Interciencia
ISSN: 0378-1844
interciencia@ivic.ve
Asociación Interciencia
Venezuela

Díaz-Viloria, Noé; Pérez-Enríquez, Ricardo; Cruz-Hernández, Pedro; Aguilar-Osuna, Daniel
Herencia mendeliana en microsatélites de abulón amarillo Haliotis corrugata
Interciencia, vol. 38, núm. 6, junio, 2013, pp. 455-460
Asociación Interciencia
Caracas, Venezuela

Disponible en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33928571005

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

HERENCIA MENDELIANA EN MICROSATÉLITES DE ABULÓN AMARILLO *Haliotis corrugata*

Noé Díaz-Viloria, Ricardo Pérez-Enríquez, Pedro Cruz-Hernández y Daniel Aguilar-Osuna

RESUMEN

*En México la pesquería de abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) se ha visto fuertemente afectada por la sobrepesca y factores ambientales. En este contexto, la repoblación de los bancos silvestres mediante liberación de larvas o juveniles producidos en laboratorio se ha vislumbrado como una alternativa para incrementar la producción. Cualquier programa de repoblamiento debe considerar una estrategia de manejo genético que evite la pérdida de diversidad genética y que permita dar seguimiento del pedigrí de los individuos producidos en laboratorio y liberados posteriormente en los bancos naturales. Uno de los requisitos de los marcadores moleculares tipo microsatélites empleados para la asignación de parentesco en análisis de pedigrí es su conformación al modelo de herencia mendeliana. En el presente estudio se analizaron larvas veliger de* H. corrugata *de tres familias no emparentadas (cada una de hermanos completos) con 11 loci microsatélites para evaluar si sus clases genotípicas se ajustaban a las proporciones esperadas bajo herencia mendeliana. Las proporciones genotípicas de ocho loci (Hco15, Hco19, Hco22, Hco47-2, Hco47-3, Hco194, Hka3 y Hka56) se ajustaron a las proporciones mendelianas esperadas, dos loci (Hco47-1 y Hco97) mostraron desviaciones significativas (P<0,05) y en un locus (Hco16) no se pudo comprobar segregación mendeliana. Para análisis de parentesco futuros en esta especie se recomienda el uso de un grupo de al menos seis loci en el cual deben incluirse Hco19, Hco22, Hco47-2 y Hka3 debido a sus moderados a altos polimorfismos.*

Introducción

El abulón *Haliotis* spp. es un gasterópodo marino de alto valor comercial. En México, la pesquería de abulón azul y amarillo (*Haliotis fulgens* y *H. corrugata*, respectivamente) se han visto fuertemente afectadas por la sobrepesca y por factores ambientales, por lo que sus poblaciones se encuentran bajo la clasificación de 'deterioradas' (Morales-Bojorquez *et al*., 2008). En adición a las medidas tradicionales de manejo (tallas mínimas, cuotas, acceso restringido, entre otras), la repoblación de los bancos silvestres mediante la liberación de larvas o juveniles producidos en laboratorio (Gutiérrez-González y Pérez-Enríquez, 2005; Roodt-Wilding, 2007) ha sido vislumbrada como una alternativa para incrementar la producción. De manera paralela, el cultivo de estas especies también ha contribuido a incrementar la producción (Flores-Aguilar *et al*., 2007) y con ello reducir la presión sobre las poblaciones naturales.

En ambos casos, uno de los aspectos principales que debe contener este tipo de programas es una estrategia de manejo genético para un seguimiento adecuado del pedigrí y de la diversidad genética que eviten la pérdida de diversidad genética y el incremento de la endogamia del abulón producido en laboratorio (Li *et al*., 2003; Evans *et al*., 2004; Hara y Sekino, 2007; Lemay y Boulding, 2009; Lafarga-De La Cruz *et al*., 2010), características perjudiciales para rasgos comercialmente importantes en otras especies marinas (Evans *et al*., 2004). Una característica adicional del conocimiento del pedigrí es la posibilidad de dar seguimiento a los individuos tiempo después de que fueron liberados al medio y con ello estar en posibilidades de evaluar la efectividad de la repoblación (Pérez-Enríquez y Taniguchi, 1999; Gutiérrez-González y Pérez-Enríquez, 2005).

Si bien los stocks naturales de *H. fulgens* y *H. corrugata* en México han sido caracterizados genéticamente por marcadores microsatélites (Gutiérrez-González *et al*., 2007; Díaz-Viloria *et al*., 2009), la utilización de éstos en el seguimiento del pedigrí ha sido limitado (Gutiérrez-González y Pérez-Enríquez, 2005; Díaz-Viloria *et al*., 2013). Una de las características distintivas de los microsatélites de ADN es la codominancia y con ello su conformación al modelo de herencia mendeliana que implica, entre otras cosas, que de los dos alelos que componen un genotipo uno proviene del padre y el otro de la madre. En general, al asumirse esta característica, pocos trabajos relacionados con la asignación de parentesco en organismos marinos realizan la verificación previa de confor-

PALABRAS CLAVE / Abalón / *Haliotis corrugata* / Hermanos Completos / Herencia Mendeliana / Microsatélites /

Recibido: 18/10/2012. Modificado: 31/05/2013. Aceptado: 21/06/2013.

Noé Díaz-Viloria. Doctor en Ciencias, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), México. Investigador, Instituto Politécnico Nacional-Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (IPN-CICIMAR), México.

Ricardo Pérez-Enríquez. Doctor en Ciencias, The United Graduate School of Agricultural Science, Kochi University, Japón. Investigador, CIBNOR, México. Dirección: CIBNOR, Instituto Politécnico Nacional 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Sur, La Paz, Baja California Sur, 23096, México. e-mail: Rperez@cibnor.mx

Pedro Cruz-Hernández. Doctor en Ciencias, CIBNOR, México. Investigador, CIBNOR, México.

Daniel Aguilar-Osuna. Oceanólogo, Universidad Autónoma de Baja California (UABC), México. Técnico, Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera 'Progreso', S.C. de R.L., México.

MENDELIAN INHERITANCE IN PINK ABALONE *Haliotis corrugata* MICROSATELLITES
Noé Díaz-Viloria, Ricardo Pérez-Enríquez, Pedro Cruz-Hernández and Daniel Aguilar-Osuna

SUMMARY

*In Mexico, the pink abalone (*Haliotis corrugata*) fishery has been strongly affected by overfishing and environmental factors. In this context, reseeding of natural beds through the release of hatchery produced larvae or juveniles, has been envisioned as an alternative to increase production. Any reseeding program should take in account a genetic management strategy, which avoids the loss of genetic diversity and enables to follow the pedigree of hatchery produced individuals being released in the natural beds. One of the requisites of microsatellites as molecular markers for parentage assignment is their agreement to Mendelian inheritance model. In the present study,* Haliotis corrugata *veliger larvae from three unrelated families (of fullsibs each), were analyzed with 11 microsatellite loci, to assess if their genotypic classes were in agreement to expected ratios under Mendelian inheritance. The genotypic ratios of eight loci (Hco15, Hco19, Hco22, Hco47-2, Hco47-3, Hco194, Hka3, and Hka56) were in agreement with Mendelian expected ratios, two loci (Hco47-1 and Hco97) showed significant deviations (P<0.05), and in one locus (Hco16) Mendelian segregation could not be demonstrated. From the results we suggest the use a group of at least 6 loci in subsequent parentage analyses in which loci Hco19, Hco22, Hco47-2 and Hka3 should be included because their moderate to high polymorphisms.*

HERANÇA MENDELIANA DOS MICROSSATÉLITES DE AMARELO ABULON *Haliotis corrugata*
Noé Díaz-Viloria, Ricardo Pérez-Enríquez, Pedro Cruz-Hernández e Daniel Aguilar-Osuna

RESUMO

No México a pesca do abalone Haliotis corrugata *tem sido fortemente afetada pela sobrepesca e por outros fatores ambientais. Desta forma, o repovoamento dos estoques naturais mediante a liberação de larvas ou juvenis produzidos em laboratório, tem sido visto como uma alternativa para aumentar a produção. Qualquer programa de repovoamento deveria considerar uma estratégia de manejo que evite a perda de variabilidade genética e que permita dar continuidade à linhagem dos indivíduos produzidos em laboratório e posteriormente liberados no ambiente natural. Um dos requisitos dos marcadores moleculares do tipo microsatélites, utilizados para a verificação do grau de parentesco nas análises de linhagem, é a sua conformação ao modelo de herança mendeliana. No presente estudo se analisaram larvas véliger de* H. corrugata *de três famílias não relacionadas (cada um de irmãos completos) com 11 loci de microsatélites, para avaliar se suas classes genotípicas se ajustavam as proporções esperadas pela herança mendeliana. As proporções genotípicas de oito loci (Hco15, Hco19, Hco22, Hco47-2, Hco47-3, Hco194, Hka3 e Hka56) foram ajustadas para às proporções esperadas mendelianas, dois loci (Hco47-1 e Hco97) mostraram diferenças significativas (P<0,05) e em um loci (Hco16) não se pode comprovar a segregação mendeliana. Para análises de parentesco futuro nesta espécie, é recomendável a utilização de um grupo de pelo menos seis loci em que deve ser incluído loci Hco19, Hco22, Hco47-2 e Hka3 devido ao seu polimorfismo de moderado a alto.*

mación al modelo mendeliano (McGoldrick *et al*., 2000; Sugaya *et al*., 2002; Li *et al*., 2003; Cruz *et al*., 2004; Reece *et al*., 2004). La relevancia de este análisis es que, si por cuestiones de origen biológico o técnico un locus no se conforma a este modelo, su uso no es recomendable para la asignación de parentesco debido a que se incrementa la incertidumbre de la asignación.

El objetivo del presente estudio fue confirmar si las clases genotípicas de la progenie de tres familias no emparentadas (cada una de hermanos completos), obtenidas con 11 loci microsatélites, están de acuerdo a las proporciones esperadas bajo segregación mendeliana.

Materiales y Métodos

Familias de abulón

Tres familias no emparentadas (cada una de hermanos completos) de abulón amarillo *Haliotis corrugata* fueron producidas en diciembre 2007 bajo condiciones de laboratorio controladas en las instalaciones de la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera 'Progreso' en La Bocana, en la parte central de la Península de Baja California, México. Para obtenerlos, se colectaron seis abulones sexualmente maduros de bancos naturales en La Bocana, y fueron inducidos a desovar usando agua de mar irradiada con UV después de un periodo de desecación (45min). Las cruzas de un macho (padre) y una hembra (madre) fueron controladas en contenedores separados. Después de 48h del desove, un grupo de cientos de larvas veliger de cada familia y muestras de tentáculos epipodiales de sus progenitores fueron colectados y preservados en etanol al 80%.

Extracción de ADN

El ADN de progenitores fue extraído con el Kit Wizard (Wizard® Genomic DNA Purification Kit, Promega, Madison, WI, EEUU) y el ADN de larvas con el protocolo de Selvamani *et al*. (2001). El ADN de larvas se obtuvo como sigue: cada larva se colocó individualmente dentro de tubos de PCR de 0,2ml y dejados para la vaporización del etanol. Se adicionaron a cada tubo 17µl de una solución amortiguadora de lisis (10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 0,05% Tween-20, pH 8,3) y 4µl de proteinasa K ($4mg \cdot ml^{-1}$). La mezcla fue incubada a 55°C por 24h, se calentó a 95°C por 10min y se almacenó a -20°C hasta su uso.

Análisis de microsatélites

Se analizaron 11 loci de microsatélites (*Hco*15, *Hco*16, *Hco*19, *Hco*22, *Hco*47-1, *Hco*47-2, *Hco*47-3, *Hco*97, *Hco*194, *Hka*3 y *Hka*56; Miller *et al*., 2001; Díaz-Viloria *et al*., 2008) en 60-64 larvas de cada una de las tres familias con excepción de algunos

casos en los que se analizaron 30-32 larvas debido a que ambos padres fueron homocigotos. Previo a la amplificación por PCR, cada larva digerida fue descongelada y centrifugada a 16000g por 5min; se utilizó el sobrenadante como templado. Las amplificaciones de ADN fueron llevadas a cabo en un volumen de 11µl conteniendo 1µl ADN; 0,48µM de cada iniciador; 0,2mM dNTPs; 0,0227 unidades de *Taq* polimerasa (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA, EEUU); 1× solución amortiguadora de *Taq*; 2,1mM $MgCl_2$ y 0,41mg·ml^{-1} de BSA (SIGMA, Saint Louis, MO, EEUU). Las amplificaciones fueron realizadas en un termociclador (iCycler Bio-Rad, Hercules, CA, EEUU o Applied Biosystems 2720, Life Technologies, Carlsbad, CA, EEUU).

Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en geles de poliacrilamida al 5% (1800V, 100A, 90W) y los fragmentos fueron visualizados usando Sybr-Gold (0,07×) dentro de una matriz de agarosa (1,1%) (Rodzen *et al*., 1998) y escaneados (FMBIOIII-Plus, Mirai-Bio Group, Hitachi Solutions America, South San Francisco, CA, EEUU). Las tallas alélicas fueron determinadas por comparación a individuos de tallas alélicas conocidas de estudios previos (Díaz-Viloria *et al*., 2008, 2009).

Prueba de segregación mendeliana

Las proporciones genotípicas observadas en larvas de *H. corrugata* fueron comparadas a aquellas proporciones esperadas bajo segregación mendeliana (Mendel, 1866). Desviaciones estadísticas significativas de las proporciones esperadas (1:1, 1:2:1 y 1:1:1:1), fueron evaluadas por pruebas de bondad de ajuste χ^2, con n-1 grados de libertad, donde n: número de clases fenotípicas (Li *et al*., 2003). También se realizaron pruebas de bondad de ajuste G, en donde el número de grados de libertad fue el mismo que para las pruebas de χ^2 (Sokal y Rohlf, 1981).

TABLA I
PRUEBAS DE BONDAD DE AJUSTE χ^2 Y *G* DE SEGREGACIONES DE GENOTIPOS DE LOCI MICROSATÉLITES EN LARVAS DE *Haliotis corrugata* DE TRES FAMILIAS NO EMPARENTADAS DE HERMANOS COMPLETOS (A, B Y C)

Locus	Familia	Genotipos parentales		Número de genotipos observados en cada clase genotípica *				χ^2 / G
		Madre	Padre					
*Hco*15	A	222/222	203/222	222 / 222 32 (30,5)	203/222 29 (30,5)			0,15 0,15
	B, C	222/222	222/222	222/222 30 (30)				-
*Hco*16	A, B, C	212/212	212/212	212/212 32 (32)				-
*Hco*19	A	174/180	164/166	164/174 18 (15,5)	166/174 14 (15,5)	164/180 15 (15,5)	166/180 15 (15,5)	0,58 0,57
	B	164/174	152/162	152/164 16 (15)	162/164 13 (15)	152/174 17 (15)	162/174 14 (15)	0,67 0,67
	C	168/182	166/176	166/168 13 (15,25)	168/176 11 (15,25)	166/182 18 (15,25)	176/182 19 (15,25)	2,93 2,99
*Hco*22	A	217/221	212/212	212/217 28 (31)	212/221 34 (31)			0,58 0,58
	B	212/217	212/217	212/212 9 (14,5)	212/217 31 (29)	217/217 18 (14,5)		3,07 3,33
	C	212/212	212/223	212/212 36 (31)	212/223 26 (31)			1,61 1,62
*Hco*47-1	A	248/248	248/248	248/248 62 (62)				-
	B	242/248	242/248	242/242 14 (14,5)	242/248 31 (29)	248/248 13 (14,5)		0,31 0,31
	C	242/248	248/248	242/242 12 (0)	242/248 14 (27,5)	248/248 29 (27,5)		Inf **
	C ***	242/248	nulo/248	242/nulo 12 (13,75)	242/248 14 (13,75)	248/nulo + 248/248 29 (27,5)		0,31 0,32
*Hco*47-2	A	320/338	330/344	320/330 19(15,25)	320/344 13(15,25)	330/338 16(15,25)	338/344 13(15,25)	1,62 1,59
	B	330/334	334/338	330/334 14(14,75)	334/334 13(14,75)	330/338 23(14,75)	334/338 9(14,75)	7,10 6,80
	C	338/338	330/344	330/338 35(30,5)	338/344 26(30,5)			1,33 1,33
*Hco*47-3	A	360/360	354/356	354/360 36(31)	356/360 26(31)			1,61 1,62
	B	356/356	356/356	356/356 57(57)				-
	C	356/360	360/360	356/360 35(29,5)	360/360 24(29,5)			2,05 2,06
*Hco*97	A	175/201	201/201	175/175 16 (0)	175/201 19 (31,5)	201/201 28 (31,5)		Inf**
	A ***	175/201	nulo/201	175/nulo 16 (15,75)	175/201 19 (15,75)	201/nulo + 201/201 28 (31,5)		1,06 1,04
	B	203/204	201/201	201/203 24 (29)	201/204 34 (29)			1,72 1,73
	C	201/201	201/201	201/201 62 (62)				-
*Hco*194	A	196/198	196/198	196/196 14 (16)	196/198 38 (32)	198/198 12 (16)		2,37 2,42
	B	198/198	196/198	196/198 33 (31)	198/198 29 (31)			0,26 0,26
	C	198/198	196/198	196/198 32 (31,5)	198/198 31 (31,5)			0,02 0,02
*Hka*3	A	245/262	232/255	232/245 15 (15,5)	232/262 18 (15,5)	245/255 19 (15,5)	255/262 10 (15,5)	3,16 3,37
	B	266/282	272/272	266/272 34 (30,5)	272/282 27 (30,5)			0,80 0,80
	C	277/300	238/238	238/277 29 (29,5)	238/300 30 (29,5)			0,02 0,02
*Hka*56	A	244/244	242/244	242/244 34 (31)	244/244 28 (31)			0,58 0,58
	B	242/244	244/244	242/244 33 (30,5)	244/244 28 (30,5)			0,41 0,41
	C	244/244	244/244	244/244 33 (33)			-	-

* Frecuencias esperadas entre paréntesis de acuerdo a la segregación mendeliana.
** Frecuencias esperadas de cero en una celda que no permiten la prueba de χ^2; las expectativas mendelianas no se cumplen.
*** Genotipos corregidos si un alelo nulo está presente en uno de los padres y/o en la descendencia.

Resultados

Los genotipos observados de los progenitores y de la descendencia, y las proporciones esperadas de los genotipos de cada familia, se muestran en la Tabla I. De las 33 proporciones genotípicas observadas (3 familias y 11 loci), la segregación mendeliana no pudo ser confirmada en nueve casos debido a que ambos padres fueron homocigotos (locus *Hco*15 en las familias B and C, locus *Hco*16 en todas las familias, locus *Hco*47-1 en la familia A, locus *Hco*47-3 en la familia B, loci *Hco*97 y *Hka*56 en la familia C). Veintidos proporciones se ajustaron a las proporciones mendelianas espe-

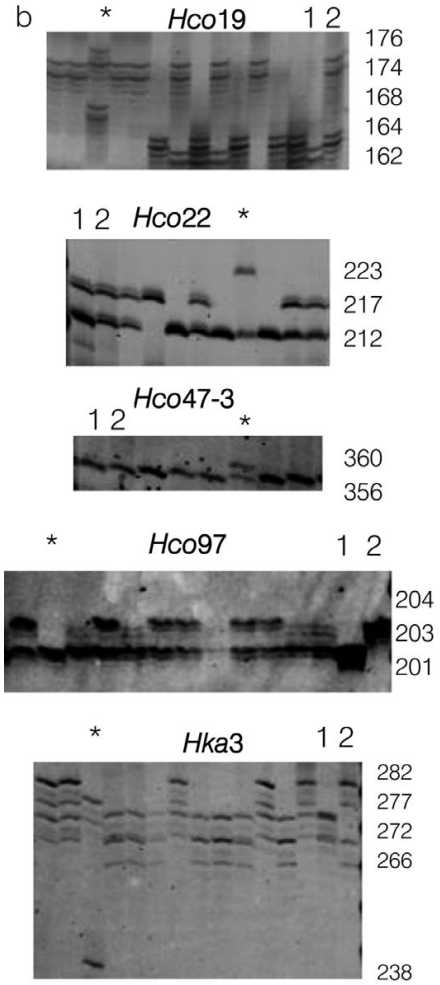

Figura 1. Patrones de bandas irregulares observados en la larva 11 de *Haliotis corrugata* (*) de la familia B. Carriles 1 y 2 indican los genotipos del Padre y la Madre, respectivamente.

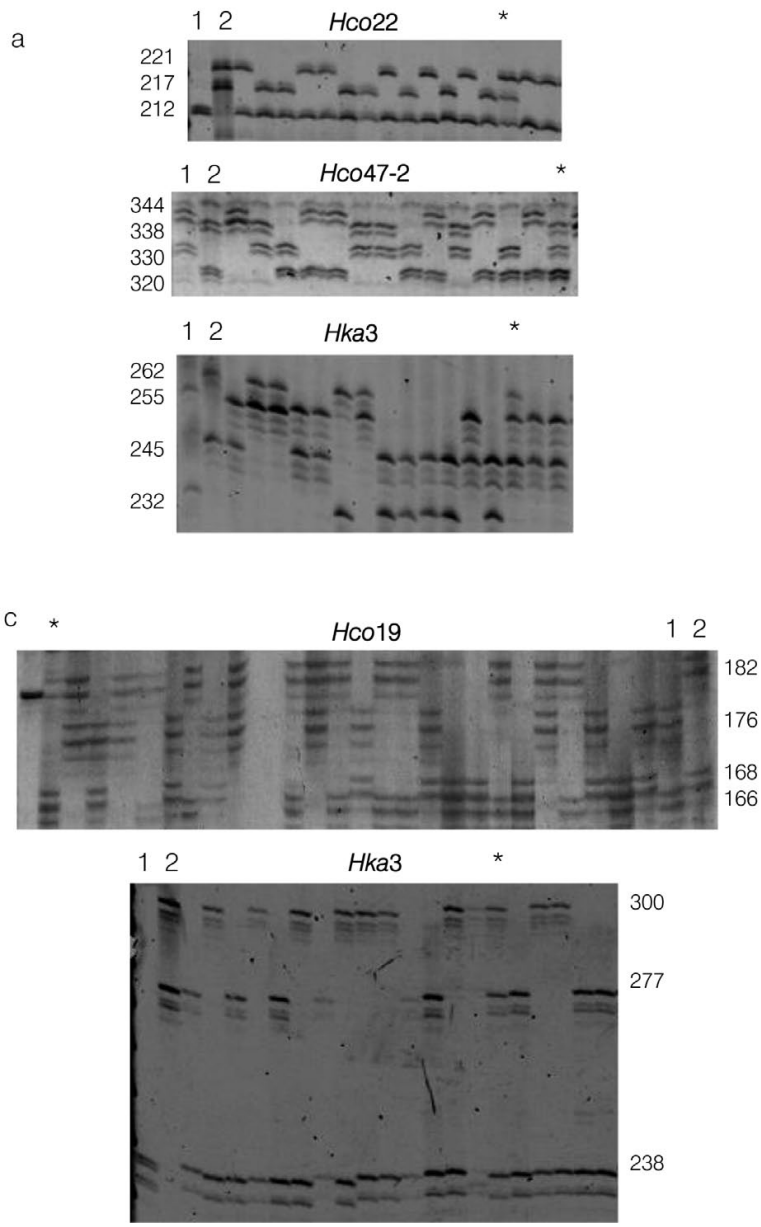

Figura 2. Patrones de bandas irregulares observados en las larvas 14 y 15 de *Haliotis corrugata* (*) de las familias A (arriba) y C (abajo), respectivamente. Carriles 1 y 2 indican los genotitpos del Padre y la Madre, respectivamente.

radas (P>0,05) tanto con la prueba de χ^2 como con la de *G* (Tabla I). Las dos proporciones genotípicas restantes (*Hco*47-1 en la familia C y *Hco*97 en la familia A) mostraron desviaciones significativas de las frecuencias genotípicas esperadas. En el locus *Hco*47-1 de la familia C se observó un genotipo no esperado (242/242) en la progenie; cuando se consideró la posible presencia de un alelo nulo en el padre (pasando del genotipo 248/248 al nulo/248) la proporción de los genotipos resultantes no mostró desviación estadísticamente significativa. Un caso similar se observó en el locus *Hco*97 de la familia A, en la que el genotipo no esperado 175/175 se observó en la descendencia; la presencia de alelo nulo en el padre (nulo/201) dio como resultado desviaciones no significativas (Tabla I).

El genotipo de una larva de cada una de las familias no fue incluido en el análisis debido a que el patrón de bandeo en el gel no correspondió a lo esperado para su propia familia. El análisis de los datos mostró que en la familia B los genotipos de la larva #11 en cinco loci coincidieron con los de la familia C (Figura 1). En las familias A y C, las larvas #14 y #15, mostraron un patrón de tres bandas en tres y dos loci, respectivamente (Figura 2).

Discusión

El porcentaje de éxito de la amplificación de ADN de larvas veliger osciló entre el 91 y 100% con la técnica de extracción de ADN de Selvamani *et al*. (2001). Un porcentaje similar del 93-100% fue obtenido por Li *et al*. (2003), quienes usaron Chelex en larvas trocóforas de *H. discus hannai*.

En general, la mayoría de los microsatélites mostraron segregación mendeliana en todas las familias (excepto por el locus *Hco*47-1 en la familia C, y locus *Hco*97 en la familia A), significando que cada alelo en casi todo los loci pudo ser heredado por cada progenitor sin barreras ligadas al sexo. También en la mayoría de los loci cada cruza resultó en descendencia con todos los genotipos esperados bajo herencia mendeliana, sugiriendo la ausencia de barreras para la fertilización

de los gametos de diferentes genotipos de cada progenitor (Côrte-Real *et al*., 1994; Li *et al*., 2003). Estos resultados descartan la posibilidad de existencia de aneuploidía, por que la mayoría de los loci presentaron herencia mendeliana y por que si existiera probablemente se vería reflejada en múltiples loci, a diferencia del trabajo de Côrte-Real *et al*. (1994) realizado con un solo locus. En el caso de los loci *Hco*47-1 y *Hco*97, el desajuste entre las proporciones observadas y esperadas bajo herencia mendeliana fue explicada por la existencia de alelos nulos. Los alelos nulos de regiones microsatélites pueden surgir a través de mutaciones puntuales en el sitio de acoplamiento de los iniciadores (Callen *et al*., 1993). La presencia de alelos nulos es el principal problema de los marcadores microsatélites para estudios de genética poblacional en abulón. Si están presentes los alelos nulos, pero no son considerados, el resultado de error en el conteo en heterocigosis crea un exceso aparente de homocigotos es estudios poblacionales (Li *et al*., 2003). Los alelos nulos deben ser evaluados, por que su presencia complica la interpretación de las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) y múltiples alelos nulos pueden confundir o distorsionar el análisis de estructura poblacional (Reece *et al*., 2004; Gruenthal y Burton, 2008). Al respecto, el locus *Hco*97 no presentó evidencias de desviaciones al EHW en varias muestras poblacionales obtenidas en la Península de Baja California (Díaz-Viloria *et al*., 2008, 2009, 2013). Sin embargo, el locus *Hco*47 (*Hco*47-1 del presente estudio) presentó desviación del EHW en Díaz-Viloria *et al*. (2009), lo que está en concordancia a lo obtenido en el presente estudio y se atribuye a alelos nulos.

Por otro lado en el presente estudio no se observaron desviaciones de las proporciones mendelianas debido a la selección de la viabilidad cigótica o mortalidad larvaria, evidenciados por distorsiones significativas en las proporciones genotípicas esperadas; en la forma de déficit o exceso de heterocigotos (Côrte-Real *et al*., 1994; Reece *et al*., 2004) todas las desviaciones de las proporciones esperadas fueron explicadas cuando los alelos nulos se tomaron en cuenta.

La presencia de alelos nulos en *Hco*97 ejemplifica muy bien el efecto de oscurecimiento de alelos nulos por mezcla de diferentes familias en una población natural. Estos resultados concuerdan con lo reportado previamente por Côrte-Real *et al.* (1994), quienes observaron que los genotipos de larvas de mejillón (*Mytilus edulis*) de algunas familias producidas en laboratorio no se ajustaron a las proporciones mendelianas esperadas, pero en contraparte reportaron EHW en las poblaciones naturales. Côrte-Real *et al.* (1994), sugirieron que la mortalidad larvaria y diseminación gamética azarosas en las poblaciones naturales pueden eclipsar pequeñas diferencias selectivas, debido a que ellos consideraron efecto de selección en un locus ligado, en las distorsiones de proporciones genotípicas observadas.

Como fue observado, una larva de la familia B fue emparejada a los genotipos de larvas de la familia C en cinco loci, lo que confirmó contaminación de una larva de la familia C en la familia B, que probablemente fue movida inadvertidamente entre las muestras de las dos familias con una punta de pipeta usada previamente en una de las familias. Este hecho ejemplifica que los microsatélites de *H. corrugata* pueden discriminar entre larvas relacionadas y no relacionadas en un posible caso donde la información del pedigrí no sea disponible. En general, la asignación de individuos a sus familias de origen depende del número de loci y diversidad alélica (Bernatchez y Duchesne, 2000). Sin embargo si existe suficiente diversidad alélica, un número relativamente bajo de loci es requerido para alcanzar un éxito elevado en la asignación (Selvamani *et al*., 2001; Li *et al*., 2003; Toonen, 2004).

El hecho que en las familias A y C existan larvas que mostraron un patrón de tres bandas se puede explicar probablemente por la contaminación del ADN de dos larvas en un mismo tubo, lo cual coincide con uno de los posibles genotipos que se obtendrían al mezclar dos larvas. Sin embargo, no se debe descartar la observación de Baranski *et al*. (2006), quienes registraron un tercer alelo en cuatro microsatélites de *Haliotis rubra*, sugiriendo duplicación de locus frecuente o asociación de microsatélites con elementos móviles.

En conclusión, se confirmó herencia mendeliana en ocho loci (*Hco*15, *Hco*19, *Hco*22, *Hco*47-2, *Hco*47-3, *Hco*194, *Hka*3 y *Hka*56) en las tres familias. En el caso de *Hco*16, la segregación mendeliana no pudo probarse porque todos los progenitores fueron homocigotos con genotipos idénticos; sin embargo, este locus estuvo en EHW en tres estudios previos (Díaz-Viloria *et al*., 2008, 2009, 2013) por lo que se asume que se ajustan al modelo mendeliano. Los loci *Hco*47-1 y *Hco*97 mostraron alelos nulos, por lo cual no son recomendados para análisis de parentesco. En el caso contrario, los loci *Hco*19, *Hco*22, *Hco*47-2 y *Hka*3, son recomendados para análisis de parentesco por su polimorfismo de moderado a alto. Asimismo, se recomienda la búsqueda de microsatélites adicionales altamente polimórficos para incrementar el número de marcadores a emplearse en el cálculo de la probabilidad de asignación en futuros análisis de pedigrí y parentesco en *H. corrugata*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la S.C.P.P. 'Progreso', S.C. de R.L. por la accesibilidad y apoyo en la obtención de muestras y a Susana Ávila Alvarez, técnico del laboratorio de Genética Acuícola de CIBNOR. Este proyecto fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT proyecto 2007-79482). El primer autor agradece a CONACYT por la beca recibida durante sus estudios doctorales (Nº 162710).

REFERENCIAS

Baranski M, Rourke M, Loughnan S, Austin C, Robinson N (2006) Isolation and characterization of 125 microsatellite DNA markers in the blacklip abalone, *Haliotis rubra*. *Mol. Ecol. Notes 6*: 740-746.

Bernatchez L, Duchesne P (2000) Individual-based genotype analysis in studies of parentage and population assignment: how many loci, how many alleles?. *Can. J. Fish Aquat. Sci. 57*: 1-12.

Callen DF, Thompson AD, Shen Y, Phillips HA, Richards RI, Mulley JC, Sutherland GR (1993) Incidence and origin of 'null' alleles in the (AC)n microsatellites markers. *Am. J. Hum. Genet. 52*: 922-927.

Côrte-Real HBSM, Holland PWH, Dixon DR (1994) Inheritance of a nuclear DNA polymorphism assayed in single bivalve larvae. *Mar. Biol. 120*: 415-420.

Cruz P, Ibarra AM, Mejia-Ruiz H, Gaffney PM, Pérez-Enríquez R (2004) Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Mar. Biotechnol. 6*: 157-164.

Díaz-Viloria N, Pérez-Enríquez R, Fiore-Amaral G, Burton RS, Cruz P (2008) Isolation and cross-amplification of microsatellites in pink abalone (*Haliotis corrugata*). *Mol. Ecol. Resourc. 8*: 701-703.

Díaz-Viloria N, Cruz P, Guzmán-del Próo SA, Pérez-Enríquez R (2009) Genetic connectivity among pink abalone *Haliotis corrugata* populations. *J. Shellfish Res. 28*: 599-608.

Díaz-Viloria N, Guzmán-del Próo SA, Cruz P, Pérez-Enríquez R (2013) assessment of self-recruitment in a pink abalone (*Haliotis corrugata*) aggregation by parentage analices. *J. Shellfish Res. 1*: 105-113.

Evans B, Bartlett J, Sweijd N, Cook P, Elliot NG (2004) Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery produced abalone in Australia (*Haliotis rubra*) and South Africa (*Haliotis midae*). *Aquaculture 233*: 109-127.

Flores-Aguilar RA, Gutiérrez A, Ellwanger A, Searcy-Bernal R (2007) Development and current status of abalone aquaculture in Chile. *J. Shellfish Res. 3*: 705-711.

Gruenthal KM, Burton RS (2008) Genetic structure of natural populations of the California black abalone (*Haliotis cracherodii* Leach, 1814), a candidate for endangered species status. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 355*: 47-58.

Gutiérrez-González JL, Pérez-Enríquez R (2005) A genetic evaluation of stock enhacement of blue abalone *Haliotis fulgens* in Baja California, México. *Aquaculture 247*: 233-242.

Gutiérrez-González JL, Cruz P, Del Río-Portilla MA, Pérez-Enríquez R (2007) Genetic structure of green abalone *Haliotis fulgens* population off Baja California, Mexico. *J. Shellfish Res. 26*: 839-846.

Hara M, Sekino M (2007) Genetic differences between hatchery stocks and natural populations in pacific abalone (*Haliotis discus*) estimated using microsatellite DNA markers. *Mar. Biotechnol. 9*: 74-81.

Lafarga De La Cruz F, Del Río-Portilla MA, Gallardo-Escárate C (2010) Genetic variability of cultured populations of red abalone in Chile: An approach based on heterologus microsatellites. *J. Shellfish Res. 3*: 709-715.

Lemay MA, Boulding EG (2009) Microsatellite pedigree analysis reveals high variance in reproductive success and reduced genetic diversity in hatchery-spawned northern abalone. *Aquaculture 295*: 22-29

Li Q, Park C, Kijima A (2003) Allelic transmission of microsatellites and application to kinship analysis in newly hatched pacific abalone larvae. *Fish. Sci. 69*: 883-889.

McGoldrick DJ, Hedgecock D, English LJ, Baoprasertkull P, Ward RD (2000) The transmission of microsatellite alleles in australian and northamerican stocks of the pacific oyster (*Crassostrea gigas*): selection and null alleles. *J. Shellfish Res. 2*: 779-788.

Mendel G (1866) Experiments in plant hybridization (1865). Versuche über Plflanzen hybriden. Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn, Bd. IV. *Abhandlungen*, 3-47.

Miller KM, Laberee K, Kaukinen KH, Li S, Withler RE (2001) Development of microsatellite loci in pinto abalone (*Haliotis kamtschatkana*). *Mol. Ecol. Notes 1*: 315-317.

Morales-Bojórquez E, Muciño-Díaz MO, Vélez-Barajas JA (2008) Analysis of the decline of the abalone fishery (*Haliotis fulgens* and *H. corrugata*) along the westcentral coast of the Baja California peninsula, Mexico. *J. Shellfish Res. 27*: 865-870.

Pérez-Enríquez R, Taniguchi N (1999) Use of microsatellite DNA as genetic tags for the assessment of a stock enhancement program of red sea bream. *Fish. Sci. 65*: 374-379.

Reece KS, Ribeiro WL, Gaffney PM, Carnegie RB, Allen S.K (2004) Microsatellite marker development and analysis in the eastern oyster (*Crassostrea virginica*): Confirmation of null alleles and non-Mendelian segregation ratios. *J. Hered. 95*: 346-352.

Rodzen JA, Agresti JJ, Tranah G, May B (1998) Agorose overlays allow simplified staining of polyacrylamide gels. *BioTechniques 25*: 584.

Roodt-Wilding R (2007) Abalone ranching: a review on genetic considerations. *Aquacult. Res. 38*: 1229-1241.

Selvamani MJP, Degnan SM, Degnan BM (2001) Microsatellite genotyping of individual abalone larvae: parentage assignment in aquaculture. *Mar. Biotechnol. 3*: 478-485.

Sokal RR, Rohlf FJ (1981) *Biometry*. 2ª ed. Freeman. Nueva York, EEUU. 859 pp.

Sugaya T, Ikeda M, Mori H, Taniguchi N (2002) Inheritance mode of microsatellite DNA markers and their use for kinship estimation in kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Fish. Sci. 68*: 299-305.

Toonen RJ (2004) Genetic evidence of multiple paternity of broods in the intertidal crab *Petrolisthes cinctipes*. *Mar. Ecol. Prog. Ser. 270*: 259-263.