la disponibilidad de reactivos en el laboratorio, se procedió a revelar seis sistemas proteínicos, elegidos entre los 18 que reportan Buroker *et al.* (1979), en su estudio de tres poblaciones de *C. gigas* del Japón. Estos sistemas fueron: aspartato amino transferasa, enzima málica, esterasas, leucin-amino peptidasa, proteína muscular y tetrazolio oxidasa. Para el revelado de estos sistemas se utilizaron las fórmulas histoquímicas reportadas por Schaal y Anderson (1974), con las modificaciones sugeridas por Rosa-Vélez (1986). Los fenotipos obtenidos a partir de los electroforegramas se interpretaron según los criterios de Ayala *et al.* (1972), siguiendo la nomenclatura de Buroker *et al.* (1979).

Se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis (Zar, 1984) sobre el número efectivo de alelos por locus, entre poblaciones para probar la existencia de diferencias significativas en los niveles de variabilidad genética entre la población de San Quintín y las tres poblaciones japonesas reportadas por Buroker *et al.*

San Quintín, an electrophoretic analysis of 50 organisms' adductor muscle homogenates was performed. Specimens were directly gathered from the culture developed in a particular zone in San Quintín Bay, known as Falsa Bay (Fig. 1).

Sampling was carried out in October, 1988. Specimens were maintained alive until their sacrifice. Subsequently, adductor muscles were dissected and lyophilized. Tissues treated in this manner were resuspended in the minimal amount of distilled water, and centrifuged at 3,000 r.p.m., for 30 minutes. Supernatants were used to carry out the 12 % starch gel (Sigma) electrophoretic assay in horizontal plates. Procedures and buffer systems were those recommended by Schaal and Anderson (1974).

By the reagents availability criteria, six protein systems out of the 18 reported by Buroker *et al.* (1979) in their study dealing with three *C. gigas* populations from Japan, were revealed. The systems used in this study were: aspartate amine transferase, malic enzyme, esterases, leucinamine peptidase, muscular protein and tetrazolium oxidase. Histochemical stains used for revealing this systems were those reported by Schaal and Anderson (1974), with slight modifications suggested by Rosa-Vélez (1986).

Phenotypes obtained in the electrophoregrams were interpreted following Ayala *et al.*'s (1972) criteria, but respecting Buroker *et al.*'s (1979) nomenclature.

A Kruskal-Wallis test (Zar, 1984) was applied over the effective number of alleles by locus, among populations, in order to test significant differences of genetic variation levels among the San Quintín population and the three Japanese populations reported by Buroker *et al.* (1979). Differences between expected genotypes, assuming Hardy-Weinberg equilibrium, and observed genotypes in the electrophoretic assay were tested by means of a goodness of fit chi-squared test. D statistic was used to make evident heterozygote deficiencies or excesses in the genotypic disequilibrium.

Nei's (1972) genetic similarities and distances were applied to estimate the allele proportions building a population structure, and the number of allelic substitutions since the Japan and Mexico populations split up.

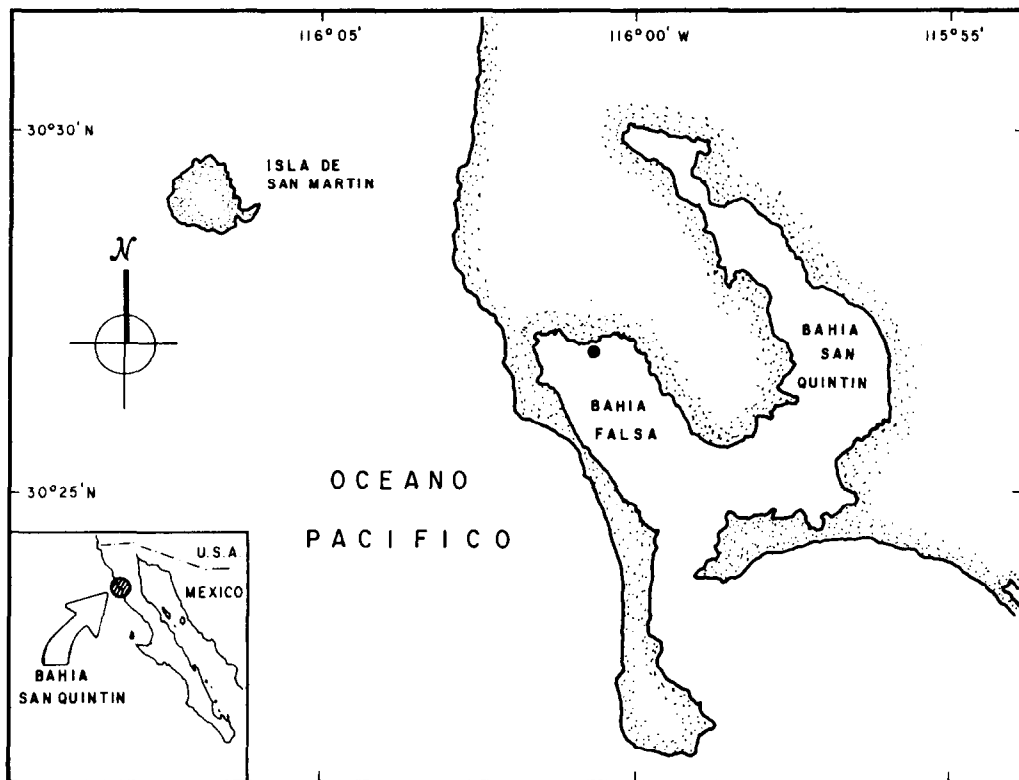


Figura 1.- Localización del área de cultivo de *Crassostrea gigas* en la bahía de San Quintín, B.C., México.

Figure 1.- Geographic location of the culture area of *Crassostrea gigas* in bahía de San Quintin, B.C., Mexico.

(1979). Las diferencias entre los genotipos esperados, según el equilibrio de Hardy-Weinberg, y los observados en el análisis electroforético se probaron mediante el análisis de bondad de ajuste de ji-cuadrada. El estadístico D fue utilizado para evidenciar la deficiencia o el exceso de heterocigotos en el desequilibrio genotípico.

El análisis de similitudes y distancias genéticas de Nei (1972) se aplicó para estimar la proporción de alelos que hacen una estructura, y el número de sustituciones alélicas en la evolución separada de las poblaciones del Japón (reportadas por Buroker *et al.*, 1979) y la de San Quintín.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presenta la variación genética de los siete loci analizados en la bahía

RESULTS

Table 1 shows the genetic variation displayed by the seven loci assayed in San Quintin Bay, together with data reported by Buroker *et al.* (1979) for three Japanese populations. The Kruskal-Wallis test showed no significant differences among genetic variability levels of San Quintin and Japanese populations ($H=0.7076$; $p>0.5$).

Aat-1 locus is polymorphic in the San Quintin population in contrast to Japanese populations, where it is reported as monomorphic. This result can be considered as highly significant taking in account the selective pressure exerted by diverse environments. However, Sugita and Fujio (1982) have reported it as polymorphic in 11 cohorts from three different populations of *C. gigas* cultured in the Miyagi region.

Tabla 1.- Variación genética de la población de *Crassostrea gigas* de la bahía de San Quintín, en comparación con tres poblaciones japonesas de la misma especie. *N* es el número de genes muestreados; *ne* es el número efectivo de alelos; *Ho* es la heterocigosis observada; *He* es la heterocigosis esperada, según el equilibrio teórico de Hardy-Weinberg; *D* fue calculado como $(Ho-He)/He$.

Table 1.- Genetic variation of the *Crassostrea gigas* population in bahia de San Quintin, compared with three japanese populations of the same species. *N* is the number of sampled genes; *ne* is the effective number of alleles; *Ho* is the observed heterozygosity; *He* is the expected heterozygosity, according to the theoretical equilibrium of Hardy-Weinberg; *D* was calculated as $(Ho-He)/He$.

Locus	Alelo	Kumamoto+	Hiroshima+	Miyagi+	San Quintín
Aat-1	N	156	164	166	96
	103	0.000	0.000	0.000	0.145
	100	1.000	1.000	1.000	0.855
	ne	1.00	1.00	1.00	1.19
	Ho	0.000	0.000	0.000	0.166
	He	0.000	0.000	0.000	0.247
	D	0.000	0.000	0.000	-0.327 ***
Aat-2	N	156	164	166	80
	111	0.000	0.177	0.313	0.250
	100	0.000	0.707	0.608	0.737
	89	1.000	0.116	0.078	0.013
	ne	1.00	1.86	2.68	1.60
	Ho	0.000	0.463	0.627	0.375
	He	0.000	0.457	0.473	0.386
D	0.000	0.013	0.325	-0.028 ***	
Me	N	156	164	166	42
	105	0.000	0.000	0.000	0.047
	102	0.000	0.000	0.000	0.142
	100	1.000	1.000	1.000	0.523
	97	0.000	0.000	0.000	0.143
	94	0.000	0.000	0.000	0.144
	ne	1.00	1.00	1.00	1.39
	Ho	0.000	0.000	0.000	0.285
	He	0.000	0.000	0.000	0.665
D	0.000	0.000	0.000	-0.571 ***	

Tabla 1 (Cont.)

Locus	Alelo	Kumamoto +	Hiroshima +	Miyagi +	San Quintín
Est-2	N	156	164	166	88
	108	0.000	0.049	0.048	0.489
	104	0.032	0.220	0.151	0.000
	100	0.346	0.598	0.675	0.510
	96	0.506	0.085	0.072	0.000
	92	0.090	0.049	0.054	0.000
	88	0.026	0.000	0.000	0.000
	ne	1.69	2.49	2.13	1.21
	Ho	0.410	0.598	0.530	0.171
	He	0.615	0.584	0.514	0.498
	D	-0.330	0.020	0.031	-0.644
	**			***	
Lap-1	N	140	164	166	100
	104	0.129	0.000	0.000	0.000
	102	0.193	0.049	0.090	0.000
	100	0.586	0.866	0.723	0.900
	98	0.086	0.085	0.187	0.100
	96	0.007	0.000	0.000	0.000
	ne	2.33	1.34	1.77	1.13
	Ho	0.571	0.256	0.434	0.120
	He	0.597	0.241	0.435	0.180
	D	-0.040	0.062	-0.002	-0.330
					**
Mp-1	N	156	162	166	78
	105	0.000	0.704	0.307	0.281
	100	1.000	0.296	0.693	0.717
	ne	1.00	1.65	1.73	1.69
	Ho	0.000	0.395	0.422	0.410
	He	0.000	0.262	0.247	0.402
	D	0.000	0.507	0.708	0.019
			***	***	

de San Quintín, en comparación con los datos reportados por Buroker *et al.* (1979) para tres poblaciones japonesas. La prueba de Kruskal-Wallis no indicó diferencias significativas entre los niveles de variabilidad genética de la población de San Quintín y las poblaciones japonesas ($H=0.7076$; $p>0.5$).

El locus Aat-1 se muestra polimórfico en la población de San Quintín a diferencia de las

Four out of seven loci assayed in the San Quintin Bay population showed statistical significant heterozygote deficiencies, in contrast with almost every loci reported in the Japanese populations. Exceptions are Aat-2 in Miyagi, and Mp-1 in Hiroshima and Miyagi, where disequilibrium was reported but for heterozygote excess. Heterozygote deficiency in Japanese populations is evident only for

Tabla 1 (Cont.)

Locus	Alelo	Kumamoto +	Hiroshima +	Miyagi +	San Quintín
To-2	N	156	164	166	86
	109	0.006	0.000	0.000	0.432
	100	0.987	1.000	1.000	0.568
	92	0.006	0.000	0.000	0.000
	ne	1.02	1.00	1.00	1.78
	Ho	0.026	0.000	0.000	0.441
	He	0.026	0.000	0.000	0.488
	D	0.000	0.000	0.000	-0.096

+, Tomados de Buroker *et al.*, 1979

**, $p < 0.01$

***, $p < 0.001$

Tabla 2.- Similitudes (I) y distancias (D) genéticas (Nei, 1972) entre la población de San Quintín y tres poblaciones japonesas (Buroker *et al.*, 1979), calculadas con base en los siete loci analizados.
Table 2.- Genetic similarities (I) and distances (D) (Nei, 1972) between the San Quintin population and three Japanese populations (Buroker *et al.*, 1979), calculated taking the seven analyzed loci as a basis.

	I	D
San Quintín x Miyagi	0.851	0.162
San Quintín x Hiroshima	0.785	0.243
San Quintín x Kumamoto	0.632	0.458

poblaciones japonesas, donde es reportado como monomórfico. Este resultado pudiera ser considerado como altamente significativo en relación a la presión de selección de ambientes diversos, sin embargo, Sugita y Fujio (1982) reportan este locus polimórfico en 11 cohortes de tres diferentes poblaciones de *C. gigas* cultivadas de la región de Miyagi.

Cuatro de los siete loci analizados en la población de San Quintín, presentaron deficiencias estadísticamente significativas de heterocigotos, a diferencia de las poblaciones japonesas, donde se aprecia equilibrio en prácticamente todos los loci comparados, con las excepciones del locus Aat-2 en Miyagi, y Mp-1 en Hiroshima y Miyagi, donde hay desequilibrio, pero en el sentido del exceso de

Est-2 in a Kumamoto population, following Buroker *et al.*'s (1979) results (see Table 1).

Table 2 presents genetic similarities and distances among Japanese and San Quintin populations. The figures obtained are quiet comparable to those reported by Buroker *et al.* (1979) and Fujio (1979) for the populations from the Japanese islands. The genetic similarity maximum value (I) and genetic distance minimum (D), obtained between Miyagi and San Quintin populations (I=0.851; D=0.162), can mean that Miyagi is the origin of the San Quintin population. This proposition is supported by Sugita and Fujio's (1982) results related to the polymorphism of locus Aat-1 in cultured populations from Miyagi, as well as Osaki and Fujio's (1985) reports pointing out

heterocigotos. La deficiencia de heterocigotos en las poblaciones de Japón sólo es evidente en el locus Est-2 en la población de Kumamoto, según los resultados de Buroker *et al.* (1979) (ver Tabla 1).

La Tabla 2 presenta los valores de similitud y distancia genética entre las poblaciones japonesas y la de San Quintín. Dichos valores son comparables a los reportados por Buroker *et al.* (1979) y Fujio (1979) para las poblaciones locales en el archipiélago japonés. El valor máximo de similitud (I) y mínimo de distancia (D) genética, obtenidos entre las poblaciones de Miyagi y San Quintín ($I=0.851$; $D=0.162$), puede ser indicativo de que la población con la que se inició el cultivo en San Quintín haya tenido como origen la población de Miyagi. Esta suposición es apoyada por los resultados de Sugita y Fujio (1982) en relación al polimorfismo del locus Aat-1 en las poblaciones cultivadas de Miyagi, y lo reportado por Ozaki y Fujio (1985), que indica que esas son las poblaciones de donde se obtiene primordialmente la semilla para exportación a la costa oeste de Norteamérica.

DISCUSION

Los resultados de los análisis electroforéticos efectuados en diversas poblaciones del ostión *C. gigas* del Japón (Buroker *et al.*, 1979; Fujio, 1979) y de la costa norteamericana del Pacífico (Buroker *et al.*, 1975) revelan una gran variabilidad genética en dicha especie. Esta información ha sido alentadora para el establecimiento de programas de selección y cría, tanto en Japón como en los Estados Unidos de América, ya que niveles altos de variabilidad indican un buen potencial selectivo (Hershberger *et al.*, 1984).

Teóricamente, al cultivar una especie, se espera la reducción de su variabilidad genética en función de la reducción del tamaño efectivo de población (Crow, 1986). No obstante, los cultivos de *C. gigas* de Japón y Norteamérica no han mostrado pérdida significativa de tal atributo biológico (Buroker *et al.*, 1975; Ozaki y Fujio, 1985). Por añadidura, según los resultados obtenidos en este estudio, esta característica prevalece también en el cultivo de San Quintín.

Dillon y Manzi (1987) sugieren que cuando las poblaciones sufren "cuellos de botella", como en el caso de ser llevada al cultivo, la deriva genética es un proceso más factible que la misma selección natural, en la

those populations as the main source of spat for exportation to the West Coast of North America.

DISCUSSION

The results of the electrophoretic assays performed in several populations of the oyster *C. gigas* from Japan (Buroker *et al.*, 1979; Fujio, 1979) and the West Coast of North America (Buroker *et al.*, 1975) reveal a great deal of genetic variability in this species. This information has encouraged breeding and selection programs in the United States of America, as well as in Japan, because high genetic variability indicate a good selective potential (Hershberger *et al.*, 1984).

In theory, a genetic variability reduction is expected when a species is reared for culture, as a function of the reduction of its population effective size (Crow, 1986). Nonetheless, North American and Japanese *C. gigas* cultures have not shown any significant loss of that biological attribute (Buroker *et al.*, 1975; Ozaki and Fujio, 1985). Furthermore, following the results of this study, that feature remains in the San Quintin culture.

Dillon and Manzi (1987) suggest that when populations suffer "bottlenecks", as when they are reared to culture, genetic drift is a more probable process than natural selection in the modification of allelic frequencies. Namely, the loss of rare alleles ($p < 0.1$) is highly probable. In the San Quintin culture case, this fact is evident for locus Est-2, however, Aat-1, Me and To-2 showed themselves as polymorphic loci in contrast to the results reported by Buroker *et al.* (1979) for the Japanese populations.

Following theoretical devices, the only way in which a rise in number of variants for a locus can occur, assuming a constant mutational rate and starting off with a known composition of a base population, is by means of natural selection exerted by the new environment experienced by the population. The San Quintin culture is, up to now, the one reared at the lowest latitude; this fact suggests the possibility of environmental differences as a function of the geographic position. Nonetheless, more information is requested on the environments where the natural populations grow, and where the previous cultures develop, in order to test this supposition.

Four out of seven loci showed heterozygote deficiencies. This deviation from the

modificación de las frecuencias alélicas. Principalmente, la desaparición de alelos raros ($p < 0.1$) es muy probable. En el caso del cultivo de San Quintín, este hecho es patente en el locus Est-2, sin embargo, los loci Aat-1, Me y To-2 no sólo no mostraron pérdida de los alelos raros, sino que se presentan como polimórficos respecto a los mismos loci reportados como monomórficos en las poblaciones japonesas (Buroker *et al.*, 1979).

Según los desarrollos teóricos, la única forma en que puede suceder el aumento de variantes en un locus, ante una tasa mutacional constante y partiendo de una composición conocida de la población base, es por efecto de la selección natural en función del nuevo ambiente experimentado por la población. El cultivo implantado en San Quintín es, hasta el momento, el que se ha llevado a latitudes más bajas; este hecho sugiere la posibilidad de ciertas diferencias ambientales en función de la posición geográfica. No obstante, se requiere de mayor información acerca de los ambientes donde se ubican las poblaciones naturales, así como de donde se desarrollan los cultivos previos, para poder probar esta suposición.

Cuatro de los siete loci analizados presentaron deficiencia de heterocigotos. Este apartamiento del equilibrio teórico de Hardy-Weinberg ha sido reportado reiteradamente en moluscos bivalvos (Milkman y Beaty, 1970; Wilkins y Mathers, 1973; Tracey *et al.*, 1975; Koehn *et al.*, 1976; Fujio, 1982; Zouros y Foltz, 1984; Rosa-Vélez, 1986; Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989). Dicha deficiencia ha sido explicada fundamentalmente por medio de procesos de selección a escala microgeográfica (Koehn *et al.*, 1976); por el efecto de Wahlund, que se refiere a si la muestra está compuesta por la prole de subpoblaciones que no intercambian gametos (Tracey *et al.*, 1975); o por endogamia (Singh y Zouros, 1978).

La endogamia es un efecto causado por la alta frecuencia de apareamientos consanguíneos, y es común en poblaciones pequeñas. La consecuencia genética es el aumento de homocigotos a expensas de los heterocigotos en la población (Falconer, 1981). A su vez, las consecuencias poblacionales ocasionadas por este proceso son la reducción de la fertilidad, la viabilidad y la tasa de crecimiento (Fujio, 1982; Foltz *et al.*, 1983; Beattie *et al.*, 1987).

En particular, Fujio (1982), al estudiar 20 poblaciones naturales de *C. gigas* en el

theoretical equilibrium of Hardy-Weinberg has been reported repeatedly in bivalves (Milkman and Beaty, 1970; Wilkins and Mathers, 1973; Tracey *et al.*, 1975; Koehn *et al.*, 1976; Fujio, 1982; Zouros and Foltz, 1984; Rosa-Vélez, 1986; Rosa-Vélez and Rodríguez-Romero, 1989). This deficiency has been explained mainly by means of selection processes at a microgeographic scale (Koehn *et al.*, 1976); by the Wahlund effect, that refers to a different genetic composition of the sample consisting in subpopulations with no gametes exchange (Tracey *et al.*, 1975); or by inbreeding (Singh and Zouros, 1978).

Inbreeding is the outcome of a high frequency of consanguineous matings, and is common in small populations. It results in an increase of the number of homozygotes at the expense of heterozygotes, as a genetic consequence (Falconer, 1981). At the same time, population consequences are fertility, viability and growth rate reductions (Fujio, 1982; Foltz *et al.*, 1983; Beattie *et al.*, 1987).

Particularly, Fujio (1982), studying 20 natural populations of *C. gigas* in Japan, systematically found an excess of homozygotes in it should be able to all of them. This author suggests that the population structure of the oyster *C. gigas* tends to divide in a number of local subpopulations, in which genetic drift prevails. In relation to this, if that is a reported fact in natural populations, it should be able to be demonstrated in cultured populations. Strangely, Buroker *et al.* (1979) do not report systematic heterozygote deficiency in the populations studied by them (cf. Table 1).

Several explanations can be supposed in the case of the cultured population of San Quintin Bay, in relation to the heterozygote deficiency found. Firstly, regarding the high larval mortality found, and in terms of the number of generations obtained from the same parents, it is highly feasible to suppose an inbreeding problem in the population. Secondly, due to different environmental conditions experimented by the population at this latitude, the possibility exists of natural selection acting upon the original genetic structure, favouring those alleles giving any selective advantage in certain loci, as well as the genotypes that allow the best adequacy to functions and structures of the founder organisms in the cultured population. Evidences of processes like the ones suggested have been reported by Sugita and Fujio (1982) in local

Japón, encuentra sistemáticamente un exceso de homocigotos en todas ellas. Este autor sugiere que la estructura de la población del ostión *C. gigas*, tiende a dividirse en un número de subpoblaciones locales, en las cuales el efecto de la deriva genética prevalece. En relación a esto, si es un hecho reportado a partir de poblaciones naturales, es de esperarse que en las poblaciones en cultivo sea factible de ser demostrado. Extrañamente, Buroker *et al.* (1979) no reportan deficiencia heterocigótica sistemática en las poblaciones analizadas por ellos (cf. Tabla 1).

En el caso de la población en cultivo de bahía de San Quintín, se pueden suponer diversas explicaciones de la deficiencia heterocigótica encontrada. En primer término, y en relación a la mortalidad larval encontrada, así como en función del número de generaciones obtenidas a partir de los mismos progenitores, es altamente factible suponer un problema de endogamia en la población. En segundo término, debido a la posibilidad mencionada en párrafos anteriores acerca de diferencias ambientales experimentadas por la especie en esta nueva latitud, cabe postular la acción de la selección natural sobre la estructura genética original, favoreciendo tanto aquellos alelos con una ventaja adaptativa en ciertos loci, como los genotipos que permitan la mayor adecuación a las funciones y estructuras de los organismos fundadores que componen la población llevada al cultivo. Evidencias de procesos como los postulados han sido reportadas por Sugita y Fujio (1982) en poblaciones locales del Japón, para la misma especie estudiada aquí. Por último, no es remota la posibilidad de que se esté promoviendo el efecto de Wahlund en la población de San Quintín; a lo largo de los 17 años que lleva el cultivo, se han efectuado varias introducciones de semilla de diversas y distintas (según el argumento de Fujio, 1982) poblaciones en cultivo de la costa oeste de Norteamérica. En función de lo disímil de las estructuras genéticas de las poblaciones introducidas y mezcladas, será la contribución de este efecto a la deficiencia de heterocigotos reportada.

En resumen, la población ostrícola en cultivo de la bahía de San Quintín ha conservado la característica de alta variabilidad genética, que es típica de la especie. El cultivo ha sido exitoso, muy probablemente en función de dicha característica. No obstante, obtuvimos evidencia de un desequilibrio genotípico que puede estar relacionado con el

populations of the same species in Japan. Finally, a promoted Wahlund effect is not remote in the San Quintin cultured population; for 17 years diverse and distinct spat introductions from the West Coast of North America have been carried out (following Fujio's (1982) argument). The contribution of this effect to the heterozygote deficiency reported is related to the unlikeness of the genetic structures of the introduced populations.

In summary, the cultured oyster population of San Quintin has conserved the typical high genetic variability, of the species. The success of the culture may be related with this feature. However, we have found evidence of genotype disequilibrium, probably related to the adaptive process of the species to a new, never before tested, latitude and culture conditions, or with the maintenance and production strategy. Whatever the cause, in order to be able to have a predictable cultured population, a genetic monitoring in time, and a strict record of the reproductive events and spat introductions is recommended. Spat must be genetically controlled too.

Knowledge of genetic structure and dynamics is the only way to try to improve the species, an ideal pursued by the breeder or the aquaculturist since these activities appeared in the historical development of human society.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors want to express their gratitude to the members of Sociedad Cooperativa Bahía Falsa for the biological sample offered. Likewise, to G. Villarreal and M. Acosta who read a first version of the manuscript and suggested valuable ideas that improved it substantially. To M. Conroy who helped us to find the best manner of expression.

proceso de adaptación a la latitud y ambiente del cultivo, o con la estrategia de mantenimiento y producción. Cualquiera que sea la causa, con el fin de tener la posibilidad de contar con una población cultivada predecible, es muy recomendable efectuar un seguimiento genético en el tiempo y un registro riguroso de los eventos reproductivos, así como de la introducción de semilla, la cual, a su vez, debe ser controlada desde el punto de vista genético.

El conocimiento de la estructura y la dinámica genéticas es la única forma de pretender el mejoramiento de la especie, un ideal perseguido por el criador o el acuicultor desde que estas actividades irrumpieron en el desarrollo histórico de la sociedad humana.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a los miembros de la Sociedad Cooperativa Bahía Falsa por facilitarnos la obtención de la muestra biológica. Asimismo, a G. Villarreal y M. Acosta cuyas recomendaciones y sugerencias mejoraron en gran medida la primera versión de este manuscrito. A M. Conroy, por ayudarnos a encontrar la mejor forma de expresión.

LITERATURA CITADA

- Ayala, F.J., Powell, J.B., Tracey, M.L., Mourao, C.A. and Pérez-Salas, S. (1972). Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group. IV. Genic variation in natural populations of *Drosophila willistoni*. *Genetics*, 70: 113-139.
- Beattie, J.H., Perdue, J., Hershberg, W. and Chew, K. (1987). Effects of inbreeding on growth in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Shellfish Res.*, 6(1): 25-28.
- Buroker, N., Hershberg, W.K. and Chew, K. (1975). Genetic variation in the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32: 2471-2477.
- Buroker, N., Hershberg, W.K. and Chew, K.K., (1979). Population genetics of the family Ostreidae. I. Intraspecific studies of *Crassostrea gigas* and *Saccostrea commercialis*. *Mar. Biol.*, 54: 157-179.
- Crow, J.F. (1986). Basic concepts in population, quantitative and evolutionary genetics. W.H. Freeman. New York, 273 pp.
- Dillon Jr., R.T. and Manzi, J.J. (1987). Hard clam, *Mercenaria mercenaria*, broodstocks: Genetic drift and loss of rare alleles without reduction in heterozygosity. *Aquaculture*, 60: 99-105.
- Falconer, D.S. (1981). Introduction to quantitative genetics. 2nd Edition. Longman. London, 340 pp.
- Foltz, D.W., Newkirk, G.F. and Zouros, E. (1983). Genetics of growth rate in the American Oyster: absence of interactions among enzyme loci. *Aquaculture*, 33: 157-165.
- Fujio, Y. (1979). Enzyme polymorphism and population structure of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. *Tohoku J. Agr. Res.*, 30(1): 32-42.
- Fujio, Y. (1982). A correlation of heterozygosity with growth rate in the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. *Tohoku J. Agr. Res.*, 33(2): 66-75.
- Gosling, E.M. (1982). Genetic variability in hatchery produced Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 26: 273-287.
- Gutiérrez Wing, M.T. (1988). Utilización de productos en la alimentación de las larvas de ostión japonés *Crassostrea gigas* (Thunberg) en condiciones de laboratorio. Tesis de Maestría, CICESE. 67 pp.
- Hershberg, W.K., Perdue, J.A. and Beattie, J.H. (1984). Genetic selection and systematic breeding in Pacific Oyster culture. *Aquaculture*, 39: 237-245.
- Islas Olivares, R. (1975). El ostión japonés (*Crassostrea gigas*) en Baja California. *Ciencias Marinas*, 2(1): 58-59.
- Koehn, R.K., Milkman, R. y Mitton, J.B. (1976). Population genetics of marine pelecypods. IV. Selection, migration, and genetic differentiation in the blue mussel *Mytilus edulis*. *Evolution*, 30: 2-32.
- Lannan, J.E. (1972). Estimating heritability and predicting response to selection for the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. *Proc. Natl. Shellfish. Assoc.*, 62: 62-66.
- Milkman, R.D. and Beaty, L.D. (1970). Large scale electrophoretic studies of allelic variation in *Mytilus edulis*. *Bio. Bull (Woods Hole)*, 139: 430 pp.
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *Am Natur.*, 106: 283-292.
- Ozaki, H. and Fujio, Y. (1985). Genetic differentiation in geographical populations of the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) around Japan. *Tohoku J. Agr. Res.*, 36(1): 49-61.
- Rosa-Vélez, de la J. (1986). Variabilidad genética poblacional en ostiones de la

- especie *Crassostrea virginica* del golfo de México. Tesis Doctoral. UACP y PCCH/ICML/UNAM, 124 pp.
- Rosa-Vélez, de la J. y Rodríguez-Romero, F. (1989). Enfoque genético para el análisis de poblaciones de recursos pesqueros: el caso de la población ostrícola de la laguna de Términos, Campeche. En: J. de la Rosa-Vélez y F. González-Farías (eds), Temas de Oceanografía Biológica en México. Capítulo 9, UABC, Ensenada, 337 pp.
- Schaal, B.A. and Anderson, W.W. (1974). An outline of technics for starch gel electrophoresis of enzymes from the American oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). Tech. Rep. Ser. Ga. Mar. Sci. Cent. Savannah, Ga., 74: 1-17.
- Singh, S.M. and Zouros, E. (1978). Genetic variation associated with grow rate in the American oyster (*Crassostrea virginica*). Evolution, 32: 342-353.
- Sugita, M. and Fujio, Y. (1982). Effects of genotypes at the Aat-1 locus on the survival and growth rates in the cultured oyster. Tohoku J. Agr. Res., 33(1): 42-49.
- Tracey, M.L., Bellet, N.F. and Graven, C.D. (1975). Excess allozyme homozygosity and breeding population structure in the mussel *Mytilus californianus*. Mar Biol., 32: 303-311.
- Wilkins, N.P. and Mathers, N.F. (1973). Enzyme polymorphisms in the European oyster *Ostrea edulis*. L. Anim. Blood Grps. Biochem. Genet., 4: 41-47.
- Zar, J.H. (1984). Biostatistical Analysis. 2nd Edition. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J., 718 pp.
- Zouros, E. and Foltz, D.W. (1984). Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. Malacologia, 25: 583-591.