



INSTITUTO DE
FOMENTO
PESQUERO

02C8PT-04



GOBIERNO DE CHILE
CORFO

FDI

INFORME FINAL

TITULO PROYECTO

PRODUCCIÓN DE OSTIÓN
DEL NORTE MEJORADO
GENÉTICAMENTE
PARA ABASTECER
LA INDUSTRIA
PECTINICULTORA
NACIONAL
FDI 02C8PT-05

Febrero, 2005

77E.229
I.229.
2005



INFORME FINAL

FDI - CORFO

**"PRODUCCIÓN DE OSTIÓN DEL NORTE
MEJORADO GENÉTICAMENTE
PARA ABASTECER LA INDUSTRIA
PECTINICULTORA NACIONAL"
FDI 02C8PT-05**

• Febrero, 2005 •



REQUIRENTE

FONDO DE DESARROLLO E INNOVACIÓN
FDI-CORFO

Gerente Fondo de Desarrollo e Innovación (FDI):
Pedro Sierra Bosch

EJECUTOR

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, IFOP

Jefe División Investigación Acuícola
Leonardo Guzmán Méndez

Director Ejecutivo:
Guillermo Moreno Paredes



DIRECTOR DEL PROYECTO

ANA MARÍA VERGARA M.

AUTORES

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Ana María Vergara M.
Catalina Becerra P.
Carlos Muñoz T.
Karla Álvarez M.

UNIVERSIDAD DE CHILE

Victor Martínez M.

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

Jorge Toro Y.

ASOCIADOS

Empresa Invertec Ostimar S.A.
Pesquera San José S.A.
Inversiones Centinela S.A.
Cultivos Marinos Internacionales S.A.
Empresa Pesquera y Conservera Proteus S.A
Cia. Pesquera Camanchaca S.A.
Comercial e Inversiones Loanco Ltda.
Hidrocultivos S.A.
Gercas

• Febrero, 2005 •



ÍNDICE

i ANTECEDENTES	2
1. OBJETIVOS	4
2. PERIODO QUE SE INFORMA	4
3. ACTIVIDADES REALIZADAS Y RESULTADOS ETAPA 1 IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS	5
3.1 Producción y mantención de líneas de selección	5
3.2 Estimación de parámetros genéticos y respuesta a la selección	12
3.3 Adaptación del modelo de selección genética (Modelo Animal) al programa de selección del ostión	21
3.4 Identificación de marcadores genéticos y Evaluación del efecto de la depresión endogámica	23
4. ACTIVIDADES REALIZADAS Y RESULTADOS ETAPA 2 TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA	34
4.1 Preparación y elaboración de cursos de capacitación	34
4.2 Reuniones de coordinación y sensibilización de las empresas	37
4.3 Traspaso de reproductores seleccionados y semillas mejoradas a las empresas	41
5. CONCLUSIONES	43

FIGURAS

ANEXOS

Resumen Charla Técnica a Productores de Ostión III y IV Región.
Trabajo Presentado al Congreso de Ciencias del Mar. Coquimbo, Mayo de 2004.
Presentación Oral Congreso de Ciencias del Mar. Coquimbo, Mayo de 2004.



ANTECEDENTES

La acuicultura a nivel mundial se encuentra en una etapa de transición, la cual se caracteriza por dejar de ser una actividad altamente dependiente del medio natural transformándose en una actividad con mayor control por parte del hombre, la que la hace en muchos casos tener características de una actividad industrial. Chile, se ha constituido en uno de los países donde este proceso está avanzando rápidamente, convirtiéndose en algunos casos en líder mundial.

La industria de los ostiones en Chile, es una actividad que vive este proceso. Clásicamente, la producción de ostiones se ha sustentado en la obtención de semillas basada en captación del medio natural, lo que ha puesto a la industria en situaciones críticas, cuando la captación de semillas tiene un año malo. Entonces, se realizan esfuerzos para obtenerlas de un sistema de reproducción artificial en "hatcheries", los que han perdido continuidad en su funcionamiento debido a la ocurrencia de captaciones exitosas.

Por otra parte, al analizar la actividad pectinicola en el país, a partir de 1992, cuando la industria comienza a mostrar producciones provenientes casi exclusivamente del cultivo suspendido, se aprecia que los niveles de producción y exportación tienen un máximo en el año 1994 y decae persistentemente hasta 1997. Tal disminución, de acuerdo a información entregada por la propia industria, no ha tenido su génesis en problemas de mercado, ni menos en menores biomásas en cultivo, sino contrariamente a un menor rendimiento final de la cantidad de ejemplares cosechados. Así por ejemplo, en una industria que ha participado del 30-40% de las exportaciones, los rendimientos ponderados de los 12 meses de producción bordearon los 60 ind/kg entre 1994-95, mientras que, en 1996 el rendimiento bajó a 85 ind/kg y hasta agosto de 1997 estaba en 106 ind/kg. El planteamiento es que la única y real solución a estos problemas, es independizar a la industria del ostión de los bancos naturales con relación a la obtención de semillas. Esto no sólo beneficiará a la industria, sino que a su vez constituye un beneficio desde el punto de vista de la conservación de los recursos genéticos del ostión del norte.

Los programas de mejoramiento genético, en todas las actividades de producción animal han demostrado ser altamente rentables. No obstante, prácticamente todos los programas que tuvieron éxito en los países industrializados, se iniciaron con subsidios del estado. Esto sucede, porque los resultados de la mejora genética se realiza luego de que se avanza en generaciones, lo que ocurre luego de al menos seis a diez años, dependiendo del intervalo generacional. En términos generales, una vez que este tipo de programas se ha establecido con éxito, la industria los toma como parte de la natural especialización que se produce en el sector. Un programa de esta naturaleza abre caminos en este sentido, produciendo un efecto demostrativo, convirtiéndose en un exportador, tanto de material genético al sistema productivo, como del paquete tecnológico generado.



El programa de mejoramiento genético del ostión del norte *Argopecten purpuratus* ya ha sido establecido con éxito en el marco del proyecto FDI PD-103 y en el presente proyecto se plantea incrementar la eficiencia del programa, abordando aspectos biológicos de la especie *Argopecten purpuratus*, como lo es el fenómeno de autofecundación.

El ostión del norte, es una especie hermafrodita que presenta en condiciones naturales grados de autofecundación variable. En el contexto del programa de mejoramiento, el asumir que los padres no están emparentados puede llevar a sobre ó subestimar la variación genética aditiva. Los prejuicios, en las estimaciones de variación genética aditiva a su vez causan errores en las estimaciones de heredabilidad y ganancia genética. En la actualidad, los ostiones del programa presentan algún nivel de endogamia que se desconoce por lo que es necesario abordar este problema a través de la identificación directa de los individuos producto de autofecundación, utilizando marcadores moleculares. La identificación de progenie producto de autofecundación es pre-requisito tanto para estudios evolutivos que involucran determinar el fitness de ambas estrategias reproductivas y para la producción de progenie producto solamente de exogamia para el mejoramiento genético.



1. OBJETIVOS

Objetivo General

Incrementar la eficiencia productiva del programa de mejoramiento del ostión del norte a través del uso de marcadores genético moleculares que permitan cuantificar los efectos de la depresión endogámica

Objetivos Específicos

- Estimar los efectos de la depresión endogámica en las líneas seleccionadas del programa de mejoramiento genético de ostión del norte
- Transferir las tecnologías desarrolladas y protocolos establecidos hacia las empresas asociadas

2. PERIODO QUE SE INFORMA

Inicio: Enero 2003

Término: Enero 2005



3. ACTIVIDADES REALIZADAS Y RESULTADOS ETAPA 1 IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS

3.1 Producción y mantención de líneas de Selección

El programa de mejoramiento genético del ostión del norte iniciado a fines de 1999, en el marco del proyecto "Programa de selección para el mejoramiento genético del ostión del norte (*Argopecten purpuratus*) (1999-2001)" se abocó, los dos primeros años del proyecto a constituir las poblaciones base. En el primer año se iniciaron las clases año impar que desovarán los años impares y en el segundo año lo hicieron las clases año par. Dentro de cada clase año se contó con stocks de diferente origen geográfico, denominados stock norte y stock sur. El avance de estas líneas se aprecia en la **Tabla 1**.

		AÑO					
		1999	2000	2001	2002	2003	2004
CLASE AÑO PAR			S-00		S-02		S-04
			N-00		N-02		N-04
CLASE AÑO IMPAR			S-01		S-03		
			N-01		N-03		

Tabla 1. Generación de clases-año para el programa de selección. S = stock sur (Hueihue); N = stock norte (Bahía Inglesa).

El programa considera el manejo de un intervalo generacional de dos años y dentro de cada clase año se evaluaron los stocks de Hueihue y Bahía Inglesa. De ese modo, las poblaciones que en el esquema se denominan S-00 y N-00 corresponden a las poblaciones base del año par y las poblaciones S-01 y N-01 a las poblaciones base del año impar de los stocks de Hueihue y Bahía Inglesa respectivamente. Las poblaciones S-02 y N-02 corresponden a la primera generación de selección de la clase año par y S-03 y N-03 a la primera generación de selección de la clase año impar. La formación de esta última clase año más la clase año 2004 (S-04 y N-04) se enmarcan en el actual proyecto y los resultados obtenidos en su formación forman parte del presente informe. Además se entrega información de la clase año 2002 (S02 y N02) cuyas etapas intermedias y finales de la fase de cultivo también fueron parte de este proyecto.



3.1.1 Producción de semillas seleccionadas

3.1.1.1 Acondicionamiento de reproductores

Los reproductores seleccionados de cada clase año (2003 y 2004), fueron sometidos a un periodo de 15 días de acondicionamiento y aclimatación a las condiciones de hatchery. En el presente proyecto se implementó un nuevo sistema de acondicionamiento que ha sido exitoso en el hatchery de Hueihue.

En relación a los requerimientos y cuidados especiales de los reproductores desde el punto de vista de las necesidades de este proyecto, se han probado distintas metodologías que tienen en el fondo la finalidad principal de evitar los desoves espontáneos y masivos en momentos no deseados.

La metodología que arrojó los mejores resultados involucra un sistema de agua recirculante con la participación de un biofiltro. Con él, la madurez de los reproductores llega al nivel máximo, no produciéndose desoves espontáneos luego de alcanzarlo. Los buenos resultados de esta metodología de acondicionamiento los explicamos asumiendo que se logra cierta independencia de las variaciones bióticas y abióticas que ocurren en el medio ambiente, las cuales, desencadenan desoves espontáneos en ostiones acondicionados en sistemas de circulación abiertos. En este caso no ocurren, pues, en primer lugar no ingresa agua directa del medio ambiente. Además, la presencia de un biofiltro permite mantener en niveles muy bajos las concentraciones de amonio y otros desechos metabólicos que influyen negativamente en la condición fisiológica de los individuos, o que simplemente sean un gatillante de desoves espontáneos.

Con lo anterior, se hace mas flexible la decisión de realizar o no en un día recambio de agua o hacerlo en porcentajes menores, de acuerdo, a las condiciones presentes en el medio natural, como por ejemplo, presencia de floraciones algales o aumentos excesivos de temperatura, o desoves del resto de la población de cultivo o natural. Lográndose extender bastante tiempo la condición de madurez máxima en los reproductores sin que ocurran desoves.

Requerimientos Técnicos:

Agua de mar:

Filtrado a 1 μm

No Esterilizado U. V.

Temperatura 17 °C. mediante utilización de enfriadores o calentadores.

Sala termoregurable.

Estanque de acondicionamiento:

Estanques de fibra de vidrio de 2.000 litros

Bandejas plásticas con aberturas en el fondo, adosadas a sistemas de flotación (como tubos de PVC cerrados en los extremos).

Bomba sumergible. Flujo aproximado de 10 litros por minuto.



Sistema de biofiltraci3n:

Contenedor cil3ndrico de aproximadamente 50 litros de capacidad con perforaciones en su base que permita el paso del agua y contenga el sustrato en su interior.

Sustrato del biofiltro. Se puede componer de distintos elementos. En Hueihue se han fabricado con conchillas de osti3n y ostra, tubos de pvc y planza de 20 mm de di3metro cortados en trozos de 3 cm aprox. Trozos de red de pesca y cabos de perl3n, netl3n en trozos, alga gracilaria.

Este se construye de tal manera de dejar los elementos mas pesados en la parte inferior, y en la parte superior el pelillo. La altura de cada nivel de sustrato en el biofiltro es de aproximadamente 15 cm.

Instalaci3n del sistema de acondicionamiento:

Para un eficiente desempe1o del sistema es aconsejable instalar el sistema de acondicionamiento, por lo menos dos semanas antes de ingresar los reproductores. Esto debido a que los sustratos del biofiltro son lentamente colonizados con las bacterias nitrificantes, encargadas de transformar el amonio del desecho metab3lico a compuestos menos t3xicos, como el nitrito o nitrato, que queda disponible en esta forma para las algas que componen tambi3n el biofiltro.

La forma mas eficiente de disponer el biofiltro consisti3 en ponerlo directamente al interior del estanque de acondicionamiento (**figura 1**), sumergi3ndolo hasta aproximadamente 5 cm del borde superior del biofiltro.

La bomba sumergible, capta agua desde el fondo del estanque y la descarga a trav3s de una manguera en la parte superior del biofiltro. As3, el agua que ingresa en el biofiltro lo recorre desde la parte superior hacia la parte inferior saliendo purificada por entre las rejillas o malla que posee el biofiltro en su base.

Para asegurar homogeneidad en el sistema, en oxigenaci3n y alimento, se introduce una piedra difusora de aire en el estanque.

Al disponer los reproductores en las bandejas flotantes se evita con esto que el aumento de nivel, producto de la alimentaci3n, o la baja de nivel al limpiar el estanque, lo que puede provocar reacciones que induzcan un desove en un momento no deseado.

La cantidad ideal de reproductores para el volumen y caracter3sticas de este sistema de recirculaci3n, es de hasta 100 individuos.

En mediciones efectuadas en estos sistemas y en las condiciones antes detalladas, se pudo ver que los niveles de amonio presentes luego, de una semana de recirculaci3n presentaba los mismos niveles de amonio que durante el primer d3a luego de un cambio de agua completo. Sin embargo, los mejores resultados se obtuvieron al introducir hasta un 20% de agua nueva al sistema cada 2 d3as.



La limpieza de fecas se realiza, previo al ingreso de agua fresca cada dos días, mediante sifoneo del fondo del estanque.

El biofiltro puede ser limpiado una vez por semana mediante un chorro directo de agua de mar a cada una de las capas de sustrato.

Alimentación:

Constituido por mezcla de microalgas, principalmente *Isochrysis* y *Chaetoceras*. El alimento se administra en forma diaria, este se mantiene en un estanque de acumulación de 50 litros, ubicado sobre el nivel del estanque que contiene a los reproductores desde donde fluye por gravedad hacia los reproductores y dosificado además mediante una válvula.

3.1.1.2 Inducción al desove, fecundación y cultivo larval de las clases año 2003 y 2004

Inducción al desove

Una vez que los animales acondicionados alcanzan la madurez, estos son inducidos al desove. En el ostión del norte, el sistema que mejores resultados generó en el hatchery de Hueihue es la exposición al aire por 20 a 30 minutos y el posterior aumento gradual de la temperatura del agua hasta alcanzar 20°C en una batea rectangular de 100 litros de capacidad

Todos los desoves efectuados a la fecha en el programa han sido realizados con el método de inducción previamente descrito. En términos generales, los individuos comenzaron a desovar en periodos variables de 2 a 5 horas después de la aplicación de los estímulos físicos. De los individuos sometidos a inducción, aproximadamente un 60 % de ellos fueron efectivamente usados en la formación de familias en cada clase año.

Desove y Fecundación

Las mayores pérdidas en el uso de los individuos correspondieron, a una anomalía en el desove debido a que muchos individuos luego de desovar como hembras volvieron a desovar como machos y autofecundaron los ovocitos previamente liberados. Debido a esto, se debió eliminar el total de los gametos. Otros individuos debieron ser eliminados a causa de los pocos pulsos de ovocitos liberados.

Una vez iniciado el desove, se eligieron individuos que actuaron como machos y fueron puestos en recipientes individuales (1l), con la precaución, de cambiarlos de recipientes una vez concluida la liberación de espermios, para evitar la autofecundación de los ovocitos, que son evacuados aproximadamente 30 minutos a 1 hora después que los espermios. Del mismo modo, de los individuos que actuaron como hembra se eliminaron espermios en la batea de desove y solo desde el cuarto pulso de emisión de los ovocitos, donde disminuye el porcentaje de autofecundación según



previos ensayos, estos fueron colectados en los recipientes individuales. Solo se utilizaron individuos cuyas marcas eran 100% legibles.

Los individuos seleccionados en cada stock de cada clase año se aparearon en un diseño de cruzamientos jerárquicos, cuatro hembras fecundadas por un macho como ha sido descrito ampliamente en el transcurso del programa.

Los cruzamientos de tipo jerárquicos constituyen un diseño más adecuado para la estimación de parámetros genéticos así como también permiten aplicar una mayor intensidad de selección y realizar estimaciones no sesgadas de los valores genéticos de los futuros reproductores.

La fecundación se efectuó en un recipiente de 1.5 litros de capacidad, en el cual se mezclaron los ovocitos obtenidos del quinto y resto de los pulsos a una densidades promedio de 7.5×10^6 con el semen colectado en una proporción 1:10

Cultivo larval

Luego de aproximadamente 30 minutos de efectuada la fecundación, el contenido de cada recipiente fue vertido dentro de los estanques de 200 l para el cultivo larval, que contenían agua de mar filtrada, esterilizada y temperada a 18°C. Cada estanque fue identificado con el número del desove y el stock.

Durante esta etapa de formación de familias, se registró el año, la fecha de desove, el stock, los cruzamientos efectuados con la identificación del macho y la hembra y el estanque de destino.

Durante el desove y la fecundación, se registró información acerca de parámetros reproductivos como el diámetro de los ovocitos y el porcentaje de autofecundación

Una vez efectuada la fecundación en los recipientes de 1,5 litros, cada familia formada fue puesta en los estanque de 200 l para el cultivo larval. La distribución de las familias en el hatchery se hizo de manera tal que las familias de medios hermanos (provenientes de un mismo macho) no estuviesen juntas, para aumentar así la variabilidad ambiental.



La tabla 2 muestra el total de familias formadas para cada clase año a lo largo del programa

Clase Año	Familias Formadas	Clase Año	Familias Formadas
S2000	105	S2001	94
N2000	41	N2001	85
S2002	89	S2003	69
N2002	62	N2003	70
S2004	73	S2005	
N2004	79	N2005	

Tabla 2. Familias formadas en el programa de mejoramiento genético de ostiones.

Se realizó recambios parciales diarios del agua de los estanques. Cada estanque de cultivo fue abastecido por gravedad de un estanque de almacenamiento de 2000 l. El agua de este estanque fue filtrada a 1 μ m, calentada a 18°C, aireada y esterilizada con UV.

La circulación fue diaria por periodos de 6 hrs. con un flujo de 250 ml/min asegurándose al menos un recambio de 1/3 del volumen. Esta rutina de circulación, se realizó de lunes a sábado. Posterior a cada ciclo de circulación se alimentó con la microalga disponible en el hatchery (*Isochrysis aff galbana*, *Chaetoceros muelleri*, IHP o IHL) a una concentración de 20.000 cel/ml en la fase inicial del cultivo y de 30.000 cel/ml en la fase terminal.

La densidad larval (larvas/ml) fue estimada al día 1, 5 y 15 de cultivo correspondiendo a los estados trocófora, larva D y larva ojo respectivamente. Para esta estimación, cada estanque fue homogenizado y una muestra de 1 ml fue contada en una placa de recuento disponible para tal efecto. Con esta información se pudo conocer la viabilidad larval.

Los promedios de las densidades medidas en cada etapa del periodo larval se muestran en la Tabla 3

stock	trocófora	larva D	larva ojo	% fijación
N03	10,77 \pm 6,33	7,09 \pm 4,15	2,56 \pm 2,09	23,7
S03	19,59 \pm 10,47	4,01 \pm 3,72	3,26 \pm 2,69	16,6
N04	15,23 \pm 6,52	11,54 \pm 4,89	2,41 \pm 5,3	15,8
S04	12,69 \pm 8,23	9,87 \pm 3,74	2,63 \pm 6,2	20,7

Tabla 3. Densidades promedios en cada etapa del desarrollo larval de *Argopecten purpuratus* para las dos clases años informadas.



3.1.1.3 Cultivo postlarval de las clases año 2003 (S-03 y N-03) y 2004 (S-04 y N04)

Al día 15 de cultivo, aproximadamente un 70% de las larvas alcanzó el estado premetamórfico y en ese momento se introducen en promedio 8 colectores para la fase de fijación de las larvas.

Las condiciones de temperatura, alimentación y circulación durante el cultivo post larval, fueron idénticas a la etapa larval.

Después de 6 a 8 semanas de cultivo total, las presemillas fueron sembradas en el mar. Cada netlon fue puesto en una bolsa colectora. Con las bolsas colectoras se confeccionó una unidad llamada "cuelga", correspondientes a una familia y suspendidas de un long-line, separadas cada 50 cm., con una con identificación de siembra correspondiente al stock y familia

3.1.1.4 Producción de microalgas

La producción de microalgas esta directamente asociada a la producción de semillas de moluscos y acondicionamiento de reproductores de bivalvos, porque constituye el alimento de estas especies en la etapa de cultivo bajo condiciones controladas de hatchery. Por tal motivo, su producción se expondrá en primer término.

Para la producción de semillas, primero debe implementarse la producción de microalgas, para poder abastecer de alimento a los ostiones mantenidos en las diferentes etapas del cultivo, i.e., acondicionamiento de reproductores, cultivo larval y cultivo postlarval, teniendo en cada etapa diferentes requerimientos.

Durante el acondicionamiento de los reproductores fueron de un cilindro de 200 l a una concentración de 3×10^6 cél./ml diariamente, lo que equivale a un requerimiento de 14 matraces de 2000 ml de cultivo intermedio semanal. En la época de producción de semillas en el hatchery, las demandas equivalieron al doble que el proceso anterior durante las fases larvales tempranas y al triple durante los cultivos de postlarvas.

3.1.1.5 Marcaje de semillas de las clases año 2002 (S02 y N02) y 2003 (S03 y N03)

De cada familia formada de cada clase año de ambos stocks, una muestra de 650 ostiones fueron marcados, de los cuales 200 pasaron a formar parte del programa mantenido en Hueihue y las restantes fueron distribuidas entre los asociados. El marcaje de los individuos facilitó hacer un seguimiento estricto de ellos a través de un diseño de siembra que permitió hacerlos crecer en comunidad, de acuerdo a un diseño preestablecido para el análisis estadístico, evaluando así los stocks separando los efectos de padre, madre, año, stock, ubicación en el mar, etc.



Los individuos de esta clase año 2002 (N02 y S02) fueron marcados con 5 meses de desfase en el ciclo de producción del programa, debido a que la aprobación del proyecto sólo se produjo en diciembre del 2002. El marcaje de la clase año 2003 (N03 y S03) se realizó en el periodo estival 2004, como ha sido protocolarizado a lo largo del programa. Como es conocido, cada ostión fue marcado utilizando marcas plásticas numéricas de 2 a 5 mm (dependiendo del número de dígitos) adheridas con pegamento de secado rápido Loctite. Junto con el marcaje, las medidas de los caracteres de importancia para el programa, alto y ancho de la valva, fueron registrados para cada individuo.

3.2 Estimación de parámetros Genéticos

3.2.1 Selección de reproductores, estimación de heredabilidades y correlaciones genéticas de la clase año impar.

La selección genética de los ostiones se debe realizar, utilizando aquellos individuos que presentan los mayores valores genéticos para características asociadas con el objetivo de mejoramiento, es decir, de aquellas características que inciden directamente en el rendimiento productivo de las empresas acuícolas (ver presentación a los productores de ostión del norte en el **anexo 1** y "Registro de información del cultivo y cosecha de ostiones del norte (*Argopecten purpuratus*) genéticamente mejorados" que fue entregado a los productores (sección 4.2). En este caso particular, las características que estarían directamente influyendo el objetivo de mejoramiento, serían el peso del músculo en conjunto con el peso de las gónadas.

Cabe mencionar que no se cuenta con estimaciones de las correlaciones genéticas necesarias para estimar directamente el valor genético del peso del músculo utilizando la información de peso vivo en Hueihue, de allí que en una reunión realizada con los productores en el mes de julio del 2003 se procedió a gestionar las actividades que permitan obtener la información fenotípica necesaria para obtener las correlaciones genéticas entre las mediciones realizadas en Hueihue y las mediciones realizadas en el norte directamente en las empresas. Un resumen de la charla técnica de introducción a conceptos relativos a mejoramiento genético de los ostiones realizada a los productores de ostión de la tercera y cuarta región se presenta en el **anexo 1**

Los valores genéticos son desconocidos y por lo tanto es necesario predecir cada valor utilizando la información de todos los parientes de cada individuo evaluado. Esto usualmente se realiza utilizando la del pedigrí que incluye, padres, hermanos, abuelos, hijos, sin embargo, la información disponible sólo consta de un número reducido de parientes, es decir principalmente información fenotípica de los hermanos y del propio individuo evaluado. Esto conlleva necesariamente a seleccionar por el valor genético promedio familiar (Martínez, 2003, enviado a publicación). Esta situación tiene la desventaja de incrementar de manera importante las tasas de consanguinidad poblacional. Un aumento desmedido de la consanguinidad lleva consigo una pérdida en el corto y mediano plazo de la variabilidad genética aditiva (y por consiguiente de la heredabilidad) de la población, producto de la selección genética aplicada.



Por estos motivos, la selección se llevó a cabo utilizando la información del muestreo mendeliano de los genes lo cual permite de una manera sustentable desarrollar un programa de mejoramiento moderno. En la práctica se procedió a utilizar el desvío del valor genético sobre el promedio familiar y con ello utilizar este desvío como criterio de selección para ordenar a todos los candidatos a la selección.

Los valores genéticos se predijeron utilizando el modelo que se implementó para la estimación de las heredabilidades (ver a continuación), Los desvíos genéticos fueron finalmente utilizados para la selección de reproductores que formaron la clase año 2003 (N-03 y S-03).

La estimación de las heredabilidades y correlaciones de la clase año parental de la generación 2003, es decir, la clase año 2001, se realizó con un modelo de efectos aleatorios donde se incluyó el efecto animal utilizando como covarianza la matriz de parentesco aditivo y el efecto aleatorio de la ubicación dentro de linterna, el cual se asumió no correlacionado con el resto de los efectos aleatorios. En notación matricial, el modelo de análisis es igual a:

$$Y = Wl + Za + e$$

Donde; Y es el vector de las observaciones fenotípicas para alto, ancho y peso a la cosecha, l, a y e son los vectores de los efectos aleatorios de linterna piso, valores genético aditivos y residuos. W, Z son las matrices de diseño que relacionan los efectos aleatorios con los valores fenotípicos. La esperanza de Y es igual a 0 y la varianza total (s^2_t) es igual a la suma de las varianzas debidas a los efectos de linterna (s^2_l), efectos genético aditivos (s^2_a) y la varianza de los efectos residuales (s^2_e). La co-varianza genética aditiva entre los individuos de esta población se representa como As^2_a , donde A es la matriz de parentesco aditivo o el doble de la coancestría entre los parientes de esta población. El método de estimación de las varianzas correspondió a la esperanza maximizada utilizando simultáneamente toda la información de las covarianzas entre los parientes de esta población. Máxima verosimilitud se utilizó para obtener los estimadores de varianzas (Gilmour, 2003). El modelo utilizado para alto y ancho de semilla y alto, sólo incluyó el efecto animal en conjunto con los efectos residuales. Cabe señalar, que la implementación de este análisis utilizando metodología Bayesiana fue desarrollado para ser presentado en el VIII congreso de genética aplicada a acuicultura a celebrarse en Noviembre del año 2003. Este resumen se presenta en la sección 4.2.

Los componentes de varianza estimados para las distintas características muestreadas en el marcaje se presentan en la **tabla 5**. En términos generales, cada una de las variables presentó variabilidad genética aditiva, la cual representó entre un 10 y 20 por ciento de la variabilidad fenotípica total. La proporción de la variabilidad fenotípica explicada por la variación debida a los efectos genético aditivos es la heredabilidad (h^2), que es el parámetro más importante que determina de que manera los valores genéticos se estiman en un programa de mejoramiento. Cabe mencionar, que en esta etapa el stock del norte presenta heredabilidades un poco mayores que el doble de las estimadas para el stock del sur.



Tabla 5. Componentes de varianza para alto y ancho de concha al marcaje

	NORTE		SUR	
	ALTO	ANCHO	ALTO	ANCHO
σ_e^2	15.84	1.74	18.56	2.39
σ_a^2	5.14	1.33	2.14	0.52
σ_t^2	20.98	3.07	20.70	2.91
h^2	0.25	0.43	0.10	0.18

Las heredabilidades estimadas para características medidas en el periodo de cosecha se presentan en la **tabla 6**. En general, en esta etapa, la tendencia de las heredabilidades en la etapa de marcaje se revirtió, es decir en el stock del sur las heredabilidades fueron aproximadamente el doble de las obtenidas para el stock del norte. Es decir, es en este stock donde es posible esperar un mayor mejoramiento genético aplicado. En relación a la magnitud de las heredabilidades entre las características, tanto peso como alto presentaron las mayores heredabilidades.

Se realizó, en terreno un análisis preliminar en el cual se investigó las asociaciones fenotípicas existentes entre alto y ancho valvar, peso vivo y el peso de músculo y gónadas. Se muestreo alrededor de 200 individuos, los cuales fueron medidos y pesados luego del desconche (Enero de 2003). Este análisis, reveló una mayor asociación fenotípica entre el peso vivo y el peso de músculo y gónadas. Las asociaciones entre las otras variables medidas en el organismo vivo fueron comparativamente menores. Por estos motivos, se estimó que el objetivo de mejoramiento debería estar dado por la selección utilizando la información de peso vivo para obtener los valores genéticos como criterio de selección.

Tabla 6. Componentes de varianza para peso, alto y ancho de ostión a la cosecha

	NORTE			SUR		
	PESO	ALTO	ANCHO	PESO	ALTO	ANCHO
σ_l^2	69.73	11.07	1.20	35.09	7.83	0.77
σ_a^2	98.67	17.14	1.86	135.59	29.09	2.67
σ_e^2	319.76	54.65	9.45	208.58	45.16	4.90
σ_t^2	488.15	82.86	12.51	379.27	82.08	8.34
h^2	0.20	0.21	0.15	0.36	0.35	0.32



3.2.2 Selección de reproductores, estimación de heredabilidades y correlaciones genéticas de la clase año par.

Como se mencionó en el punto 3.1.1, se acordó con los productores efectuar un muestreo directamente en las empresas durante la época estival (Febrero) del año 2004 para obtener la información fenotípica necesaria para calcular las correlaciones genéticas entre las mediciones realizadas en Hueihue y las mediciones realizadas en cada empresa. Este muestreo consistió en la toma de registros de diversas características morfométricas, características internas del ostión y ubicación en las linternas en 5 de las empresas participantes del proyecto en las regiones tercera (Caldera) y cuarta (Tongoy). Para realizar este evento se tuvo que coordinar el envío de ejemplares desde las instalaciones en el mar en cada centro donde estaban las linternas con ostiones marcados individualmente hacia Tongoy donde los individuos dentro de las linternas eran sacados y puestos en mallas plásticas rotuladas donde se mantenía la información de linterna y piso, además de la marca individual. Estos eran luego trasladados en condiciones refrigeradas para realizar el muestreo directamente en el laboratorio de APOOCH en Coquimbo. La información recopilada se incluyó en una planilla especialmente confeccionada para estos fines, la cual contiene toda la información relevante para realizar tanto el análisis fenotípico como genético.

Las características incluidas en la medición son.

- Identificación de Linterna
- Piso (dentro linterna)
- Número ejemplar (marca)
- Mortalidad (muerto=1, deforme=2, otro=3)
- Longitud valvar (mm) (medida antero-posterior); ancho valvar (mm); Alto valvar (mm) (medida dorso ventral)

En este muestreo se recopiló información de aproximadamente 2114 individuos para todas aquellas características incluidas en la base de datos. La pérdida de la marca individual y por ende de la identificación que se utiliza para determinar la familia a cual pertenece el individuo fue importante. Del total de individuos muestreados solo un 50% poseía marca legible. Debido que no es necesaria la marca individual para realizar el análisis fenotípico, se utilizó la totalidad de estos individuos para este propósito. Sin embargo, debido a que es necesario conocer el pedigree fidedigno para realizar el análisis genético, solo 925 individuos pudieron ser finalmente utilizados. Todos estos individuos pertenecían al stock norte.

3.2.2.1 Análisis fenotípico

La **tabla 7** presenta la descripción estadística básica de las distintas características, medidas en las empresas de la III y IV región. En general se describe 2 tipos de patrones, en el primero todas aquellas características medidas externamente, tales como longitud ancho y alto valvar, presentan



una menor variabilidad, con coeficientes de variaci3n cercanos al 15 %, en relaci3n a aquellas como el peso de las distintas estructuras medidas, tanto interna como externamente (Figura 3).

	Longitud valvar (mm)	Ancho valvar (mm)	Alto valvar (mm)	Peso Total (caracola)	Peso tejidos blancos (gr)	Peso gonada (gr)	Peso m3sculo (gr)
Promedio	63.91	22.76	64.17	53.70	19.80	4.30	5.40
Min	13.20	14.40	35.00	12.50	2.70	0.20	0.58
Max	102.40	56.00	92.50	151.70	59.10	42.61	19.57
SD	11.25	3.30	10.58	23.32	10.00	3.73	3.65
CV	18%	15%	16%	43%	51%	78%	68%
n	2114	2113	2111	2111	2092	2093	2097

Tabla 7. Descripci3n estadística b3sica de características medidas en los ostiones entregados a las empresas asociadas al proyecto

No obstante lo anterior, la distribuci3n de los datos no se ve mayormente afectada con relaci3n a la esperada de acuerdo a una distribuci3n normal. La figura 4 presenta la distribuci3n observada de peso del m3sculo (el objetivo de mejoramiento en esta poblaci3n). En esta figura se puede apreciar que aunque solo existe cierta asimetría en la distribuci3n, lo cual no afectaría la estimaci3n de parámetros genéticos.

3.2.2.2 Covariaci3n fenotípica

Siguiendo con el an3lisis de la informaci3n, se procedió a determinar el grado de asociaci3n entre las distintas características involucradas en las mediciones desde un punto de vista fenotípico. Esta informaci3n fue presentada por el Dr. V3ctor Mart3nez en el Congreso de Ciencias del Mar, realizado en Coquimbo durante mayo del a3o 2004 y el anexo 2 y 3 muestran el resumen y la presentaci3n oral, respectivamente.

Para analizar esta informaci3n se procedió a utilizar el siguiente modelo estadístico de efectos fijos:

$$Y=Xb+e$$

donde Y es el vector de las observaciones de cada característica, b es el vector del efecto empresa, e son los efectos residuales y X relaciona b con Y. Para estimar, el grado de asociaci3n fenotípica se utiliz3 los efectos residuales del modelo anterior, de manera tal de quitar variabilidad que no este explicada s3lo por efectos ambientales debido a empresa, con el coeficiente de Correlaci3n de Pearson, el cual asume una distribuci3n divariada de los datos.

En la figura 5, se presenta la proporci3n de la varianza explicada por el modelo de efectos fijos implementado en este an3lisis. Cabe se3alar, que en t3rminos generales el modelo explic3 una proporci3n importante de la variabilidad observada, siendo los R² cercanos a 30%, lo cual podría



explicarse por diferencias en el manejo de las distintas empresas y o condiciones ambientales de los sitios, especialmente entre la tercera y cuarta región

3.2.2.3 Correlaciones fenotípicas

La tabla 8 presenta sobre la diagonal las correlaciones fenotípicas estimadas entre las distintas mediciones tanto en Hueihue como en el norte. En términos generales, se observó correlaciones relativamente altas entre peso del músculo y las mediciones externas de talla ALN, ANN y LON y especialmente con el peso corporal total con concha, el cual fue cercano a un 87%.

	PCH	ALH	ANH	PCN	PTN	PGN	PMN	ALN	ANN	LON
PCH	1.00	0.83	0.94
ALH		1.00	0.86
ANH			1.00
PCN				1.00	0.80	0.90	0.87	0.84	0.58	0.8
PTN					1.00	0.80	0.85	0.81	0.58	0.77
PGN						1.00	0.88	0.84	0.59	0.81
PMN							1.00	0.92	0.67	0.87
ALN								1.00	0.73	0.89
ANN									1.00	0.59
LON										1.00

Tabla 8. Correlaciones fenotípicas (sobre la diagonal) entre mediciones de talla y peso vivo con mediciones internas

3.2.2.4 Heredabilidades y correlaciones genéticas utilizando análisis multivariado

La estimación de los componentes de varianza se realizó utilizando REML con un modelo mixto multivariado de la forma:

$$\begin{bmatrix} Y_1 \\ Y_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_1 & 0 \\ 0 & X_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} Z_1 & 0 \\ 0 & Z_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \end{bmatrix}$$



donde Y es el vector de las observaciones para la característica t -ésima, b_t , a_t y e_t son los vectores que representan los efectos fijos, valores genéticos y efectos residuales para la característica t -ésima, respectivamente. X_t y Z_t son las matrices que relacionan efectos fijos y valores genéticos con las observaciones para la característica t -ésima

Recordando que el objetivo de mejoramiento, es el peso del músculo en las estaciones de mar, es de relevancia, presentar las asociaciones entre las mediciones en Hueihue (donde se realiza las decisiones de selección hasta el momento dentro del programa) y el peso del músculo medido en el norte. A su vez, también es de relevancia estimar el grado de asociación entre el peso del músculo y el peso total con concha en el norte cuando se requiera seleccionar directamente en el norte y así definir los esquemas de mejoramiento más eficientes. Los resultados de este análisis se presentan en tabla-matriz (Tabla 9). Se observó heredabilidades relativamente semejantes entre las mediciones de peso corporal total (cercasas a un 20%). Para las características relativas a talla del ostión éstas fueron relativamente menores. Llama la atención primeramente la relativamente bajas heredabilidades que se obtuvieron para las características de peso de estructuras internas en las estaciones de mar en el norte. De especial relevancia es la heredabilidad para peso del músculo la característica que se quiere seleccionar, la cual solo presenta un valor de 0.07 %. Cabe señalar, que este análisis se realizó utilizando toda la información disponible de manera tal que es poco esperable sesgos que disminuyan la varianza genética presente. Esto podría deberse al menos a 3 causas principales:

- 1) Establecimiento de la población base, al comenzar todo programa de mejoramiento genético se debe tener especial precaución acerca de los individuos que se utilizan para formar la población base. Las estimaciones de heterocigosidad observadas en la población base mostraron baja variabilidad.
- 2) Selección que no incluye minimización de la consanguinidad poblacional.
- 3) Selección natural previa de este stock, debido a que el músculo estaría asociado a caracteres relacionados con la adaptación. del ostión.

En términos generales, tanto la magnitud como el signo entre las correlaciones fenotípicas y genéticas se mantuvieron relativamente semejantes entre ellas, destaca especialmente las altas correlaciones entre PCH, ANH, PCN, ALN y LON y PMN.



	PCH	ALH	ANH	PCN	PTN	PGN	PMN	ALN	ANN	LON
PCH	0.25									
ALH	0.89	0.24								
ANH	0.90	0.86	0.24							
PCN	0.41	0.36	0.34	0.21						
PTN	0.69	0.58	0.63	0.98	0.09					
PGN	0.26	0.08	0.34	0.77	0.95	0.23				
PMN	0.97	0.84	0.96	0.88	0.81	0.51	0.07			
ALN	0.98	0.97	0.97	0.92	0.84	0.49	0.97	0.05		
ANN	0.68	0.46	0.70	0.85	0.95	0.97	0.81	0.66	0.18	
LON	0.83	0.78	0.76	0.91	0.97	0.63	0.98	0.99	0.78	0.09

Tabla 9. Heredabilidades y correlaciones genéticas bajo la diagonal para las mediciones de Hueihue y las estaciones de prueba en el norte

3.2.2.5 Respuesta esperada a la selecci3n indirecta por peso corporal total en Hueihue y el peso corporal en las estaciones de prueba del norte.

La respuesta a la selecci3n, es decir el cambio promedio en los valores genéticos indirectamente predichos con informaci3n de características correlacionadas puede ser estimado utilizando la teorí3 de los índices de selecci3n (Van Vleck, 1995).

Sea X la característica directamente seleccionada (peso total Hueihue) e Y la característica que se quiere mejorar (peso del músculo), entonces el valor genético de Y puede ser predicho utilizando.

$$b(X - \mu_x) = A_y$$

donde, X es el valor fenotípico de un propio hermano, A_y es el valor genético de Y, μ_x es el promedio de Xy b es un ponderador que se calcula como



$$b = \frac{\frac{1}{2} \sigma_{A(X,Y)}}{\sigma_x^2}$$

donde, σ_x^2 es la varianza fenotipica de X y $\sigma_{A(X,Y)}$ es la covarianza genética entre X e Y

Bajo estos supuestos, la respuesta esperada puede calcularse como $R = i b \sigma_x^2 b$, donde i es la intensidad de selecci3n. Evaluando esta expresi3n, se obtiene que por 1 unidad de intensidad de selecci3n, la respuesta a la selecci3n esperada de aproximadamente entre un 2 a un 3 por ciento por generaci3n. Esta estimaci3n es esperable debido a la relativamente escasa variaci3n genética presente en esta poblaci3n para ser utilizada para peso del m3sculo.

3.2.2.6 Decisiones de selecci3n y efecto sobre las tasas de consanguinidad

Los valores genéticos son desconocidos y por lo tanto es necesario predecir cada valor utilizando la informaci3n de todos los parientes de cada individuo evaluado. Esto usualmente se realiza utilizando el pedigrí que incluye, padres, hermanos, abuelos, hijos. Sin embargo, la informaci3n disponible sólo consta de un número reducido de parientes, es decir principalmente informaci3n fenotipica de los hermanos y del propio individuo evaluado. Esto conlleva necesariamente a seleccionar por el valor genético promedio familiar (Martínez, 2003, enviado a publicaci3n). Esta situaci3n tiene la desventaja de incrementar de manera importante las tasas de consanguinidad poblacional. Un aumento desmedido de la consanguinidad lleva consigo una p3rdida en el corto y mediano plazo de la variabilidad genética aditiva (y por consiguiente de la heredabilidad) de la poblaci3n, lo que es producto de la selecci3n genética aplicada.

En el proyecto anterior, la selecci3n se llevó a cabo utilizando la informaci3n de pedigree y fenotipo, sin considerar el aumento en la consanguinidad. Esto conlleva además a incrementos aún mayores de consanguinidad considerando que individuos pueden tener una mayor coancestría cuando son producto de autofecundaci3n.

En el presente proyecto, se optimizó la selecci3n utilizando como criterio la informaci3n del muestreo mendeliano de los genes lo cual permite de una manera sustentable desarrollar un programa de mejoramiento moderno (datos no publicados). Los valores genéticos se predijeron utilizando el modelo que se implementó para la estimaci3n de las heredabilidades.



3.3 Adaptaci3n del modelo de selecci3n gen3tica al programa de selecci3n del osti3n

La base de todo programa de mejoramiento la constituye un buen sistema de registros, una evaluaci3n gen3tica que incluya idealmente informaci3n de parientes y finalmente la manera m3s eficiente y sustentable de obtener una respuesta a la selecci3n adecuada. Esto requiere sistematizar la informaci3n que se genera dentro del programa, de manera tal que sea posible de una manera eficiente obtener la informaci3n productiva, que permita evaluar cambios en el promedio, cambios en la varianza, o para extraer la informaci3n necesaria en la evaluaci3n gen3tica.

3.3.1 Formaci3n de la base de datos

La informaci3n generada dentro del programa se encuentra en archivos individuales que corresponden a los periodos en los cuales se toma la mayor cantidad de informaci3n de los caracteres medidos (marcaje y cosecha) as3 como tambi3n en archivos donde se encuentra la informaci3n del n3mero correlativo y el n3mero de padre y madre.

Para formar la base de datos se desarroll3 en Statistical An3lisis Sytems (SAS, 2003) programas que permiten rescatar la informaci3n relevante (por ejemplo, un programa que incluye el n3mero individual, el padre y la el valor individual de peso) y de all3 asociar de acuerdo a una clave (en este caso el numero individual o familiar), tanto la informaci3n de pedigr3 (padre o madre) as3 como tambi3n de las variables medidas individualmente en el marcaje o cosecha. Finalmente, luego de obtener la informaci3n sistematizada, se construy3 la base de datos de cosecha que incluye como columnas las siguientes variables (ver **Figura 6**):

Base de datos de cosecha

IDANIMREC, identificaci3n re-codificada correlativa de cada registro individual.

PADRE, padre del individuo.

MADRE, madre del individuo.

LINTERNA, ubicaci3n del individuo en las linternas del complejo Hueihue.

ALTO COSECHA, alto de concha individual.

ANCHO COSECHA, ancho de concha individual.

PESO COSECHA, peso de concha individual.

En la base de datos del periodo de marcaje se incorpor3 la siguiente informaci3n:

IDANIMREC, identificaci3n re-codificada correlativa de cada registro individual.

PADRE, padre del individuo.

MADRE, madre del individuo.

ALTO SEMILLA, alto de concha individual.

ANCHO SEMILLA, ancho de concha individual.



Previo al análisis productivo básico, se verificó en los datos si existían errores de tipeo o errores sistemáticos al ingresar la información. Se utilizó los siguientes criterios de depuración para verificar la exactitud de la base:

- Ilegibilidad de la marca individual (5 %).
- Registros de Individuos Repetidos (aprox. de 300 a 2800 registros).
- Registros Fuera del Rango de Normalidad para cada Característica (20).
- Incorrecta Asignación de Pedigrí en el archivo original.

Luego de esta depuración se procedió a generar la base de datos final en SAS, la cual permite obtener la información necesaria tanto para obtener información necesaria tanto de origen productivo, así como también para obtener la información fenotípica que es necesaria para la evaluación genética de reproductores.

La base de datos se utilizó íntegramente para describir estadísticamente cada una de las variables muestreadas en el programa. El promedio, varianza, mínimo, máximo y coeficiente de variación se presenta a continuación en la **Tabla 10 y 11** para características medidas en las semillas y en individuos a la cosecha, respectivamente. En términos generales, la distribución de las variables fue cercana a la normal, aunque algunas diferencias fueron encontradas para peso a la cosecha ($D < 0.01$). Los promedios fueron estadísticamente distintos entre ambos stocks ($P < 0.001$) para todas las variables medidas, siendo los promedios de peso, alto y ancho mayores para el stock del norte. Existió, una alta concordancia entre los coeficientes de variación calculados en ambos stocks, siendo relativamente altos para peso y medianos para alto y ancho.

Tabla 10. Descripción estadística de variables medidas al marcaje.

	NORTE		SUR	
	ALTO	ANCHO	ALTO	ANCHO
Número de Observaciones	17719	17717	18277	18277
Promedio	20.23	6.80	20.31	6.59
Desviación standard	4.61	1.76	4.59	1.68
Coeficiente de Variación	0.23	0.26	0.23	0.25
Mínimo	2.20	0.20	1.00	0.60
Máximo	52.50	21.80	48.00	27.60

Tabla 11. Descripción estadística de variables

	PES	NORT			SU	
		ALT	ANCH	PES	ALT	ANCH
Número de Observaciones	174	175	175	412	412	412
Promedio	59.7	63.7	21.9	51.8	60.8	19.9
Desviación	21.8	8.8	3.5	19.4	9.0	2.8
Coeficiente de	36.5	13.9	15.9	37.5	14.8	14.2
Mínim	7.2	22.5	11.0	8.2	31.0	11.0
Máxim	130.2	92.0	67.0	123.5	98.0	47.5



3.4 Identificación de marcadores genéticos y Evaluación de la depresión endogámica

El ostión del norte es una especie hermafrodita que presenta en condiciones naturales grados de autofecundación variable. En el contexto del programa de mejoramiento, el asumir que los padres no están emparentados puede llevar a sobre ó subestimar la variación genética aditiva. Los prejuicios en las estimaciones de variación genética aditiva a su vez causan errores en las estimaciones de heredabilidad y ganancia genética. En la actualidad, los ostiones del programa presentan algún nivel de endogamia que se desconoce por lo que es necesario abordar este problema a través de la identificación directa de los individuos producto de autofecundación, utilizando marcadores moleculares.

El bivalvo filtrador *Argopecten purpuratus* (ostion del norte) es un hermafrodita que se puede reproducir por cruzamiento y autofecundación. La identificación de progenie producto de autofecundación es pre-requisito tanto para estudios evolutivos que involucran determinar el fitness de ambas estrategias reproductivas y para la producción de progenie producto solamente de exogamia para el mejoramiento genético (tasa de crecimiento y resistencia a enfermedades).

Para el presente estudio, el diseño experimental de cruzamientos contempló el uso de individuos adultos de *Argopecten purpuratus* traídos de bancos naturales de la zona norte de Chile, para evitar el uso de stocks de hatchery que pudiesen ya poseer un alto grado de endogamia.

3.4.1 Diseño experimental de cruzamientos

El diseño experimental de los cruzamientos tuvo como objetivo la obtención de familias 100% endogámicas (producto de autofecundación) y exo-gámicas (con frecuencias reducidas de autofecundados) utilizando un diseño factorial de manera de tener todas las posibles combinaciones y sus cruzamientos recíprocos (dia-alélicos).

Luego de 2 semanas de acondicionamiento, todos los individuos fueron marcados en forma individual el día 19 de Junio del 2003 (**Figura 7**) y se indujeron al desove en forma individual, de tal forma de reducir al máximo la contaminación genética y los niveles de autofecundación. Se obtuvo ovas y espermios de buena calidad de 7 individuos con los cuales se llevó a cabo un diseño de cruzamiento factorial (**Tabla 12**). La metodología de desove, cruzamiento, cultivo larval y nursery utilizada fue la misma utilizada en la formación de familias del programa descrita en el punto 3.1.1.2

Debido a las características biológicas del desove en esta especie, en donde en el mismo individuo primeramente existe la expulsión de espermios y luego de ovocitos, es imposible llegar a tener 100% de ovocitos no fecundados para los cruzamientos dirigidos, ya que siempre quedan espermios en el ducto y cavidad palial, los cuales fecundan las ovas que suceden a la expulsión de espermios. Por ello, es que solo se tendrá la certeza de tener familias 100% autofecundadas, sin embargo, aquellas provenientes de cruzamientos, llevarán consigo un porcentaje de ovocitos ya fecundados por los espermios de ese mismo progenitor, lo cual, sin embargo es cuantificable. Para ello, se deja una



alicuota de la expulsión de ovas, las cuales se dejan 12 horas, luego de lo cual se cuantifica el porcentaje de ovas fecundadas (autofecundadas) (tabla 13).

♂ \	1	2	3	4	5	6	7
1	1♂ x 1♀ Fam: 01	1♂ x 2♀ Fam 08	1♂ x 3♀ Fam 15	1♂ x 4♀ Fam 22X	1♂ x 5♀ Fam 28	1♂ x 6♀ Fam 35	1♂ x 7♀ Fam 42
2	2♂ x 1♀ Fam 02	2♂ x 2♀ Fam 09	2♂ x 3♀ Fam 16	2♂ x 4♀ Fam 23	2♂ x 5♀ Fam 29	2♂ x 6♀ Fam 36	2♂ x 7♀ Fam 43
3	3♂ x 1♀ Fam 03	3♂ x 2♀ Fam 10	3♂ x 3♀ Fam 17	3♂ x 4♀ Fam 49	3♂ x 5♀ Fam 30	3♂ x 6♀ Fam 37	3♂ x 7♀ Fam 44
4	4♂ x 1♀ Fam 04	4♂ x 2♀ Fam 11	4♂ x 3♀ Fam 18	4♂ x 4♀ Fam 24	4♂ x 5♀ Fam 31	4♂ x 6♀ Fam 38	4♂ x 7♀ Fam 45
5	5♂ x 1♀ Fam 05	5♂ x 2♀ Fam 12	5♂ x 3♀ Fam 19	5♂ x 4♀ Fam 25	5♂ x 5♀ Fam 32	5♂ x 6♀ Fam 39	5♂ x 7♀ Fam 46
6	6♂ x 1♀ Fam 06	6♂ x 2♀ Fam 13	6♂ x 3♀ Fam 20	6♂ x 4♀ Fam 26	6♂ x 5♀ Fam 33	6♂ x 6♀ Fam 40	6♂ x 7♀ Fam 47
7	7♂ x 1♀ Fam 07	7♂ x 2♀ Fam 14	7♂ x 3♀ Fam 21	7♂ x 4♀X Fam 27	7♂ x 5♀ Fam 34	7♂ x 6♀ Fam 41	7♂ x 7♀ Fam 48

Tabla 12. Cruzamientos experimentales 7 individuos maduros (A... G) en un dise1o Factorial incluyendo cruzamientos di-alélicos como réplicas



Se obtuvieron inicialmente 49 familias provenientes de los cruzamientos factoriales (Tabla 12). De cada una de las 49 familias experimentales, se muestreó un mínimo 30 individuos durante la etapa larval (14 días) y posteriormente 25 familias (de aquellas ovas que obtuvieron porcentajes de autofecundación menores) en forma aleatoria a los 6, 10 y 14 meses de edad. La muestra de tejido (larva completa en caso de etapa larval) se fijó con etanol al 95% y se mantuvo en refrigeración hasta el momento del análisis (extracción de ADN).

Individuo	% de ovocitos autofecundados
1	14.2
2	45.8
3	14.9
4	18.0
5	17.9
6	23.2
7	9.9
Promedio	20.5

Tabla 13. Porcentaje promedio de autofecundación a las 12 horas post-desove, de las 3 alicuotas de ovocitos para cada uno de los individuos utilizados en los cruzamientos

Los individuos utilizados para los cruzamientos, una vez desovados, fueron disectados para obtener muestras de tejido del músculo, borde del manto y branquias, muestras que fueron fijadas en etanol al 95% en tubos eppendorf (Figura 8), mantenidas en refrigeración y trasladadas al laboratorio de genética aplicada del Instituto de Biología Marina en Valdivia.

Se muestreó el cultivo larval en forma aleatoria en cada uno de los estanques (familias) a los 14 días, obteniéndose entre 30 y 50 larvas de cada estanque, las que fueron fijadas en tubos eppendorf con etanol al 95%.

3.4.2 Evaluación y ajuste de las técnicas moleculares y marcadores

La técnica RAPDs (Amplificación al azar de polimorfismos de ADN) que se basa en la técnica PCR (reacción en cadena de la polimerasa), utiliza partidores de secuencia arbitraria para amplificar pequeños segmentos de ADN genómico, para los cuales no se requiere de información proveniente de una secuenciación previa. Los partidores a utilizar son por lo general de 10 pares de bases de largo, y pueden detectar polimorfismos en forma más eficiente si poseen una cantidad alta de GC (entre 50-70%) y una o más secciones de bases repetidas. Los polimorfismos son causados por diferencias solo en un par de bases en los sitios partidores.



Para este tipo de análisis se comenzó a analizar todos los progenitores con los 48 partidores en cada una de las familias producidas (**Figura 9**). Aquellos partidores que muestren mayor polimorfismo entre los progenitores se utilizarán para amplificar la progenie. En la progenie de cada una de las familias producidas se muestrearon 30 individuos durante la etapa larval. Además se muestrearon los estadios juvenil y adulto a los 14 meses.

Extracción de ADN:

Adultos: Se extrajo el ADN genómico total de un trozo de tejido (50 – 100 mg) fijado previamente en etanol al 95% , el cual se trozó finamente dejándolo digerir en lysis-buffer (50-mM Tris-HCl (pH 8.0); 1.0% SDS; 25nM EDTA) con 200 µg de proteinasa K (Sigma) a 37 °C durante 12 horas. Luego se le adicionó 500 µl de una solución de fenol-cloroformo-isoamil alcohol (24:24:1). Esta mezcla se agitó en un vortex y se centrifugó a 13.000 rpm durante 15 minutos a 5 °C, para posteriormente sifonear el sobrenadante y transferirlo a un nuevo tubo eppendorf de 1.5 ml previamente autoclavado. Los ácidos nucleicos se precipitaron con la adición de 1000 µl de etanol al 90% mantenido a -20 °C, y posteriormente los tubos se mantuvieron en el freezer a -20°C por 20 minutos previo a su centrifugación a 6.000 rpm por 3 minutos. Luego el sobrenadante se descartó, y se adicionó nuevamente 500 µl de etanol a -20 °C, para luego centrifugar a 6000 RPM. Luego de este procedimiento de lavado, se procedió a descartar el sobrenadante, dejando el pellet en el fondo del tubo y colocando los tubos en un concentrador (disecador SAVANT DNA 110) de ADN a 37°C hasta evaporar el resto de etanol. El pellet de ADN extraído se resuspendió (incubando a 60°C por 10 minutos) en 200 µl de agua bidestilada y se almacenó a -20°C, hasta el momento de la amplificación.

Larvas: Para el caso de las larvas (aprox 150 micrones de diámetro), éstas fueron previamente separadas en forma individual de cada una de las familias bajo una lupa esteroscópica, colocando una larva por tubo eppendorf. El resto de la extracción siguió el método descrito para los tejidos de los adultos.

Amplificación del ADN:

Con el fin de detectar un mínimo de 3 partidores que generen polimorfismo, se probaron 48 partidores en cada reacción PCR (para cada ejemplar) (**Figura 9, 10**) con el fin de generar marcadores moleculares para los 30 individuos de cada una de las familias experimentales producidas.

Se llevaron a cabo amplificaciones estándar para PCR utilizando una mezcla de 25 µl (en tubos para PCR ultra delgados de 500 µl (Gordon technologies)) que contienen 2 µl de ADN genómico extraído (100 ng/µl de ADN), 0.2 mM de cada uno de los cuatro dNTPs (deoxyribonucleotide triphosphates; dCTP, dGTP, dATP, dTTP. SIGMA), 2.0 mM MgCl₂, 0.4 mM del partidor, una unidad de Taq (Thermus aquaticus) ADN polimerasa (Promega), agua bi-destilada y PCR-buffer (Promega). La reacción se cubre con una gota de aceite mineral para evitar evaporación y se colocó en un



termo-ciclador (Amplifitron II, Thermolyne Inc). El protocolo del termo-ciclador consistió en un corto periodo de denaturalización a 94°C por 15 seg, seguido de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 35°C por 30 segundos y 72 °C por 1 minuto. Se puso especial cuidado en la manipulación, para prevenir contaminación de ADN de cada muestra. Se usaron pipetas eppendorf con puntas desechables, las cuales se autoclavan periódicamente junto con todos los tubos y puntas que son del tipo desechables. Se utilizaron dos tipos de controles: Un descendiente sintético (SO) se crea para cada familia mezclando cantidades de ADN genómico de ambos padres, además, en cada set de muestras a amplificar en el termo-ciclador, se adiciona una muestra negativa (sin ADN).

Electroforesis del producto de la amplificación PCR:

La totalidad de los fragmentos de ADN amplificado con los partidores utilizados se separan en geles de agarosa (SIGMA high resolution) al 1.5% en buffer TBE 0.5X (44.5 mM tris base, 44.5 mM ácido bórico, 1M EDTA pH 8) por aproximadamente 2 horas a 112 volts. Una escala estandar de 1Kb (Life Technologies) se corre en uno de los extremos del gel. Luego de la electroforesis los fragmentos RAPD se visualizan con una tinción de etidium bromide durante 15 minutos y previo a un lavado de los geles en agua, su visualización se lleva a cabo en bandejas de luz UV, donde se fotografian según Comesaña *et al.* (1999); Toro (1999) (Figura 9 y 10).

Secuencia de los partidores RAPDs que se utilizaron:

Partidor Secuencia 5' - 3'

1	CCTGGGTTTG
2	ACAGGGCTCA
3	CCGGCCCCAA
4	TTCCCCGCC
5	GAGGGCGTGA
6	GAGGGCGAGC
7	GAGGGCGAGG
8	GAGCACCAGG
9	GAGCTCGTGT
10	GAGCACGGGG
11	GGGCTCGTGG
12	GGGCGCGAGT
13	ATCCTGCCAG
14	ATCGGGTCCG
15	GCGGCTGGAG
16	GGTGGGGACT
17	GGGCAATGAT
18	CTCGGGTGGG
19	CGTCTGCCCC
20	TAGCCCGCTT



21 TACGATGACG
22 GCGGTATAGT
23 AACACACGAG
24 GGTCTCTCCC
25 AGAGGGTTCT
26 TGTCGGTTGC
27 ATGTGTTGCG
28 GTGCGTCCTC
29 AGCAGCGTGG
30 GGAGGCTCTG
31 GAGTCACGAG
32 CCAAGATGCT
33 ACTGCTACAG
34 CCAATTCACG
35 ACGACGTAGG
36 TGACCCCTCC
37 AACGGGCAGC
38 ATGACGACGG
39 GTGCGTCGCT
40 AGAATCCGCC
41 GCAGGACTGC
42 GAGCACTTAC
43 CGGTTTGGAA
44 ACGGCCGACC
45 GCACCGAGAG
46 GAAGCGCGAT
47 GCTGCGTGAC
48 CGAACGGCGG

3.4.3 Evaluaci3n de crecimiento (longitud de la valva y peso vivo) en cada una de las 25 familias experimentales, 4 producidas por autofecundaci3n y 21 que corresponden a familias exo-fecundadas a las cuales se le cuantific3 los porcentajes de autofecundaci3n inicial:

Con este prop3sito se realizaron muestreos peri3dicos a los 6, 10 y 14 meses de edad en los individuos marcados individualmente pertenecientes a cada una de las 25 familias experimentales seleccionadas para este prop3sito.

La talla de los individuos se determin3 utilizando un pie de metro (0.1 mm) y los resultados se presentan para cada familia en la **Figura 11**. En la **Figura 12**, se agrupan las familias de autofecundados (1, 9, 24 y 32) y las familias de exo-fecundaci3n para comparar gráficamente los



promedios en cuanto a longitud (mm) de la valva a los 10 y 14 meses de edad. Las **Tabla 14** y **15** muestran el an3lisis de varianza que determin3 diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los dos tipos de familias (endo y exo fecundadas), determinando a trav3s del test de Tukey, donde las familias de auto-fecundados presentaban levemente una mayor longitud de la valva a los 10 y 14 meses de edad.

El peso de los individuos se determin3 utilizando una balanza anal3tica de terreno (0.1 g) y los resultados se muestran para cada familia en la **figura 13**. La **Figura 14**, a su vez muestra los promedios del peso (g) entre las familias de endofecundados y exosfecundados a los 10 y 14 meses.

El an3lisis de varianza para el peso vivo entre las dos tipos de familias, demostr3 un valor de F significativo para los 10 meses (**tabla 16**) y no significativo para los 14 meses de edad (**tabla 17**)

Estos resultados demuestran, al igual que los reportados por Winkler y Est3vez (2003), que no existir3a depresi3n endog3mica expresada en la tasa de crecimiento entre los individuos auto-fecundados y los provenientes de cruzamientos. Por este motivo, es poco probable que los individuos auto-fecundados producidos al momento de iniciar las l3neas del programa de selecci3n puedan tener un efecto sobre las estimas de los par3metros gen3ticos b3sicos, sobre todo si se consideran los resultados que se describen a continuaci3n sobre los porcentajes de sobrevivencia de los auto-fecundados.

Tabla 14. An3lisis de Varianza (ANDEVA) para talla (mm) de *Argopecten purpuratus* a los 10 meses de edad considerando el efecto entre familias autofecundadas y de cruzamientos (N= 3064) M3ltiple R: 0.076. (SC = suma de cuadrados; GL = grados de libertad; CM Cuadrados medio; P = probabilidad).

FUENTE	SC	GL	CM	F	P
TIPO	940.8	1	940.858	18.010	0.000
ERROR	159963.9	3062	52.242		

Tabla 15. An3lisis de Varianza (ANDEVA) para talla (mm) de *Argopecten purpuratus* a los 14 meses de edad considerando el efecto entre familias autofecundadas y de cruzamientos (N= 1874) M3ltiple R: 0.079. (SC = suma de cuadrados; GL = grados de libertad; CM Cuadrados medio; P = probabilidad).

FUENTE	SC	GL	CM	F	P
TIPO	471.5	1	471.525	11.821	0.001
ERROR	74669.1	1872	39.887		



Tabla 16. Análisis de Varianza (ANDEVA) para peso vivo (g) de *Argopecten purpuratus* a los 10 meses de edad considerando el efecto entre familias autofecundadas y de cruzamientos (N= 3064) Múltiple R: 0.054. (SC = suma de cuadrados; GL = grados de libertad; CM Cuadrados medio; P = probabilidad).

FUENTE	SC	GL	CM	F	P
TIPO	294.5	1	294.458	8.846	0.003
ERROR	101929.3	3062	33.288		

Tabla 17. Análisis de Varianza (ANDEVA) para peso vivo (g) de *Argopecten purpuratus* a los 14 meses de edad considerando el efecto entre familias autofecundadas y de cruzamientos (N= 1874) Múltiple R: 0.037. (SC = suma de cuadrados; GL = grados de libertad; CM Cuadrados medio; P = probabilidad).

FUENTE	SC	GL	CM	F	P
TIPO	325.8	1	325.885	2.571	0.109
ERROR	237244.5	1872	126.733		

3.4.4 Evaluación de la sobrevivencia en cada una de las 25 familias experimentales, 4 producidas por autofecundación (1, 9, 24 y 32) y 21 familias exo-fecundadas a las cuales se le cuantificó los porcentajes de auto-fecundación inicial

La **figura 15** muestra los resultados de la sobrevivencia relativa por familia a partir del marcaje individual de 210 individuos/familia, a los 6, 10 y 14 meses de edad. Del gráfico se puede observar que existe una alta mortalidad dentro de las familias de autofecundados, lo que se comprueba a través del análisis de varianza (con los datos transformados a arcoseno) para la tasa de sobrevivencia a los 6, 10 y 14 meses de edad, entre las familias de auto y exo-fecundación (**Tablas 18, 19 y 20**).

La **figura 16** muestra los porcentajes promedio entre las familias de endo y exo fecundadas a los 6, 10 y 14 meses. Estos resultados demuestran que existe una depresión endogámica afectando la sobrevivencia de las familias de auto-fecundadas, lo cual es concordante con resultados reportados en otras especies de ostiones. Ibarra et al., (1995) encontró en *Argopecten circularis* una menor sobrevivencia en individuos auto-fecundados que en individuos producto de cruzamientos.



Tabla 18. Análisis de varianza (ANDEVA), con datos transformados a arcoseno, para la tasa de sobrevivencia de *Argopecten purpuratus* a los 6 meses de edad, considerando el efecto de familias autofecundadas y familias de cruzamientos. MÚLTIPLE R: 0.826. (SC = suma de cuadrados; GL = grados de libertad; CM Cuadrados medio; P = probabilidad).

FUENTE	SC	GL	CM	F	P
FAMILIA	5.680	1	5.680	49.515	0.000
ERROR	2.639	23	0.115		

Tabla 19. Análisis de varianza (ANDEVA), con datos transformados a arcoseno, para la tasa de sobrevivencia de *Argopecten purpuratus* a los 10 meses de edad, considerando el efecto de familias autofecundadas y familias de cruzamientos. MÚLTIPLE R: 0.897. (SC = suma de cuadrados; GL = grados de libertad; CM Cuadrados medio; P = probabilidad).

FUENTE	SC	GL	CM	F	P
FAMILIA	8.248	1	8.248	95.013	0.000
ERROR	1.997	23	0.087		

Tabla 20. Análisis de varianza (ANDEVA), con datos transformados a arcoseno, para la tasa de sobrevivencia de *Argopecten purpuratus* a los 14 meses de edad, considerando el efecto de familias autofecundadas y familias de cruzamientos. MÚLTIPLE R: 0.963. (SC = suma de cuadrados; GL = grados de libertad; CM Cuadrados medio; P = probabilidad).

FUENTE	SC	GL	CM	F	P
FAMILIA	14.344	1	14.344	295.697	0.000
ERROR	1.116	23	0.049		



3.4.5 Sobrevivencia de los autofecundados dentro de las familias de exofecundados producidas experimentalmente cuantificando el porcentaje de individuos autofecundados al momento de producir el cruzamiento

De los 48 partidores RAPDs, se identificó el N° 3 (CCGGCCCCAA), el cual entregó el polimorfismo que permitió determinar los patrones de los organismos producidos por auto-fecundación (Figura 17). Con ello, se logró determinar el porcentaje de individuos autofecundados en las familias de exofecundados en distintas etapas del ciclo de vida (Figura 18). Se observa que los porcentajes de auto-fecundación al producir las familias por cruzamiento van reduciéndose significativamente, lo cual está de acuerdo con los resultados encontrados para las familias producidas por auto-fecundación (fig 13, 15). La Tabla 21 presenta los datos expresados en porcentaje de individuos auto-fecundados dentro de las familias producidas por cruzamiento, en donde se aprecia en el promedio una reducción significativa de individuos auto-fecundados desde que se formaron las familias por cruzamiento hasta los 14 meses de edad. Ello reesfuerza la evidencia que el efecto que pudiesen tener los individuos auto-fecundados sobre las estimas de parámetros genéticos básicos en el programa de mejoramiento genético del ostión del norte es prácticamente nulo.

Tabla 21. Porcentajes (%) de individuos autofecundados dentro de las familias provenientes de exocruzamientos a través de diferentes etapas del ciclo de vida de *Argopecten purpuratus*.

Familia	Hembra	% inicial	% Larvas	% Juveniles	% Adultos
8	2	45.8	18.75	4.76	2.20
10	2	45.8	20.00	6.60	0.00
15	3	14.9	8.30	0.00	0.00
16	3	14.9	14.28	7.28	5.13
19	3	14.9	4.00	0.00	0.00
20	3	14.9	14.28	8.30	0.00
28	5	17.9	7.69	0.00	0.00
36	6	23.2	0.00	0.00	2.56
38	6	23.2	14.28	5.00	3.23
39	6	23.2	0.00	0.00	0.00
Promedio		23.87	10.15	3.19	1.31



3.4.6 Estimación del grado de endogamia esperado en las familias de exo-fecundados, como lo son las del programa de mejoramiento genético del ostión del norte

Debido a que *A. purpuratus* es un hermafrodita funcional, la producción de larvas auto-fecundadas incrementa la tasa de endogamia en un 50% respecto a la población natural.

En el presente estudio se obtuvo un porcentaje promedio de 20.5 % (9.9 % – 45.8 %) de individuos auto-fecundados al momento de formar las familias por cruzamiento. Sin embargo, estos porcentajes se reducen drásticamente, llegando a ser entre cero y 5 % a los 14 meses (Tabla 21).

Bajo auto-fecundación parcial, el coeficiente promedio de endogamia alcanza un nivel de equilibrio a: $F = (1 - C) / (1 + C)$ donde C es la proporción de individuos producidos por cruzamiento (Falconer & MacKay, 1996).

Si se asume una tasa de auto-fecundación de 20.5 % promedio por generación, el coeficiente promedio de endogamia sería de $F = 11.4$ (y la frecuencia esperada de heterocigotos para loci selectivamente neutrales relativo a una población con cruzamiento al azar sería de $(1 - F) = 0.885$). Sin embargo, debido a que la tasa de sobrevivencia de los individuos autofecundados es baja y los ostiones del programa de mejoramiento se cruzan a los 20 meses de edad, la tasa de auto-fecundados se reduce a menos del 4% por generación, por lo que el coeficiente promedio de endogamia sería de solo $F = 0.02$ (y la frecuencia esperada de heterocigotos para loci selectivamente neutrales relativo a una población con cruzamiento al azar sería de $(1 - F) = 0.979$).



4. ACTIVIDADES REALIZADAS Y RESULTADOS ETAPA 2

4.1 Preparación y elaboración de cursos de capacitación

Se realizaron dos cursos de capacitación en el marco de este proyecto.

4.1.1 Primer curso de capacitación

La capacitación en "Bases para el Mejoramiento Genético del Ostión" a las empresas comprometidas en el proyecto fue un compromiso adquirido por el IFOP al inicio del proyecto. La capacitación fue realizada por el señor Víctor Martínez, quien entregó el siguiente programa para el curso:

CURSO:

Bases para el Mejoramiento Genético en Ostiones.

PROFESOR COORDINADOR:

Victor Martínez, Lic. Cs. Vet, MV, MSc, PhD.

AYUDANTE:

Sebastián Cruz. Lic. Cs. Vet.

OBJETIVO GENERAL

** Comprender las bases del mejoramiento genético con especial énfasis en ostiones y su utilización en programas prácticos de selección genética.*

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desarrollar conceptos relativos a programas de mejoramiento genético y esquemas de selección.*
- Describir los diseños de cruzamientos utilizados en programas de mejoramiento genético y estimación de parámetros genéticos.*
- Definir estrategias que combinen la información de las características incluidas en el objetivo de mejoramiento.*
- Describir los factores que influyen la respuesta a la selección en programas de mejoramiento.*

PROGRAMA COMPUTACIONAL

El curso utilizará el programa estadístico ASREML, el cual está a disposición de los alumnos en el servidor www.genética_animal.uchile.cl



PROGRAMA DEL CURSO.

Día 1.

8:30-10:30. *Descripción de los efectos que explican la variación observable. Valores fenotípicos, Efecto promedio del gen, valor aditivo, genético y efectos ambientales. Parámetros que describen los componentes de la variación observable.*

Café y Ronda de Discusión. Hasta 11:00

11:00-13:00. *Definición del objetivo de mejoramiento y criterios de selección. Respuesta a la selección y factores que la afectan.*

13:00-14:00. *Almuerzo.*

14:10-16:10. *Parámetros Genéticos y su estimación. Heredabilidades y Correlaciones Genéticas y Ambientales.*

Café y Ronda de Discusión. Hasta 17:00.

17:00-19:30. *Estimación de valores genéticos utilizando Índice de selección y modelo animal.*

Día 2

8:30-9:30. *Construcción de un Índice de Selección que combina información de varias características simultáneamente.*

9:30-11:30.- *Introducción al Modelo Animal.*

Café y Ronda de Discusión. Hasta 12:30

12:30-14:00. *Actividad Práctica. Estimación de Parámetros Genéticos y Predicción de valores genéticos utilizando datos de Ostiones con programas computacionales.*

14:00-15:00. *Almuerzo.*

15:10-17:00. *Actividad Práctica (continuación).*

Café y Ronda de Discusión. Hasta 18:00

18:00-19:30. *Interpretación de resultados y Ronda de discusión sobre aspectos específicos de la biología del ostión y su influencia en programas de mejoramiento. Consideraciones finales.*



El curso se llevó a cabo entre los días 22 y 23 de mayo en la ciudad de Caldera para las empresas Camanchaca, Hidrocultivos, CMI. Una segunda versión de este mismo curso se dictó entre los días 2 y 3 de julio en la ciudad de Coquimbo para las empresas Cultivos Marinos Internacionales S.A., Pesquera San José S.A., Inversiones Centinela S.A., Comercial e Inversiones Loanco S.A. e Inversiones Ostimar S.A.

El perfil de los asistentes al curso en cada región fue de jefes de hatchery, asistente de hatchery, supervisor de hatchery, en general los profesionales a cargo de la producción de semillas de ostión, beneficiando a un total de 11 profesionales.

4.1.2 Segundo curso de capacitación

Este se realizó en la ciudad de La Serena, el día 28 de enero del presente de 15 a 18 hrs.

Asistieron representantes de las empresas Camanchaca, CMI, Cultivos Marinos Internacionales S.A., Pesquera San José S.A., Comercial e Inversiones Loanco S.A. e Inversiones Ostimar S.A.

Se hizo entrega de parte de los resultados finales del proyecto por parte de la Jefe de proyecto, presentación que es entregada en el anexo 4.

Por su parte, el Dr. Victor Martínez entregó los resultados finales de su subcontratación que se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Formación de la base de datos
- Descripción estadística de las poblaciones
- Estimación de parámetros genéticos
- Evaluación genética y selección de reproductores

El mismo profesional capacitó en el uso de la base de datos y el uso del modelo animal a través del programa estadístico ASREML para la obtención de los valores genéticos de los individuos para su selección. Se utilizó para el curso los datos de la clase año par 2002 (N-02 y S-02).

Con la capacitación ofrecida, las empresas podrán dar continuidad al programa, correspondiéndoles a ellos efectuar la selección genética de la clase año impar (2003; N-03) para dar origen a la generación 2005.

En dicho curso, también se hizo entrega de un CD conteniendo los protocolos de cultivo de ostiones en el marco del programa, así como los protocolos de marcaje, siembra y cosecha. También se hizo entrega de la base de datos generada en el proyecto.



4.2 Reuniones de coordinaci3n con las empresas

Se realizaron dos reuniones con las empresas asociadas.

La primera se llev3 a cabo el 31 de enero del 2003 en la ciudad de Santiago y la segunda reuni3n de transferencia se realiz3 los d3as 8 y 9 de julio, en las ciudades de Coquimbo, IV Regi3n y Bah3a Inglesa, III Regi3n

4.2.1 Primera Reuni3n

A esta reuni3n asistieron representantes de las empresas Cultivos Marinos Internacionales, Comercial e Inversiones Loanco Ltda., Hidrocultivos S.A., Compa3a Pesquera Camanchaca S.A., Empresas Pesquera San Jos3, Inversiones Centinela e Invertec Ostimar S.A. y Proteus S.A.

La principal actividad de esta reuni3n fue la presentaci3n hecha por la jefe de proyecto donde se expuso los resultados finales de la primera etapa de financiamiento CORFO del Programa de mejoramiento gen3tico del osti3n del norte (1999-2001). Los resultados en extenso de dicho proyecto se encuentran en el informe final entregado en septiembre del 2002. La exposici3n tambi3n incluy3 la presentaci3n del actual proyecto a los asociados con detalles de los objetivos y actividades a realizar entre enero del 2003 y junio del 2004

En esta ocasi3n tambi3n se constituy3 el Consejo Ejecutivo del proyecto:

INTEGRANTES CONSEJO EJECUTIVO PROYECTO GENETICA II

NOMBRE	CARGO	EMPRESA	RUT
Edgardo Alejandro Abarca Mu3oz	Jefe operaciones Hatchery	Pesquera San Jos3 S.A	8.846.222-K
Cristian Mauricio Tapia Cerda	Jefe Hatchery	Invertec Ostimar S.A	10.332.757-1
Nelson Eduardo Reyes L3pez	Gerente Administrador	Cultivos Marinos Internacionales S.A	8.713.519-5
Sergio Ricardo Soto Loyola	Jefe Hatchery	Compa3a Pesquera Camanchaca S.A	9.134.368-1
Rene Horacio Salinas Blanco	Gerente de Producci3n	Hidrocultivos S.A	10.230.404-7
Ivonne Magdalena Etchepare Robert	Gerente General	Asociaci3n de Productores de Ostras y Ostiones de Chile A.G.	8.469.718-4



4.2.2 Segunda Reunión

La segunda reunión de transferencia se realizó los días 8 y 9 de julio, en las ciudades de Coquimbo, IV Región y Bahía Inglesa, III Región

En la III Región asistieron representantes de las empresas Cultivos Marinos Internacionales, Comercial e Inversiones Loanco Ltda., Hidrocultivos S.A., y Compañía Pesquera Camanchaca S.A.

En la IV región asistieron representantes de las empresas Pesquera San José; Inversiones Centinela e Invertec Ostimar S.A.

En ambas regiones se contó con la presencia y colaboración de la gerencia de la Asociación de Productores de Ostión y Ostra de Chile (APOOCH) representada por la Sra. Ivonne Etchepare.

Las reuniones de transferencia, en ambas regiones, fueron de tipo expositiva con presentación en power point.

Las presentaciones fueron divididas en dos secciones; la primera a cargo de la Sra. Loreto Hidalgo Vargas, quien presentó los alcances del proyecto mismo, sus objetivos, actividades a realizar, resultados esperados y el grado de avance alcanzado hasta el mes de junio de 2003; la segunda a cargo del Dr. Víctor Martínez Moncada, quien presentó un marco general y los alcances de los programas de mejoramiento genético aplicados a la producción animal.

Posterior a las exposiciones se abrió una ronda de consultas tendientes a resolver dudas de los asistentes, incorporar observaciones y programar actividades a ejecutarse durante el segundo semestre del año 2003.

Dentro de las actividades más relevantes, se coordinó con las empresas asociadas, el registro de información que debe ser elaborado, a partir de los stocks de semilla de ostión mejorada genéticamente, que fue traspasado durante el mes de junio de 2003.

A continuación se presentan los documentos de trabajo entregado a las empresas asociadas para su implementación y ejecución, para el registro de información.

4.2.2.1 Registro de información del cultivo y cosecha de ostiones del norte (*Argopecten purpuratus*) genéticamente mejorados

1.- Objetivo General

El objetivo general de este protocolo es sentar las bases para la creación de una base de datos que contenga información relativa a variables ambientales y variables de importancia comercial de la especie *Argopecten purpuratus*, provenientes del Centro de Mejoramiento Genético del Ostión del



Norte del Centro de Maricultura Hueihue (CMG Ostión Hueihue), mantenidos en condiciones de cultivo comercial en la III y IV Regiones de Chile.

2.- Objetivos específicos

1. Medir el comportamiento productivo del ostión del norte proveniente del Centro de Maricultura Hueihue en condiciones de cultivo de la III y IV regiones
2. Estimar parámetros genéticos de características de importancia económica para el ostión proveniente del Centro de Maricultura Hueihue y extrapolar esta información con los criterios de selección utilizados en Hueihue.
3. Validar las interacciones genético ambientales de las características seleccionadas dentro del programa de mejoramiento genético.

3.- Resultado esperado

Con la información contenida en la base de datos, será posible medir cual es el grado de robustez del mejoramiento genético logrado en cada generación de selección, de ejemplares de *Argopecten purpuratus* seleccionados en Hueihue, utilizando mediciones de ejemplares in vivo con mediciones de características de importancia comercial, realizadas en las empresas privadas.

4.- Registro de información

Caracterización del centro de cultivo

1. Ubicación geográfica del centro
2. Temperatura promedio mensual del centro.
3. Salinidad promedio mensual del centro.

Información del stock genético

1. Distribución inicial de los ejemplares en el cultivo. N° de ejemplar y su distribución en linterna y piso (N° de linterna y N° de piso).
2. Fecha desdoble.
3. Distribución post desdoble de los ejemplares en el cultivo. N° de ejemplar y su distribución en linterna y piso (N° de linterna y N° de piso).
4. Fecha de cosecha



Información de ejemplares destinados a cosecha o reproducción (De acuerdo a indicaciones de la sección 4.1.2.2)

- a) Mortalidad por piso por linterna
- b) Longitud valvar.
- c) Ancho valvar.
- d) Peso total
- e) Peso sin concha (en caso de ejemplares destinados a cosecha)

4.2.2.2. Procedimiento de cosecha

1. Cosechar cada linterna por separado.
2. Poner todos los ejemplares de cada piso en un recipiente marcado con la misma marca de la linterna y piso.
3. Hacer la separación de los individuos vivos y muertos anotando la marca individual de cada tipo (vivo o muerto) de ejemplar.
4. **Los individuos vivos van a mediciones de cosecha o reproducción tomando las siguientes variables (Se adjuntan planillas para ingreso de información de cada variable)**
 - a) Mortalidad por piso por linterna (contabilización de individuos vivos y muertos)
 - b) Longitud valvar.
 - c) Ancho valvar.
 - d) Peso total
 - e) Peso sin concha (en caso de ejemplares destinados a cosecha).

Para las mediciones de longitud y ancho valvar se debe utilizar un calibre vernier de precisión 0,5 mm. La **figura 19** muestra las variables a medir.

4.2.2.3 Resultado de la segunda reunión de transferencia

- **Asistencia de asociados a la convocatoria**

De las ocho empresas participantes en el proyecto, en la zona norte, se contó con la asistencia de 7 de ellas, lo que indica un porcentaje de éxito en la convocatoria del 89%. La empresa que no participó se excusó por razones de trabajo programado con anterioridad. Sin embargo, a través de la gerencia de la APOOCH, le fue entregado el set completo de documentos y planillas de registro de información.



- **Observaciones a la metodologí3 de trabajo**

- a) Los asociados, en ambas regiones, realizaron observaciones respecto al volumen y calidad de la semilla traspasada durante el mes de junio, ya que los envíos fueron menores al número originalmente comprometido.

Debido a esto, se acordó utilizar el stock ubicado en cada una de las regiones como una sola poblaci3n (dada la cercanía geogr3fica de los centros de cultivo) y trabajar la informaci3n en conglomerado.

- b) Respecto a las mediciones que se deben realizar para el registro de informaci3n en los individuos del programa, se acordó incorporar el volumen como criterio de selecci3n, ya que éste presentaría un mayor grado de correlaci3n con el peso de la carne, en el ostión.

4.3 Traspaso de semillas mejorada y reproductores

4.3.1 Entrega de semillas clase ańo par 2002 (N-02)

La entrega de semillas de ambos stocks de la clase ańo par N-02 y S-02 estaba programada para cada una de las empresas participantes. Sin embargo, se realizó sólo la entrega del stock norte debido a que este stock concentra el interés de las empresas. Junto con lo anterior, la jefe de proyecto decidió concentrar el marcaje de los ostiones para las empresas sobre este stock, debido a que el ciclo productivo estaba considerablemente atrasado. Desde diciembre del 2001 a la misma fecha del 2002, IFOP continuó el programa sin financiamiento ORFO, pero no fue posible financiar el alto costo del marcaje, por lo que se debió esperar la aprobaci3n del proyecto actual, produciéndose así un atraso de las actividades del programa.

Se marcó un total aproximado de 650 semillas por familia, de la clase ańo par N-02. De estas, 50 fueron marcadas para las empresas y 200 semillas permanecieron en Hueihue para la continuidad del programa. De esta clase ańo, 59 de las 62 familias fueron marcadas, disponiéndose de 2950 semillas para cada una de las 9 empresas. El total comprometido para este stock según consta en los términos técnicos de referencia, fue 3000. Sin embargo, las semillas marcadas llegaron a las empresas en un número menor al acordado (no superior a 1500), esto debido a que en un periodo de dos meses, entre el fin del marcaje y el envío de las semillas a las empresas, ocurri3 una considerable mortalidad. Este periodo de dos meses de demora entre el marcaje y el envío se produjo debido a la presencia de un bloom fitoplanctónico en la bahía de Hueihue que no permitió el movimiento de ningún tipo de espécimen desde la bahía.

Desde la fecha de entrega de las semillas (junio 2003) hasta la cosecha en enero de 2004, no se realizaron desdobles ya que los individuos fueron sembrados a densidad final. Sólo se realizó limpieza o cambio de las linternas de cultivo manteniendo los individuos en los mismos pisos o niveles.



En términos generales, este desvío en el número de individuos en cultivo en las empresas del norte no alteró los objetivos del proyecto, puesto que todos los individuos enviados a las empresas se consideran como un solo gran stock, apoyado esto en el hecho de que están creciendo en un ambiente común. Este stock fue cultivado hasta el mes de enero de 2004 y utilizado para realizar las estimaciones para obtener la información fenotípica necesaria para calcular las correlaciones genéticas entre las mediciones realizadas en Hueihue y las mediciones realizadas en cada empresa (sección 3.3.2).

4.3.2 Entrega de semillas clase año impar 2003 (N-03)

Se marcó un total de 650 semillas por cada familia del stock N-03, completándose un total de 45.500 semillas marcadas. Como está establecido, 200 semillas de cada familia permanecieron en la estación de Hueihue, para la posterior reproducción y las restantes semillas fueron repartidas en un número equivalente a 50 semillas de cada familia por empresa.

El traslado de estas semillas se realizó en abril de 2004, recibiendo cada empresas alrededor de 3500 semillas. Este stock se encuentra aún en cultivo y constituirá el stock de reproductores para la formación de la clase año 2005. La continuidad del programa en la actualidad se encuentra en manos de las empresas, quienes están buscando financiamiento para poder proseguir con las actividades.

4.3.3 Entrega de reproductores seleccionados

De acuerdo a lo programado, correspondía la entrega de los reproductores seleccionados posterior a la formación de las familias de la clase año correspondiente en el Centro de Hueihue. Sin embargo, tanto en los años 2003 como 2004, se realizó mas de un desove con los mismos reproductores observándose, posterior a ello, mas de un 50% de mortalidad de los individuos. Por este motivo, no se pudo concretar la entrega de dichos reproductores.

Dado que el proyecto concluyó en enero de 2005 y que no estaba contemplada una nueva etapa de formación de familias en el centro Hueihue, entre diciembre de 2004 y enero de 2005 se hizo entrega de los reproductores de la clase año impar N-03, correspondientes a los 200 individuos por familia que permanecían en dicho centro. Al momento de la cosecha se observó una alta mortalidad, así como varios organismos defectuosos o sin marcas, despachándose finalmente un total de 1975 reproductores. Estos individuos se suman a los individuos de este grupo enviados al tamaño semilla en abril de 2004, pasando a formar parte del stock parental para la formación de la clase año 2005.



5. CONCLUSIONES

Se ha dado continuidad al programa de mejoramiento a largo plazo bajo estricto r3gimen de selecci3n con la formaci3n de 139 familias de la clase a1o 2003 (N03 y S03) que constituyen la primera generaci3n de selecci3n de la clase a1o impar. Por su parte, los individuos de la clase a1o par, N02 y S02, correspondientes a la primera generaci3n de selecci3n de su clase, fueron marcados y distribuidos en el centro Huiehue y en las empresas asociadas. Los individuos que permanecieron en Huiehue constituyeron el stock parental que dio origen a la clase a1o 2004 (N-04 y S-04), que cuenta con un total de 152 familias actualmente en etapa de semillas. Los individuos de la clase a1o 2002 que fueron distribuidos en las empresas, sirvieron para el an3lisis fenot3pico (secci3n 3.2.2.1).

Por otra parte, se recogi3 la informaci3n necesaria desde las propias empresas para determinar aquellos par3metros necesarios para seleccionar por el valor gen3tico peso del m3sculo. A partir de esta informaci3n, la selecci3n practicada en las l3neas par e impar durante en el presente proyecto se ejecut3 utilizando como criterio de selecci3n el peso corporal total, el cual tiene una alta correlaci3n con el peso del m3sculo. Este tipo de selecci3n maximiz3 la ganancia gen3tica, minimizando a su vez la probabilidad de consanguinidad en la poblaci3n. Todo ello para maximizar la variabilidad gen3tica en las l3neas de selecci3n. De acuerdo a estos an3lisis, aunque existe suficiente variabilidad gen3tica para seleccionar por caracter3sticas medidas en el individuo vivo, la varianza gen3tica disponible en caracter3sticas internas (peso del m3sculo y tejidos blandos) fue relativamente menor alcanzado valores entre 0.07 y 0.09, respectivamente. Aunque es esperable respuesta correlacionada seleccionando indirectamente por peso corporal con concha, la respuesta para peso del m3sculo es de un 3% por generaci3n.

A trav3s del uso de marcadores moleculares para la cuantificaci3n de los efectos de la depresi3n endog3mica dentro del programa de mejoramiento se pudo detectar que no existe depresi3n endog3mica para la tasa de crecimiento en *Argopecten purpuratus*, pero si existe una diferencia significativa en la tasa de sobrevivencia entre individuos auto-fecundados y exo-fecundados, implicando la existencia de depresi3n endog3mica sobre la viabilidad en el osti3n. Tambi3n se observ3 que el promedio de individuos auto-fecundados en las familias producidas por cruzamiento a los 14 meses de edad es menor al 4%. Debido a la ausencia de depresi3n endog3mica para la tasa de crecimiento y a la baja tasa de sobrevivencia de los individuos auto-fecundados, 3stos no tendr3an un efecto significativo sobre los par3metros gen3ticos b3sicos en el programa de mejoramiento del osti3n del norte. Finalmente, el coeficiente de endogamia esperado al nivel de equilibrio con una tasa de auto-fecundaci3n del 4% por generaci3n (al momento de producir las familias en el programa de mejoramiento) ser3a de solo $F = 0.02$.



Se realizó con éxito la transferencia de los productos del proyecto a las empresas asociadas. Las empresas recibieron capacitación sobre las bases del mejoramiento genético con especial énfasis en ostiones y su utilización en programas prácticos de selección genética, así como en aspectos más específicos de la genética cuantitativa, como lo son el uso de bases de datos y cálculos de valores genéticos utilizando el modelo animal. Esto ha motivado a las empresas asociadas, quienes ven en este programa una vía de mejorar la productividad de su producción y se encuentran en la actualidad consiguiendo cofinanciamiento para la continuidad del programa. Otro de los productos entregados fue el material genético generado en el proyecto, con el cual podrán continuar desarrollando este trabajo.

FIGURAS

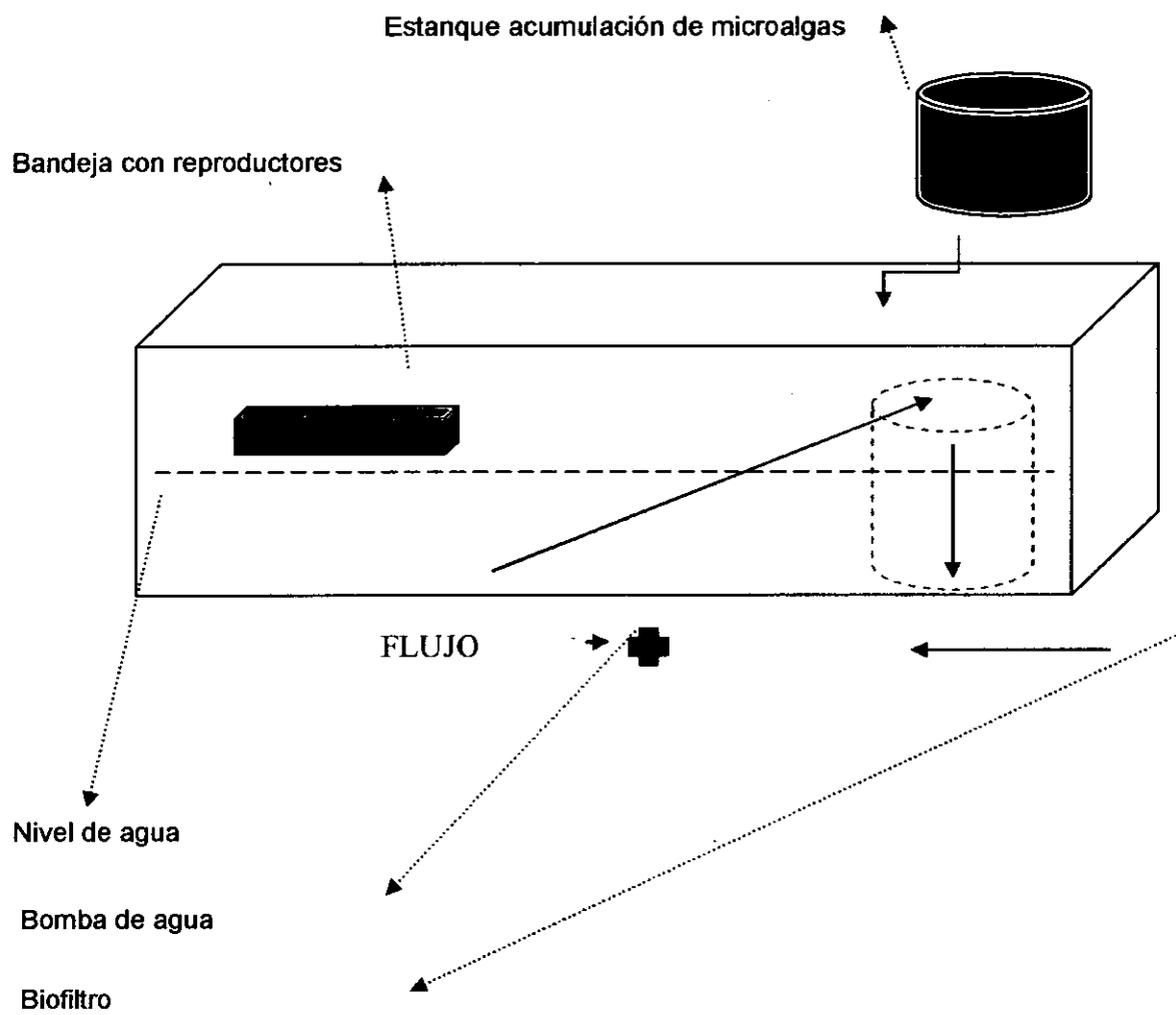
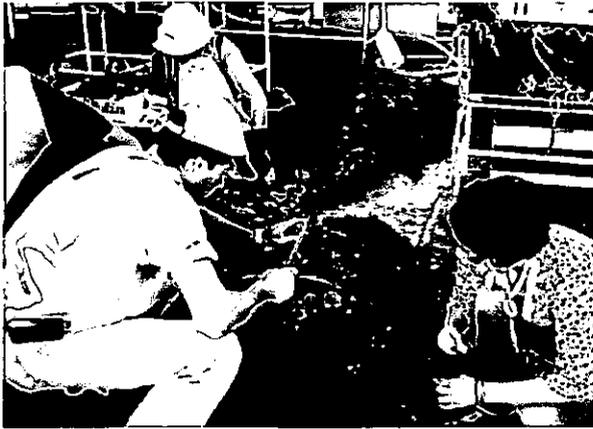


Figura 1. Esquema del sistema de acondicionamiento de reproductores.



a

b

Figura 2. Muestro realizado en las estaciones de prueba en Tongoy y Caldera.

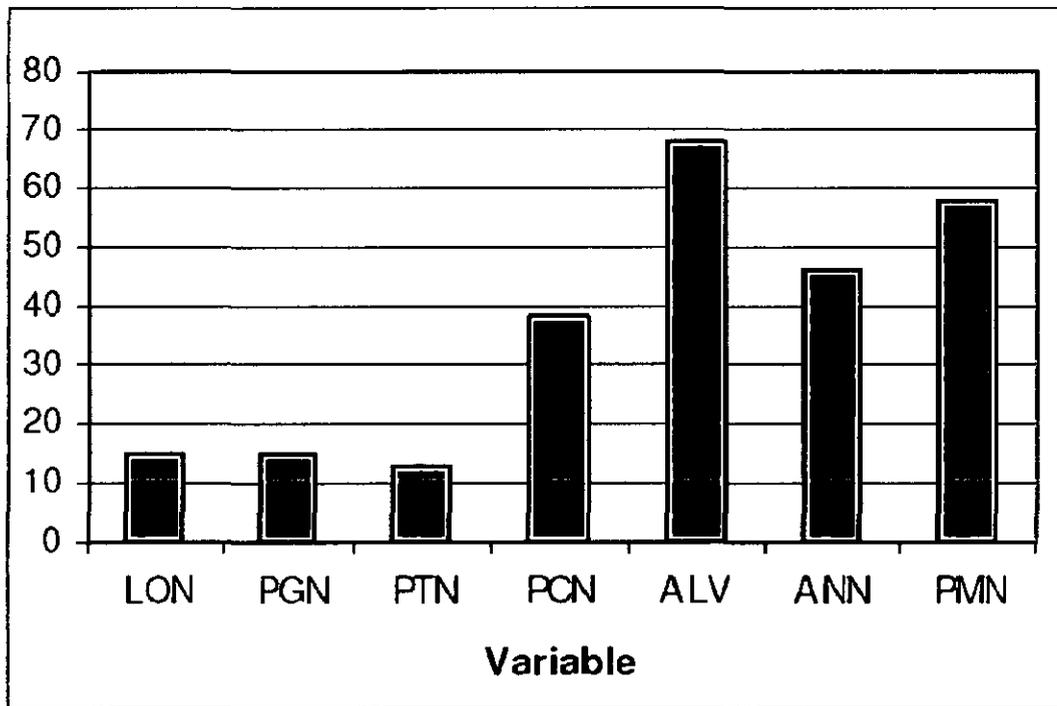


Figura 3. Coeficiente de variación estimada para las distintas características muestreadas en el norte

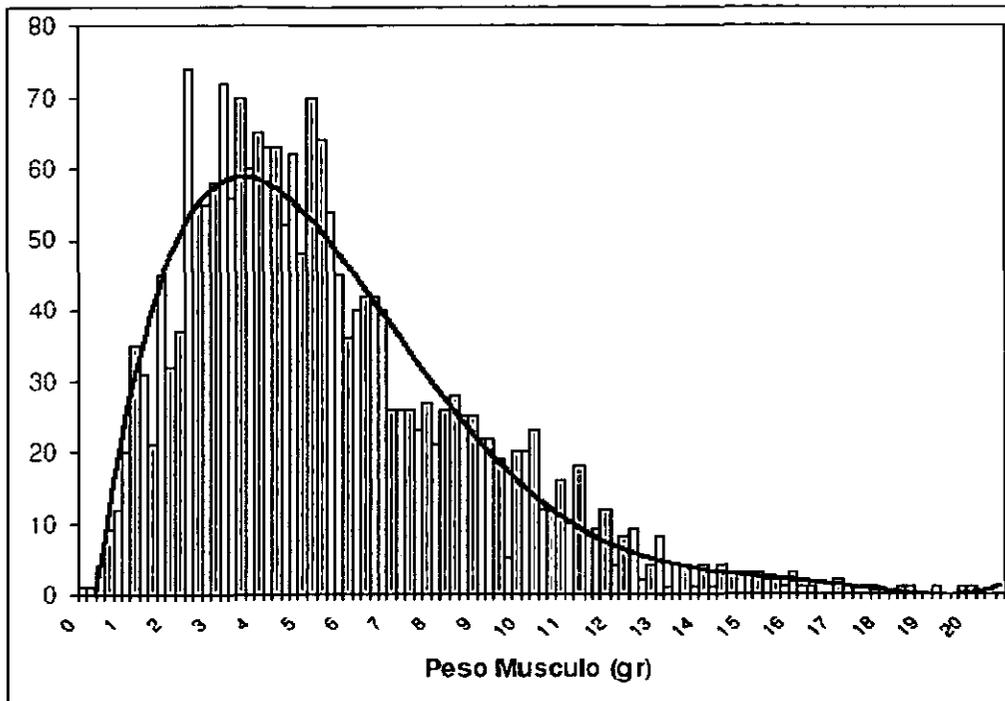


Figura 4. Distribución de frecuencias para peso del músculo

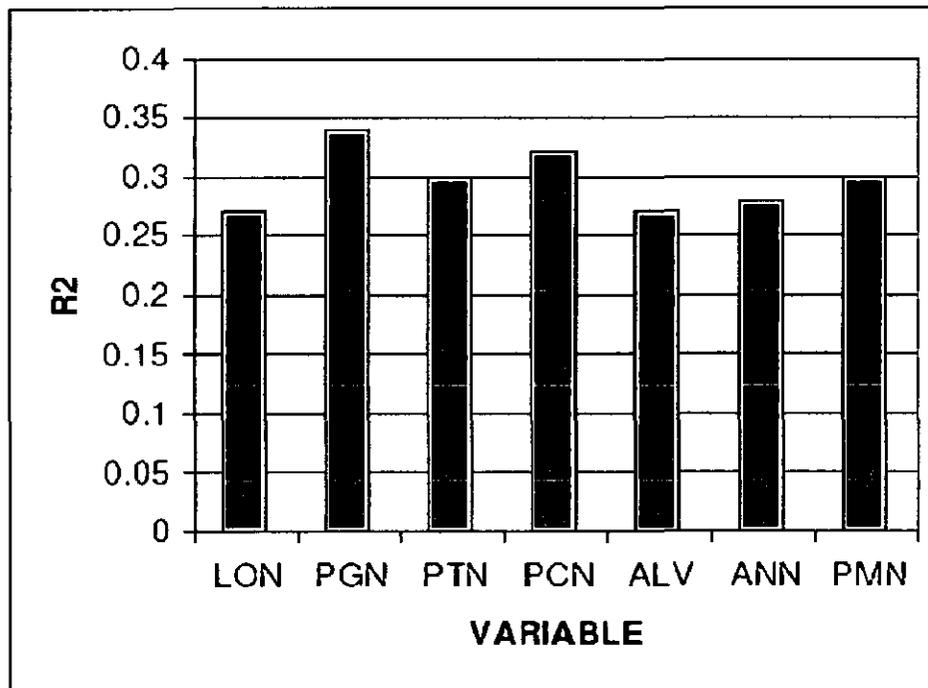


Figura 5. Proporción de la variabilidad observada explicada por el método de efectos fijos

SAS [VIEWTABLE: St_sur.Cosecha]

File Edit View Tools Data Solutions Window Help

	IDENTIFICACION	PADRE	MADRE	LINTERNA	INT PISO LINTERNA	ALTO COSECHA	PESO COSECHA	ANCHO COSECHA
1127	11116	200	216	48000	48007	60	90	19
1128	11117	200	216	52000	52005	75	916	29
1129	11118	200	216	52000	52006	64	71	23
1130	11119	210	208	48000	48008	70	82	24
1131	11120	210	209	52000	52001	67	84	26
1132	11121	210	206	52000	52003	68	82	24
1133	11122	210	209	48000	48004	63	96	21
1134	11123	210	209	52000	52009	76	655	23
1135	11124	210	209	52000	52010	70	86	23
1136	11125	210	209	48000	48002	71	80	24
1137	11126	210	209	52000	52006	69	75	20
1138	11127	210	209	52000	52007	63	67	22
1139	11128	210	209	48000	48005	60	90	25
1140	11129	210	205	52000	52010	54	49	19
1141	11130	210	209	52000	52007	76	100	22
1142	11131	210	208	52000	52002	76	89	23
1143	11132	210	209	52000	52003	68	72	22
1144	11133	210	209	52000	52007	65	86	23
1145	11134	210	209	48000	48010	66	67	21
1146	11135	210	209	52000	52004	71	87	21
1147	11136	210	208	52000	52003	68	81	23
1148	11137	210	209	48000	48005	56	42	19
1149	11138	210	208	48000	48004	60.5	476	18
1150	11139	210	209	48000	48001	51	73	17
1151	11140	210	208	52000	52002	72	80	22
1152	11141	210	209	52000	52003	76	107	26
1153	11142	210	208	48000	48006	58	50	20
1154	11143	210	209	48000	48003	72	81	22
1155	11144	210	209	52000	52007	68	71	21
1156	11145	210	209	48000	48008	64.6	96	19
1157	11146	210	209	48000	48003	52	31	16
1158	11147	210	209	52000	52008	60	51	18

abrir VIEWTABLE: St_sur ..

Figura 6. Base de datos de cosecha, bajo el programa estadístico SAS

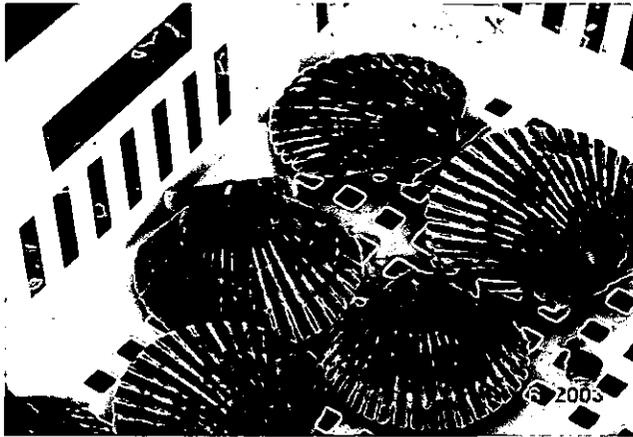
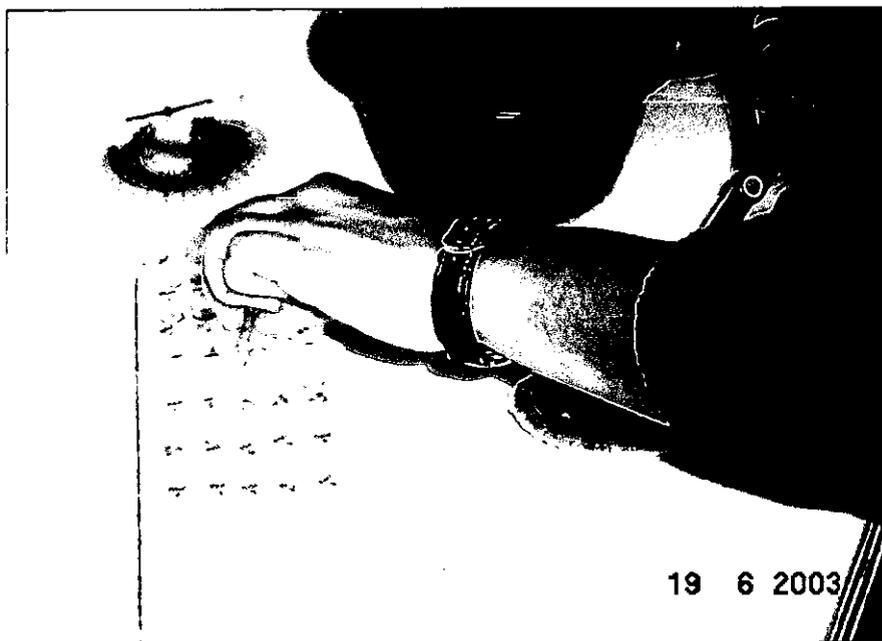


Figura 7. Marcaje de los reproductores para los experimentos de autofecundación



19 6 2003



19 6 2003

Figura 8. Toma de muestras de tejidos de los reproductores utilizados en los cruzamientos experimentales.

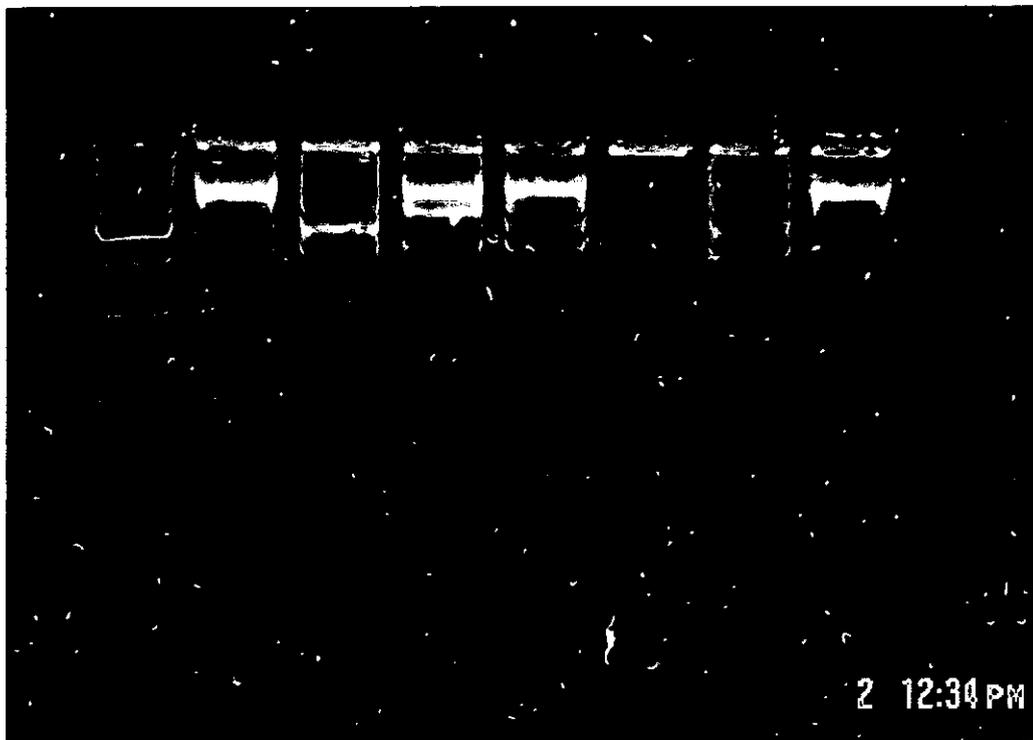


Figura 9. Amplificación del ADN genómico de los reproductores utilizados (N = 7) con uno de los partidores (N° 3) RAPDs elaborados para el presente estudio.

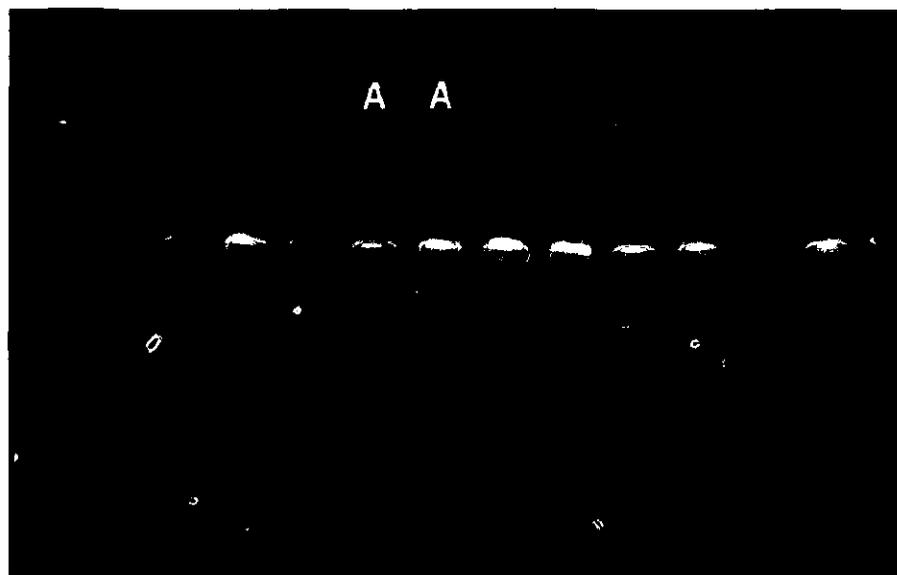


Figura 10 a. Patrón de bandas para partidor de RAPDs, correspondiente a 12 ostiones juveniles de la familia 16, en el cual se cruzó la hembra N° 3 con el macho N° 1. A= individuos autofecundados que poseen el patrón de banda del reproductor N° 3.



Figura 10 b. Patrones de bandas para partidor RAPDs, correspondiente a 12 ostiones adultos de la familia 19, en donde no se detectaron individuos autofecundados.

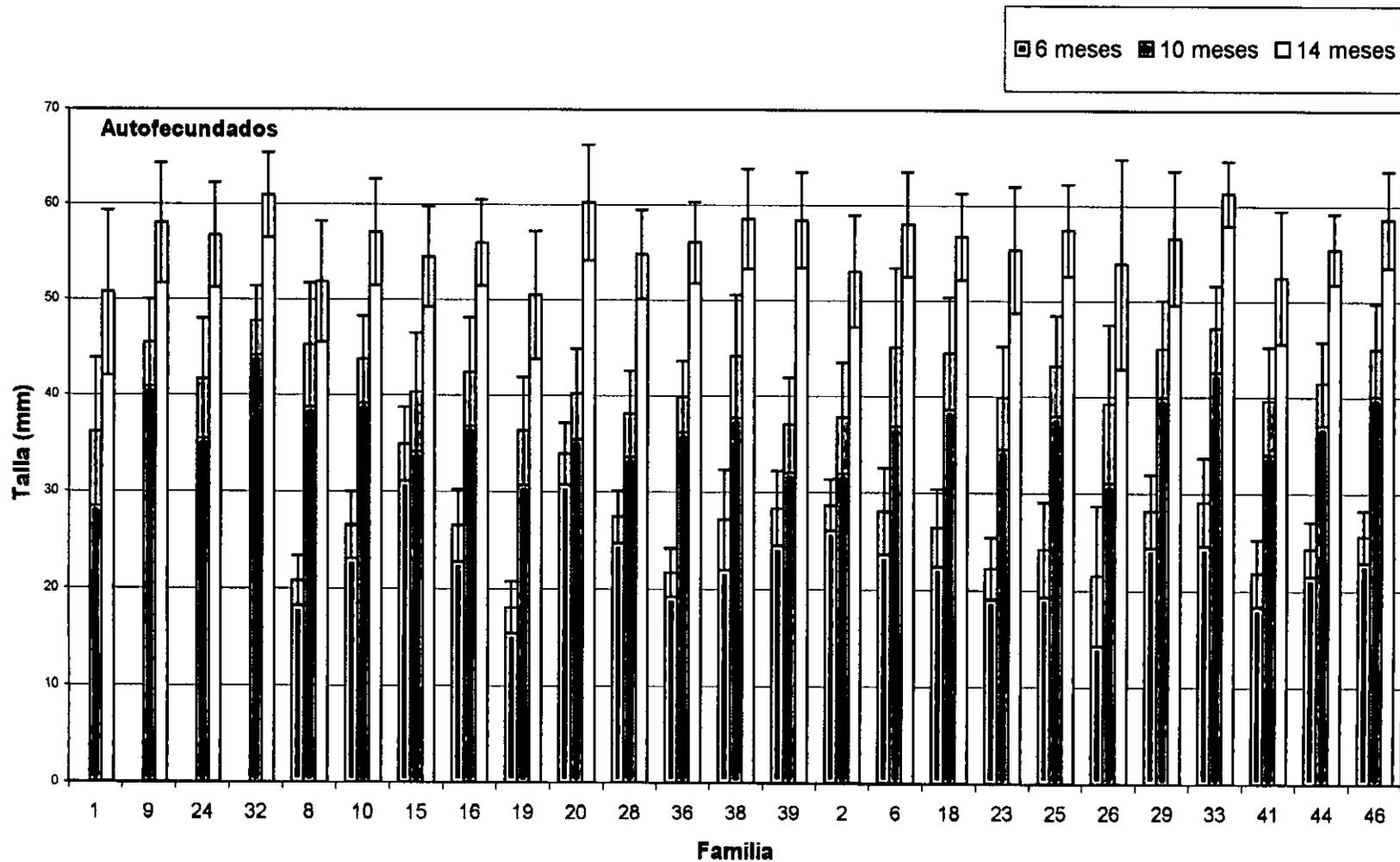


Figura 11. Gráfico de barras en la que se muestra la talla promedio (mm) y desviación estándar de las familias a los 6, 10 y 14 meses de edad de las familias producidas por autofecundación (1, 9, 24 y 32) y por cruzamientos (el resto) (N=200/familia).

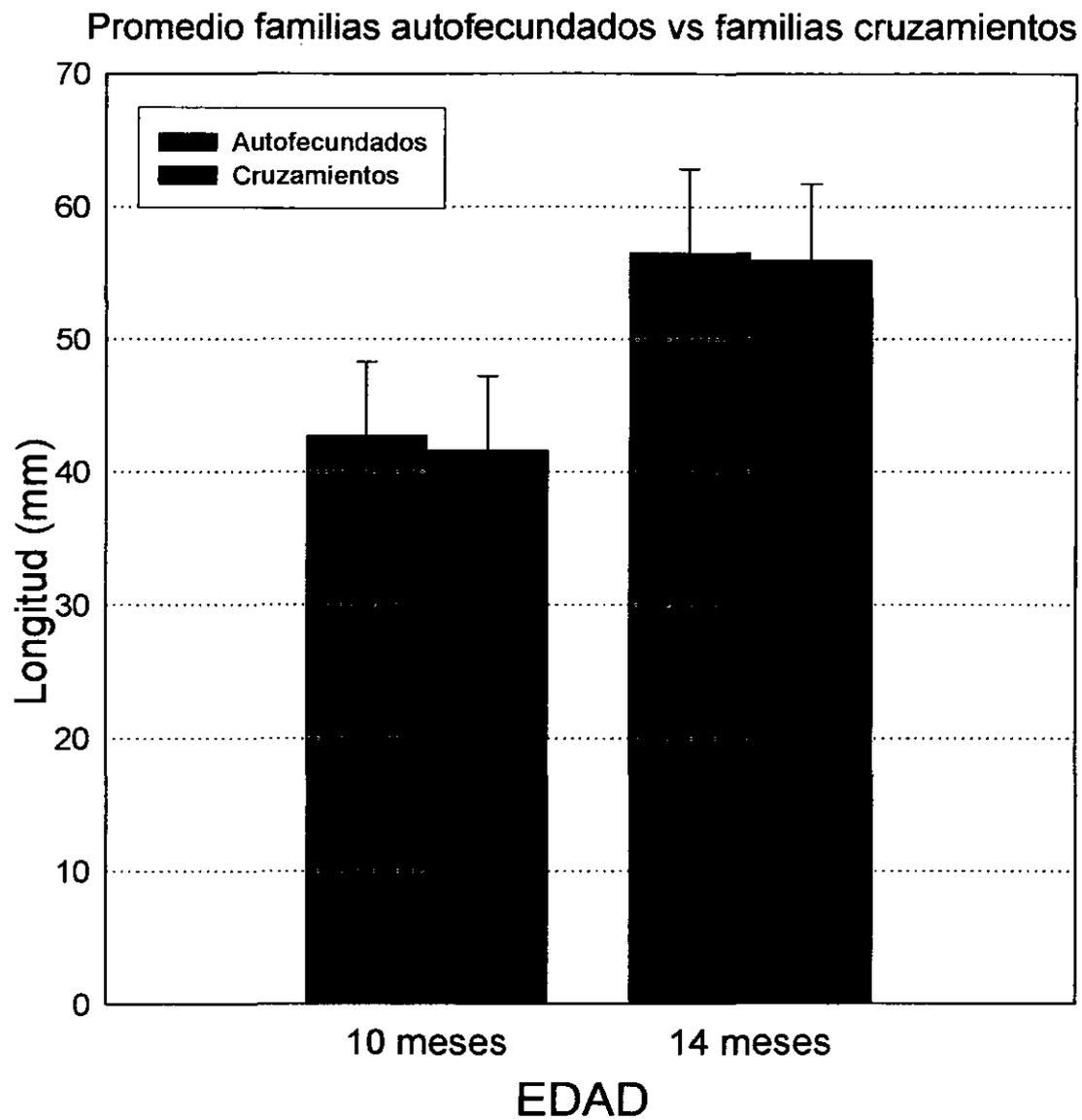


Figura 12. Promedios (mm) y desviación estándar para la variable longitud de la valva entre las familias autofecundadas (gris) y familias por cruzamiento (negro) en dos etapas del ciclo de vida de *Argopecten purpuratus*.

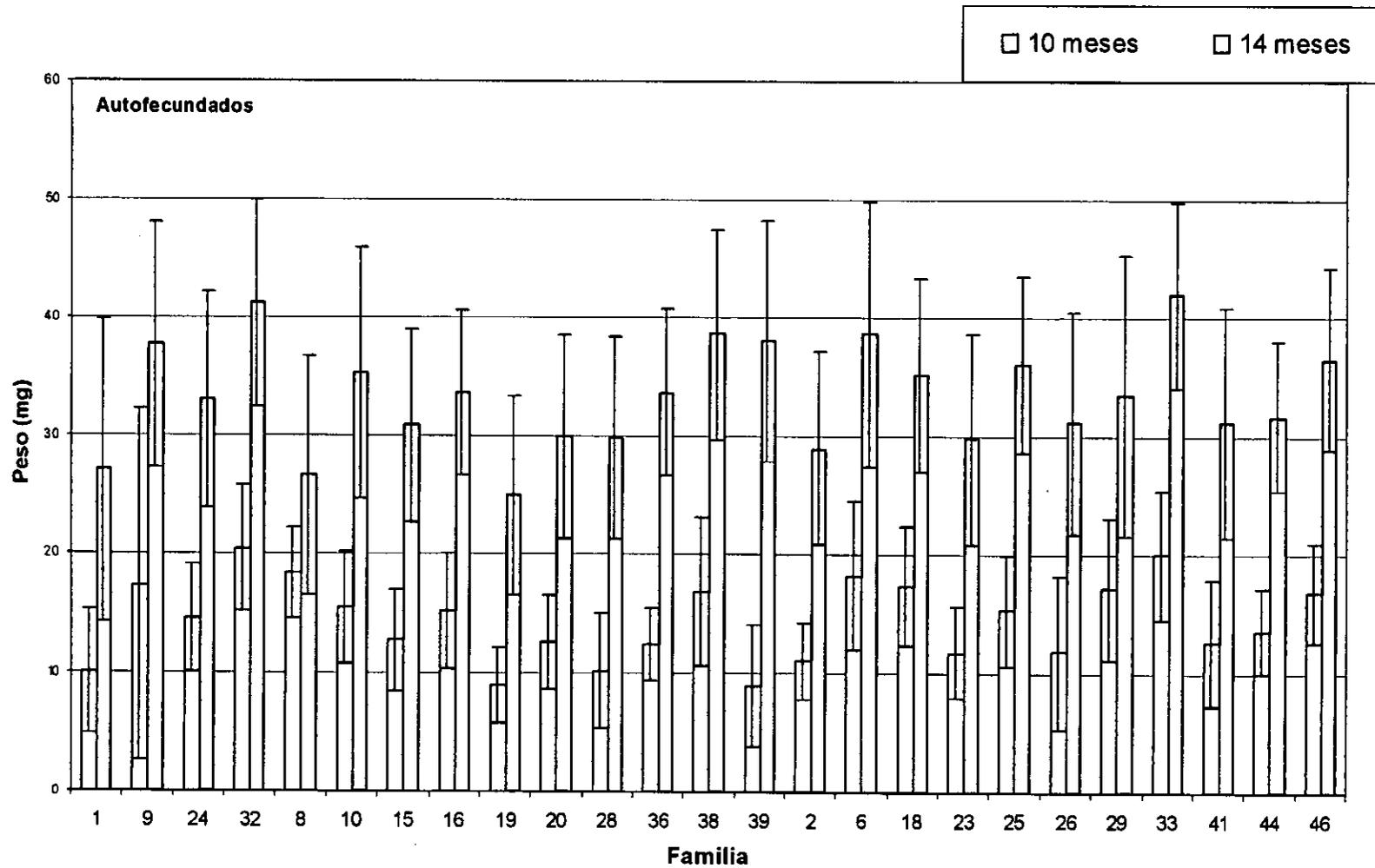


Figura 13. Gráfico de barras en la que se muestra el peso promedio (mg) y desviación estándar de las familias a los 6, 10 y 14 meses de edad de las familias producidas por autofecundación (1, 9, 24 y 32) y por cruzamientos (el resto) (N=200/familia).

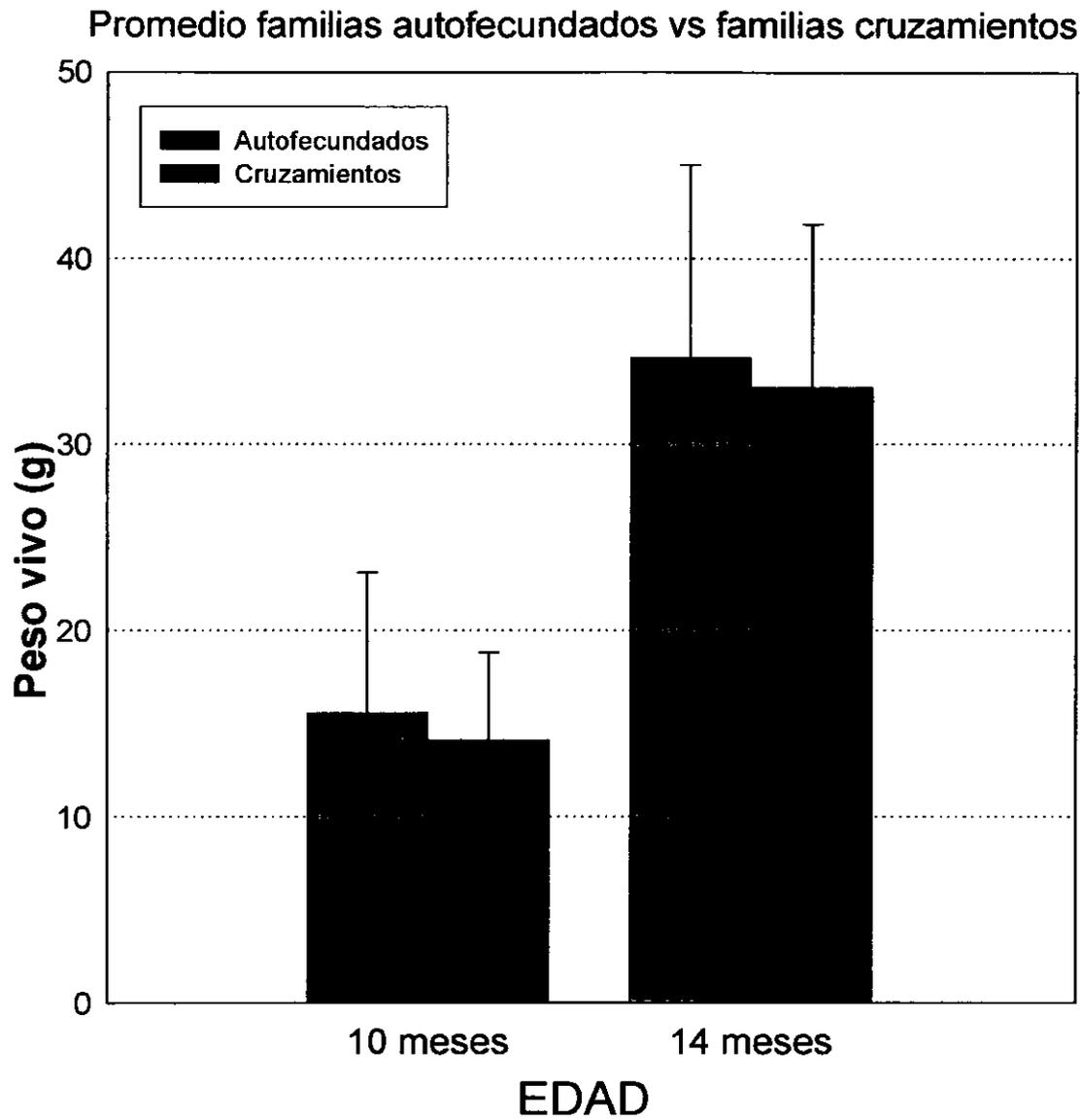


Figura 14. Promedios (g) y desviación estándar para la variable peso vivo de los individuos entre las familias autofecundadas (gris) y familias por cruzamiento (negro) en dos etapas del ciclo de vida de *Argopecten purpuratus*.

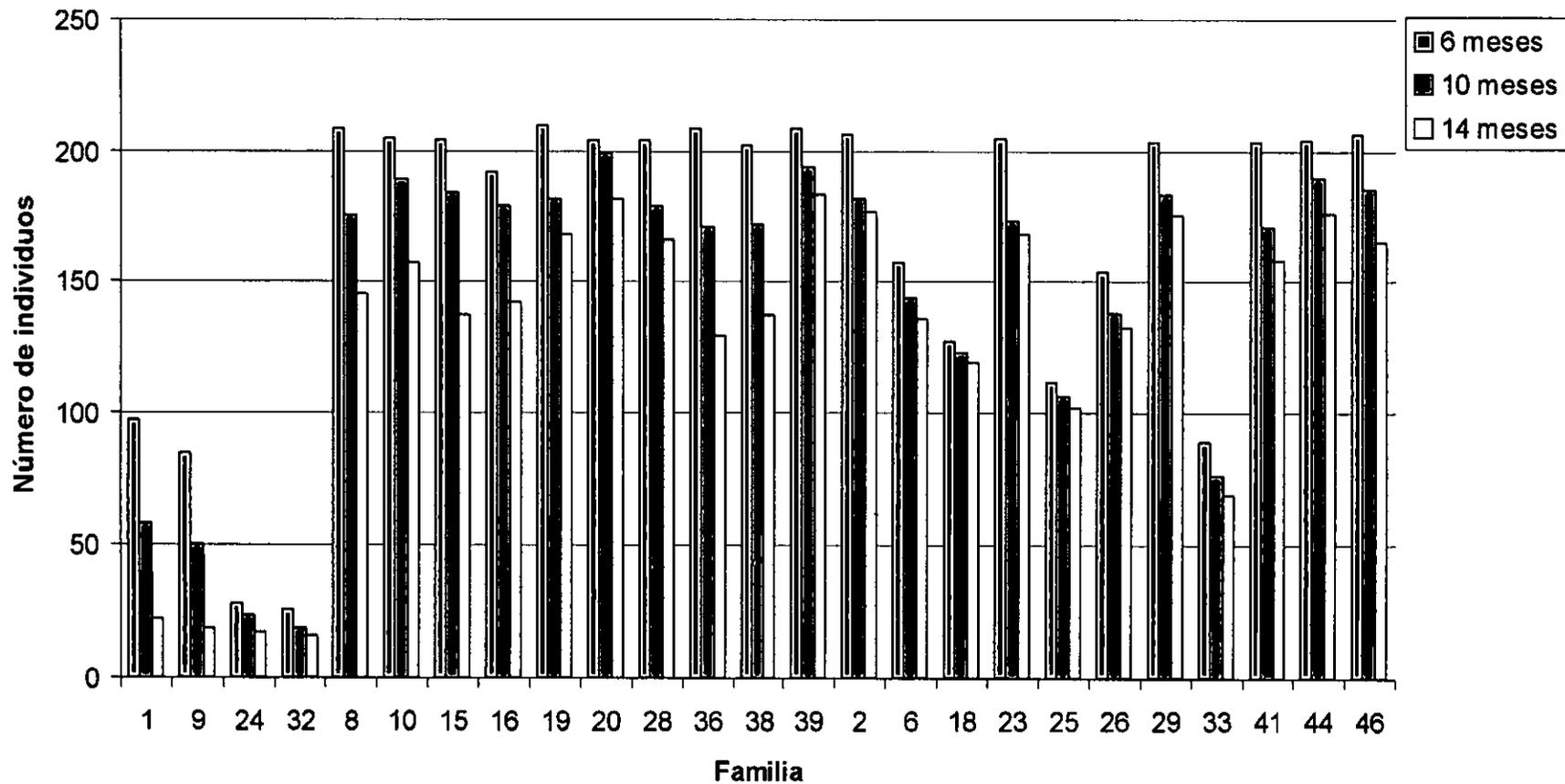


Figura 15. Sobrevivencia relativa: Gráfico de barras mostrando el número de individuos sobrevivientes por familia a partir del marcaje individual de 210 individuos. Los valores representan el número de sobrevivientes a los 6, 10 y 14 meses de edad de las familias producidas por autofecundación (1, 9, 24 y 32) y por cruzamientos (el resto).

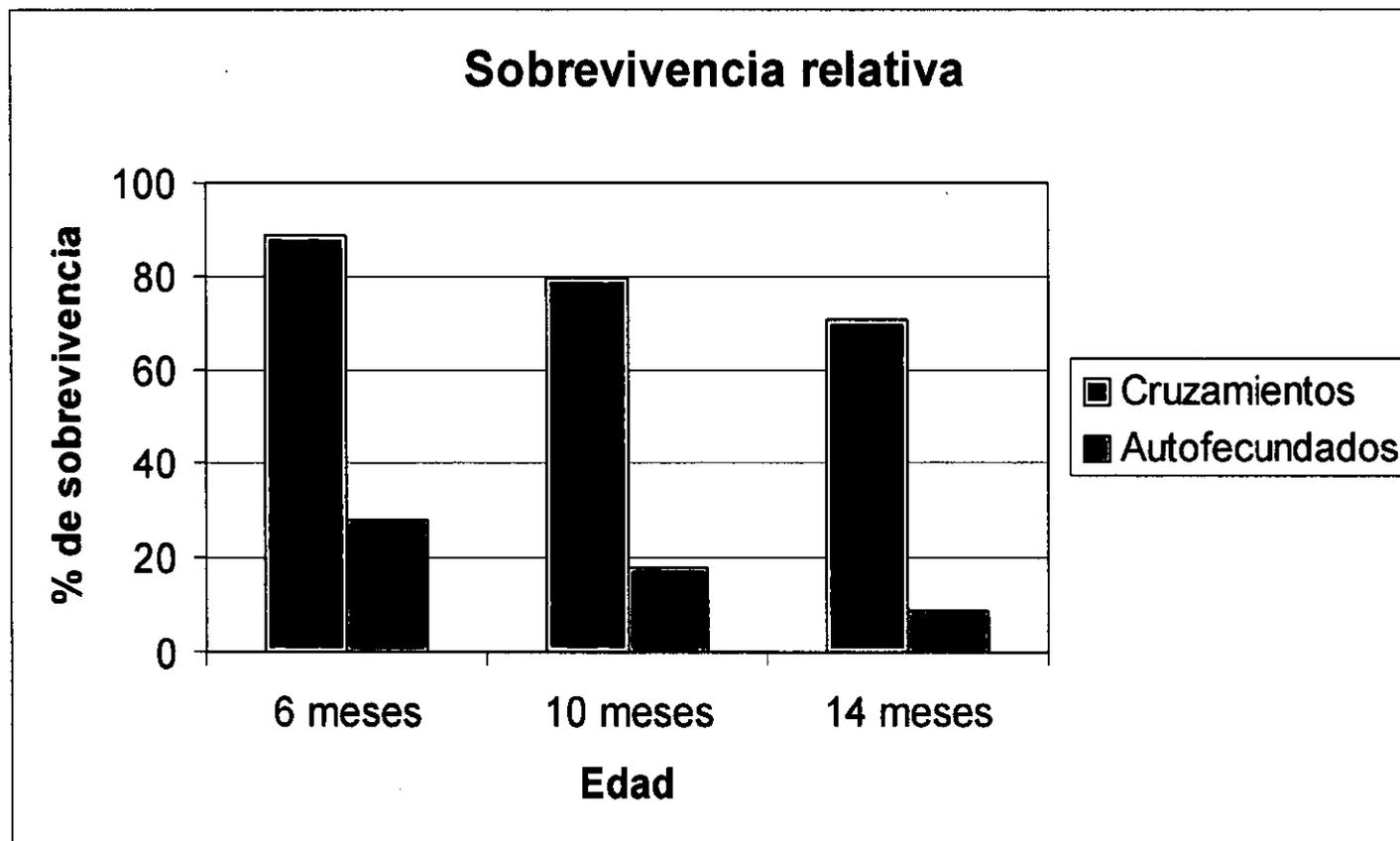


Figura 16. Sobrevivencia relativa: Gráfico de barras mostrando el porcentaje promedio de individuos sobrevivientes entre familias autofecundadas y obtenidas por cruzamiento a partir del momento del marcaje individual de 210 individuos (100%). Los valores representan el porcentaje promedio de sobrevivientes a los 6, 10 y 14 meses de edad de las familias producidas por autofecundación (N° 1, 9, 24 y 32) y por cruzamientos (el resto).

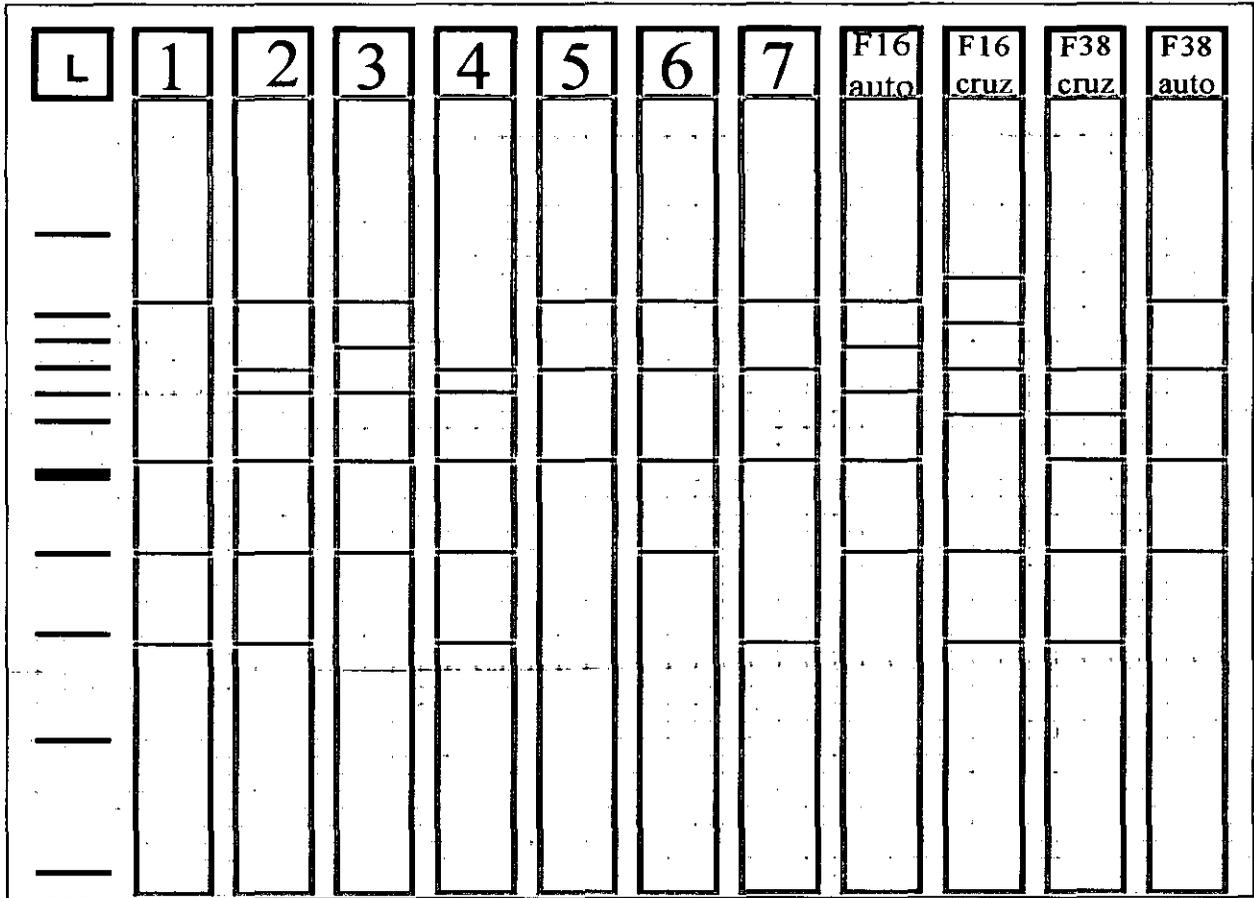


Figura 17. Esquema explicativo de los patrones encontrados en los 7 reproductores con un partidor RAPDs desarrollado para *Argopecten purpuratus*. Se muestran además, patrones producto de cruzamientos (cruz) y autofecundados (auto) en las familias 16 y 38 en las que se utilizaron ovas de las hembras N° 3 y 6 respectivamente. (L= DNA ladder).

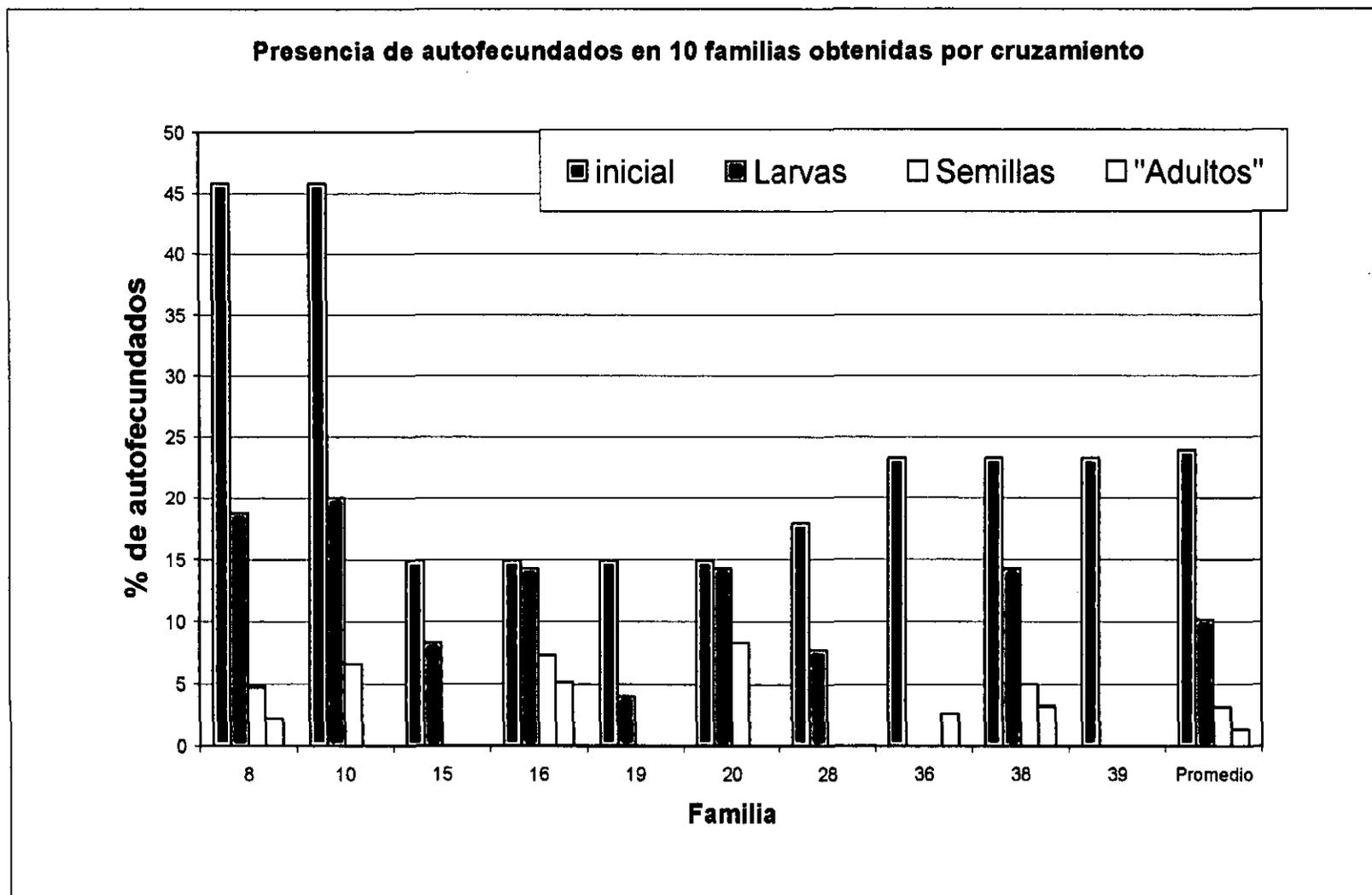


Figura 18. Porcentajes de autofecundados en distintas etapas de desarrollo (Inicial= huevos autofecundados al momento de realizar el cruzamiento, etapa larval, semilla y adulto), en 10 familias obtenidas por cruzamiento en el laboratorio. En cada etapa se muestrearon 50 individuos de cada familia.

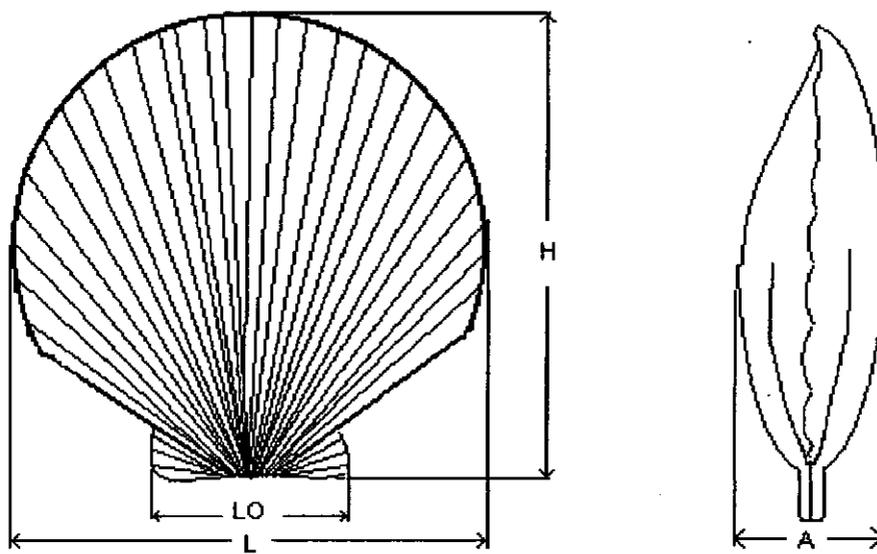


Figura 19. Biometría del ostión del norte. H = alto; L = largo; A = ancho; LO = largo oreja

ANEXOS

A N E X O 1

**Resumen Charla Técnica
a Productores de Ostión
III y IV Región**

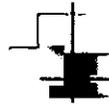


Programas de selección genética

- Definición del objetivo de Mejoramiento.
- Elección de los criterios de selección.
- Organización de los registros de producción.
- Uso de la información obtenida para decisiones de selección.
- Utilización de los animales seleccionados.

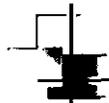
Objetivo de mejoramiento.

- Aumento de la Rentabilidad Empresarial.
- Múltiples Características (Peso de músculo, peso de gónadas, peso vivo semilla, sobrevivencia).
- Usualmente de Difícil Medición !!!!! 
- Debe estar definido antes de comenzar el programa

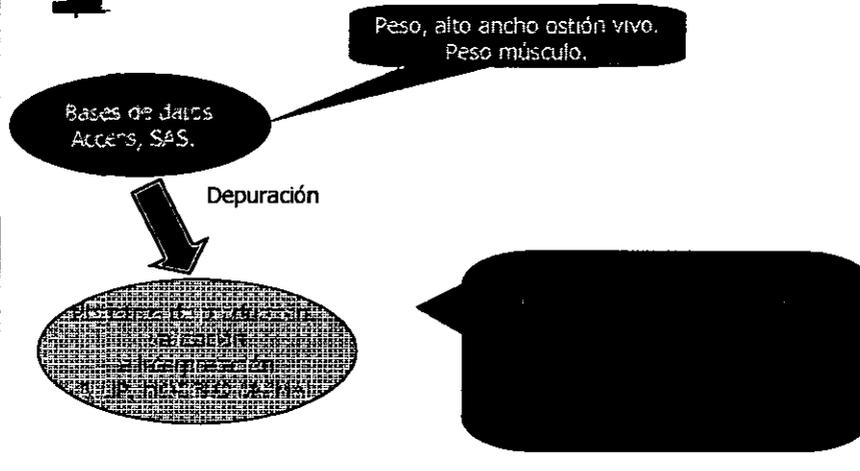


Criterios de selecci3n.

- F3cil Medici3n (Peso vivo, ancho valvar etc.)
- Mediciones realizadas en Reproductores o parientes (hermanos).
- Est3n asociados gen3ticamente con el Objetivo de Mejoramiento !!!!!



Organizaci3n de la toma de registros.



Evaluación genética de reproductores

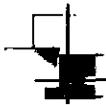


Genética



Medio ambiente.

**Temperatura, Salinidad,
Linterna,
Piso.**



Fenotipo.



Es la suma de los efectos genéticos y ambientales.

P	=	F	+	A	+	E
200	=	100	+	300	-100	
200	=	-100	+	100	+200	



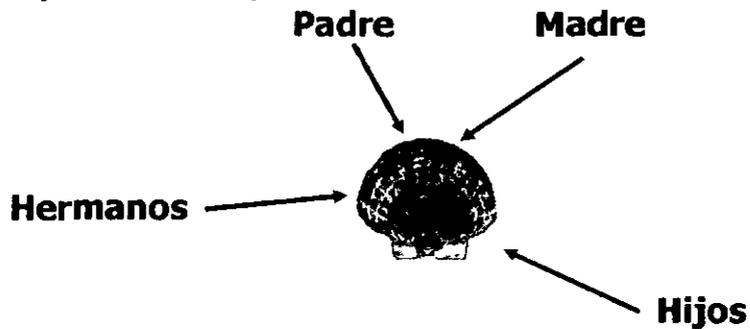
El problema es entonces:

Con solo la información fenotípica no es posible conocer el valor genético de los reproductores



Como evaluar reproductores ?

Utilizando Información del propio individuo y todos sus parientes. Modelo Animal





Información necesaria para utilizar el modelo animal

- Registros de características y pedigree.
- Heredabilidades.
- Asociaciones genéticas entre características.
- Know-how en evaluación

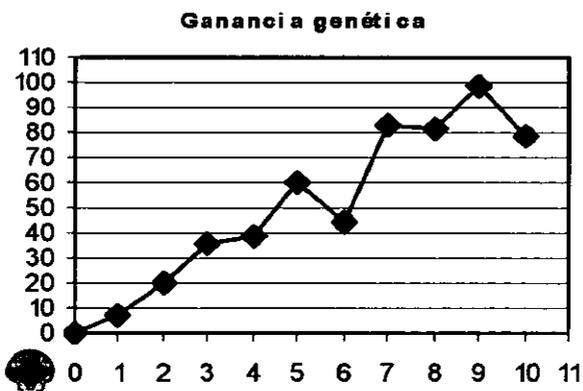
Incremento en la productividad y rentabilidad.

- CMG IFOP Coyhaique, 14% de incremento en la producción por generación sólo por mejoramiento genético (VIII Congress in Genetics in Aquaculture. Response to BLUP animal model selection in Coho Salmon: Bayesian estimates of variance components and genetic gains. Martinez and Hidalgo, 2003).
- Know-how en la producción de salmónidos, alta heredabilidad de peso, objetivo de mejoramiento altamente correlacionado con el criterio de selección.

Ventajas y Desventajas

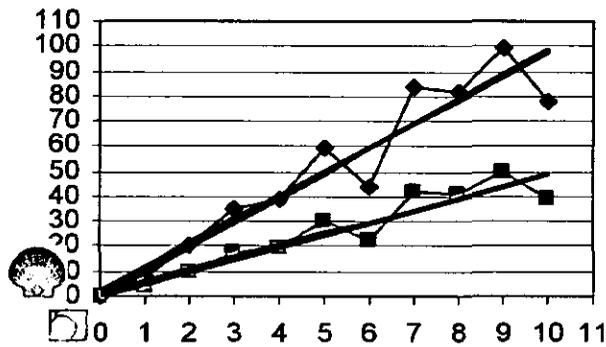
- Permite obtener un mejoramiento genético similar al realizado en Hueihue.
- Beneficio del know-how dentro del programa de Hueihue.
- Necesidad de infraestructura (hatchery 50 familias), computador, manejo de registros en base de datos y personal calificado (toma de registros e ingreso en base de datos y un analista genético).

Respuesta a la Selección de peso vivo.



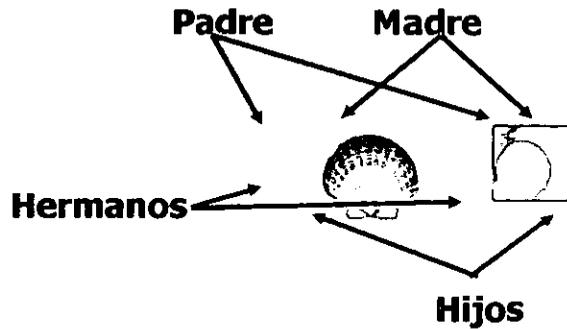
Respuesta correlacionada de peso m3sculo a la selecci3n de Peso vivo

Ganancias gen3ticas



Estimaci3n de Valores Gen3ticos Multi-car3cter

Utilizando informaci3n de varias caracter3sticas del propio individuo y todos sus parientes. Modelo Animal





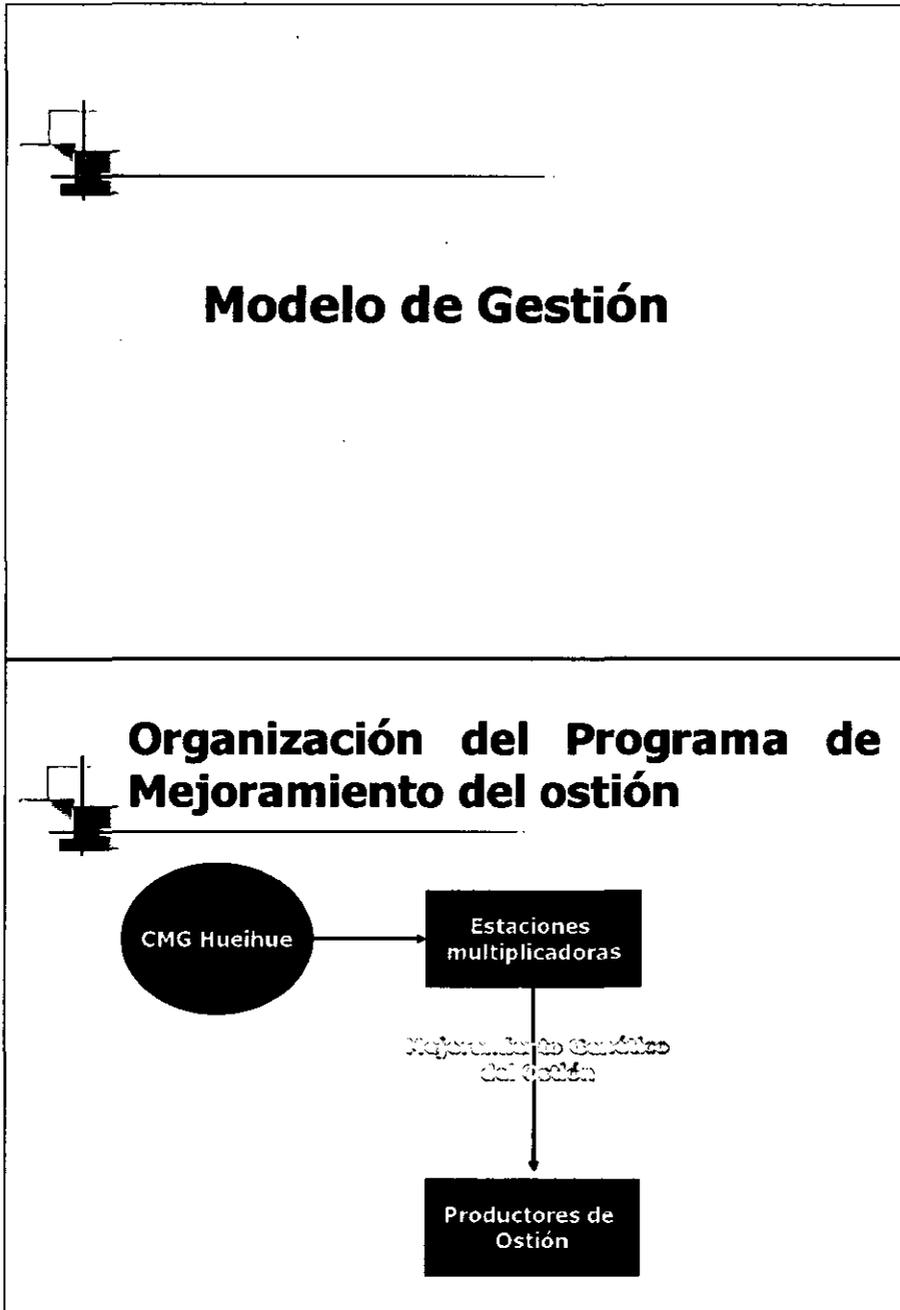
Objetivo de mejoramiento....

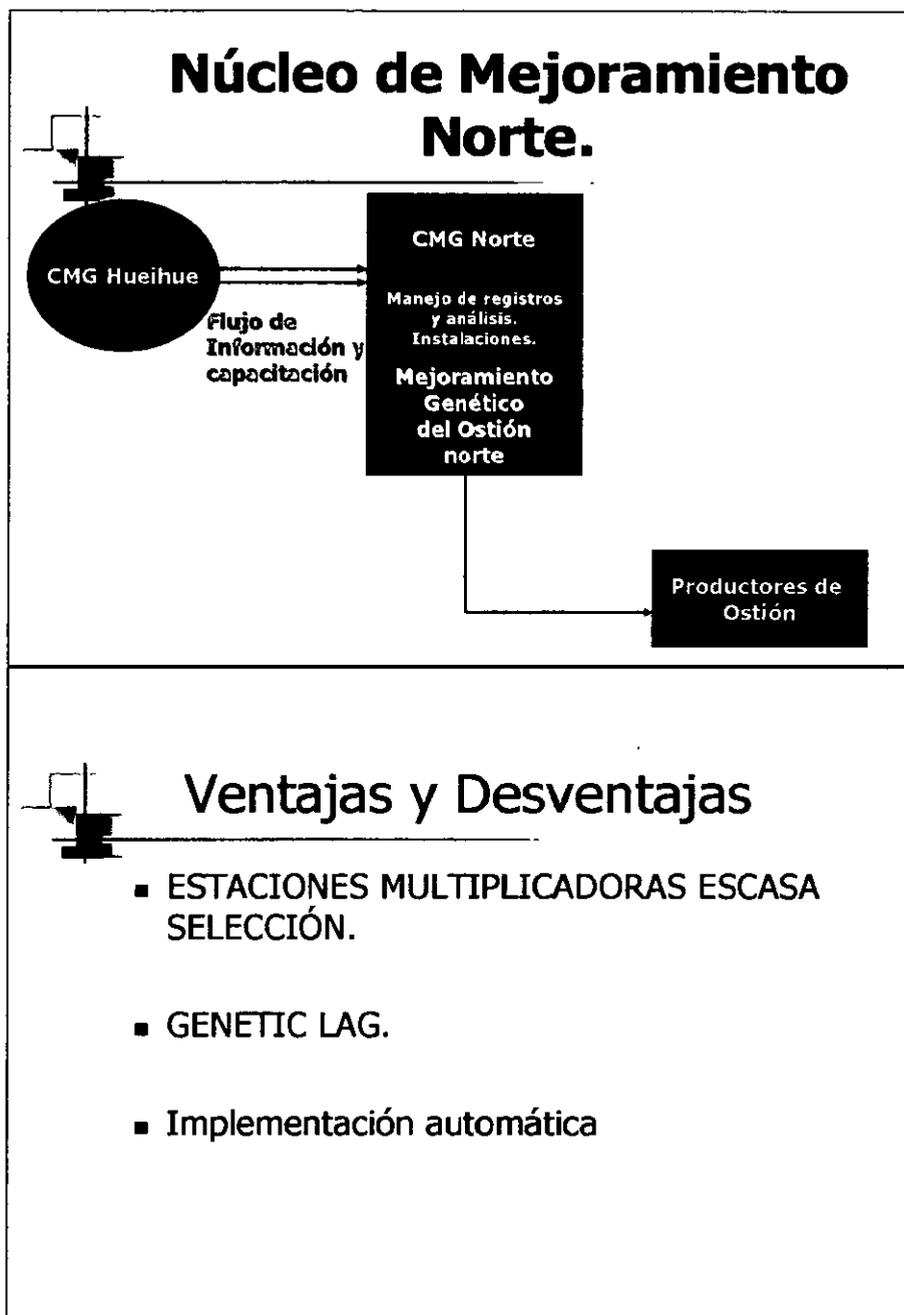
Ejemplo

$$OM = \$a_1 VG_{(\text{peso m\u00fasculo})} + \$a_2 VG_{(\text{peso vivo semilla})}$$

ESTUDIOS DE GENETICA CUANTITATIVA. FDI-CORFO.

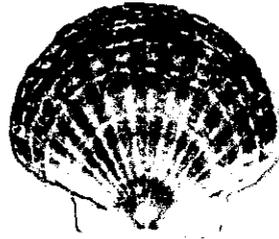
- Efecto de la auto fertilización en la estimación de parámetros genéticos.
- Selección genética disminuyendo la pérdida de variabilidad





Ganancias genéticas esperadas en ostiones.

- Vergara, Hidalgo, Toro y Martínez. 2003. A genetic improvement program of scallops: Base population genetic parameters and expected rates of genetic gain. VIII Congress in Genetics in Aquaculture.



ANEXO 2

**Trabajo Presentado al
Congreso de Ciencias del Mar,
Coquimbo, Mayo de 2004**

MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL OSTIÓN DEL NORTE

I. PARÁMETROS FENOTÍPICOS ENTRE CRITERIOS DE SELECCIÓN Y EL OBJETIVO DE MEJORAMIENTO

**Sebastián Cruz¹
Catalina Becerra²
Ivonne Etchepare³
Ana María Vergara²**

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

² Instituto de Fomento Pesquero (IFOP)

³ La Asociación de Productores de Ostras y Ostiones A.G. (APOOCH)

email contato: vmartinez@uchile.cl

Mejoramiento Genético del ostión del norte. I.- Parámetros fenotípicos entre criterios de selección y el objetivo de mejoramiento.

Sebastián Cruz¹, Catalina Bécerra², Ivonne Echevarre², Ana María Vergara², y Víctor Martínez¹.

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

² Instituto de Fomento Pesquero (IFOP).

³ La Asociación de Productores de Ostras y Ostiones A.G. (APOOCH)

email contacto: vmartino@uchile.cl

Como un esfuerzo nacional entre el IFOP, Empresarios y FDI-CORFO se ha desarrollado un programa de selección genética cuyo objetivo principal es mejorar la productividad y la calidad del ostión del norte. Dos líneas se han mantenido en confinamiento total utilizando cruzamientos anidados. La probabilidad de autofertilización se controló utilizando los últimos pulsos de liberación de gametos. Solo aquellas características que pueden ser fácilmente medidas en los reproductores habían sido utilizadas como objetivo de mejoramiento, sin embargo, hasta este momento poco se sabe de las asociaciones entre estas características y aquellas que influyen directamente en el retorno económico, tal es el caso del peso del músculo y gonadas. Este estudio tiene como objetivo principal establecer el grado de asociación entre las características morfológicas externas y aquellas medidas luego del proceso en planta. Se recopiló un total de 1400 datos provenientes de individuos bajo pruebas de rendimiento comercial en 4 empresas de la 3^{ra} y 4^a región. La información fenotípica incluyó mediciones individuales de peso (PT) y ancho (AT) del animal vivo y peso del músculo abductor (PM) y gonadas (PG). El análisis se realizó en 2 etapas, primero se implementó un modelo aleatorio semejante al utilizado en la evaluación genética de reproductores y luego se calculó la correlación entre los residuos de este modelo para cada característica. Este análisis señaló que las correlaciones entre AT y PM y PG fueron sólo levemente inferiores a las obtenidas entre PT y PM y PG. Se presentará la respuesta correlacionada a la selección en esta población bajo distintos escenarios utilizando los parámetros genéticos de esta población. Este estudio es una primera etapa para mejorar eficientemente la rentabilidad de este importante recurso acuícola en el norte de nuestro país.

A N E X O 3

**Presentación Oral
Congreso de Ciencias del Mar
Coquimbo, Mayo de 2004**

MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL OSTIÓN DEL NORTE

I. PARÁMETROS FENOTÍPICOS ENTRE CRITERIOS DE SELECCIÓN Y EL OBJETIVO DE MEJORAMIENTO

**Sebastián Cruz¹
Catalina Becerra²
Ivonne Etchepare³
Ana María Vergara²**

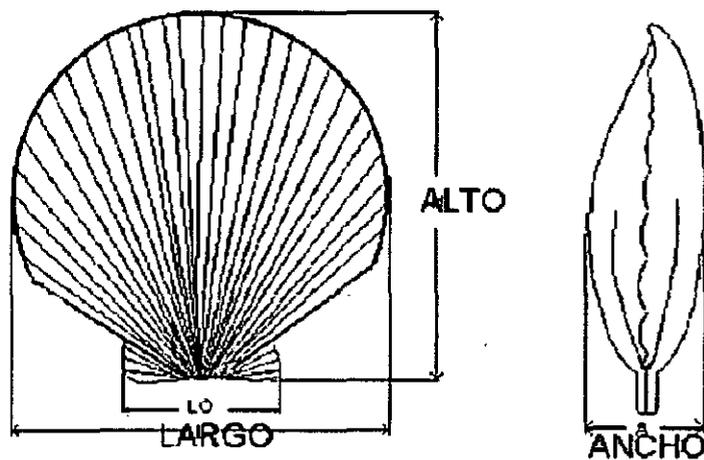
¹ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

² Instituto de Fomento Pesquero (IFOP)

³ La Asociación de Productores de Ostras y Ostiones A.G. (APOOCH)

email contato: vmartinez@uchile.cl

Variables morfológicas externas



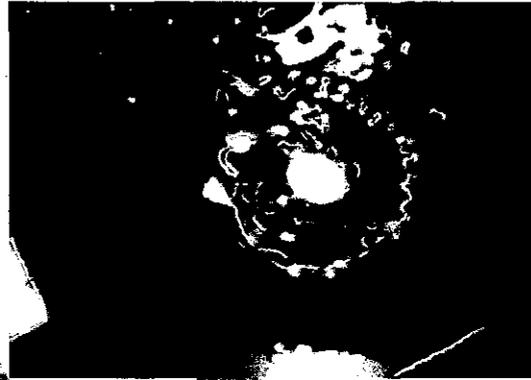


Variables internas

- Peso vísceras
- Peso músculo
- Peso gónadas
- Índice gonadosomático
- Rendimiento
- Peso Mercado



Identificación de empresa

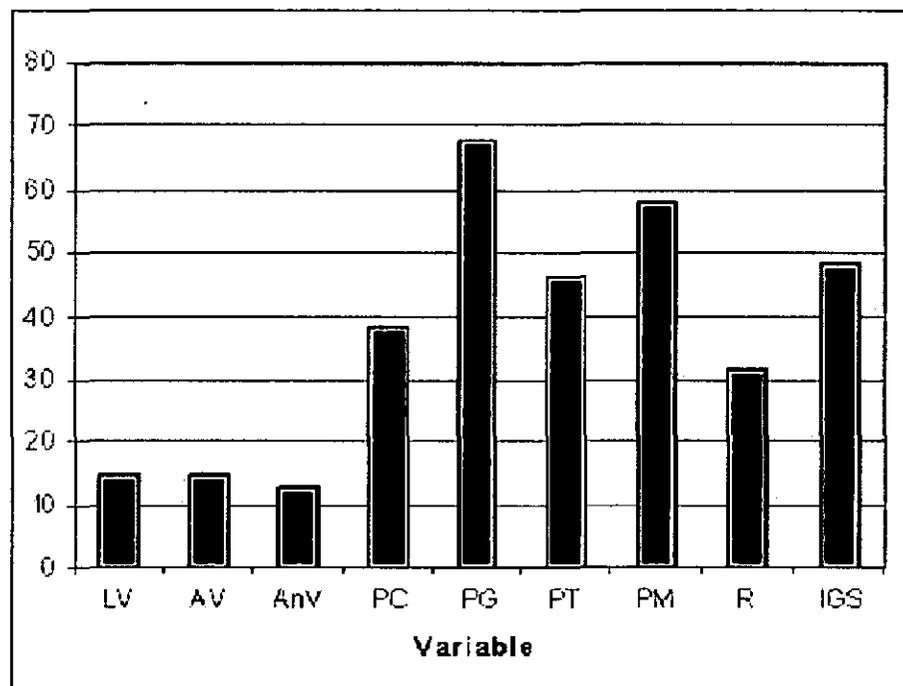


Modelo de Análisis

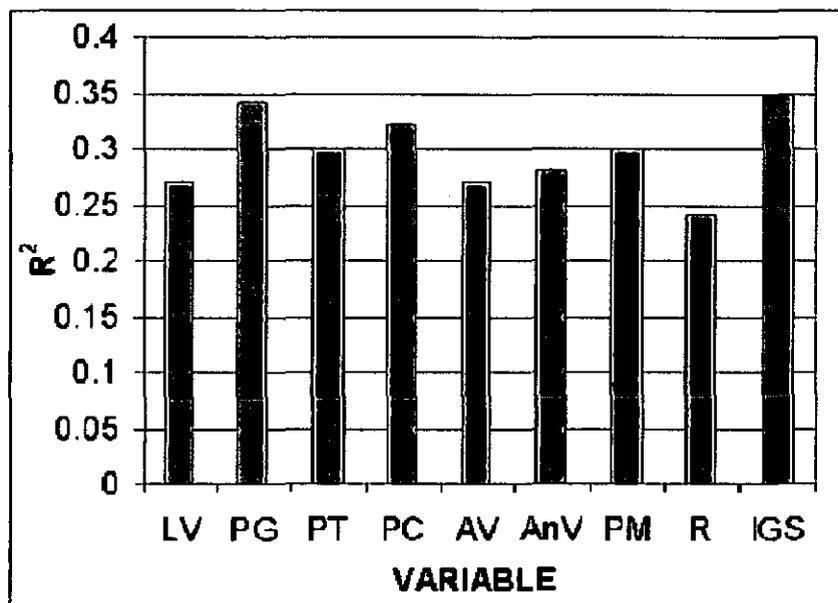
$$Y = Xb + e$$

Correlaciones de Pearson entre variables

Coeficientes de variación



Ajuste Modelo



Correlaciones Fenotipicas

- Medidas Morfometricas

	LV	AV	AnV	PC	PT	PM	PG
LV		0.89	0.78	0.89	0.82	0.72	0.62
AV			0.78	0.89	0.82	0.72	0.62
AnV				0.85	0.77	0.68	0.62
PC					0.89	0.79	0.71
PT						0.79	0.75
PM							0.57
PG							

Correlaciones fenotipicas

	PC	R	IGS	PMer
PC		0.28	0.2	0.84
R			0.78	0.7
IGS				0.54
PMer				



**Sección Documentación,
Difusión y Bibliotecas**

**IFOP
Valparaíso
Chile**

