

Variabilidad aloenzimática del locus *PGM-1** y estabilidad de desarrollo en salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*): Evidencias de análisis familiar

Allozymic variation at the locus *PGM-1** and developmental stability in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): Evidences of within family analysis

María V. Valdivia¹, Federico M. Winkler^{2*} y Nelson F. Díaz³

¹ Depto. de Acuicultura, Fundación Chile. Casilla 773, Santiago, Chile.

² Depto. de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Sede Coquimbo. Casilla 117, Coquimbo, Chile.

³ Depto. de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Casilla 653, Santiago, Chile. fwinkler@nevados.uchile.cl

Abstract. Several works in salmonid fishes have related the variation at simple enzyme coding loci and the multilocus heterozygosity with developmental homeostasis, measured through fluctuating asymmetry in bilateral characters. Association between genotype variation at the *PGM-1** locus and growth rate during fresh water stage in a cultured strain of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) has been found. Evidences in rainbow trout suggest that growth rate and developmental stability could be positively associated. The effect of variation at the *PGM-1** locus on developmental stability in coho salmon was examined by comparison of fluctuating asymmetry among individuals with different genotype on that locus, within full-sib families. Not significant genotype or family effect on fluctuating asymmetry was found. Results suggest no association among *PGM-1** variation and developmental stability in coho salmon.

Keywords: Bilateral asymmetry, electrophoresis, meristic characters, genetic variability, aquaculture.

Resumen.- Diversos trabajos en peces salmónidos han relacionado la variación aloenzimática en loci particulares o la heterocigosidad aloenzimática con la homeostasis del desarrollo, medida a través de la asimetría fluctuante en caracteres bilaterales. En una cepa cultivada de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) se ha detectado asociación entre variantes genotípicas en el locus *PGM-1** y el crecimiento en la etapa de agua dulce. El efecto de la variación en el locus *PGM-1** sobre los niveles de asimetría bilateral se examinó mediante la comparación de individuos con distinto genotipo, dentro de familias de hermanos completos. No se detectaron efectos significativos del genotipo o de las familias sobre el nivel de asimetría fluctuante. Los resultados sugieren que la variación genotípica en *PGM-1** no afecta la homeostasis del desarrollo en salmón coho.

Palabras clave: Asimetría bilateral, electroforesis, caracteres merísticos, variabilidad genética, acuicultura.

Introducción

Las plantas y los animales a menudo tienen múltiples copias de estructuras morfológicas. Si el desarrollo de tales estructuras en ambos lados de un organismo bilateralmente simétrico está bajo control genético, entonces se esperaría que éstas fueran idénticas en forma, tamaño o número, debido a que son productos del mismo genoma (Leary & Allendorf 1989). Por consiguiente, la asimetría de tales estructuras puede reflejar accidentes durante el desarrollo, en el momento en que los caracteres son determinados (Leary *et al.* 1984a). La homeostasis del desarrollo se define como la capacidad de un organismo de formar un fenotipo promedio en presencia de perturbaciones externas (Lerner 1954). Una pequeña desviación de la simetría bilateral podría, por lo tanto, constituir una medición

razonable de la disminución de esta homeostasis (Soulé 1967, 1979) y en consecuencia, del grado de adecuación biológica del individuo (Soulé 1982, Soulé & Cuzin-Roudy 1982, Leary *et al.* 1984a).

Se han reconocido tres clases de asimetría: asimetría direccional, antisimetría y asimetría fluctuante (Van Valen 1962). La asimetría fluctuante existe cuando la simetría es el estado normal de un organismo y no existe tendencia en alguno de los lados de presentar un mayor valor para un carácter, por lo que las diferencias entre lados se distribuyen normalmente con un promedio de cero (Van Valen 1962). Sólo la asimetría fluctuante es considerada como un reflejo de la perturbación del desarrollo (Leary & Allendorf 1989).

En numerosos estudios realizados en una gran variedad de especies se ha encontrado una asociación

entre la heterocigosidad en loci que controlan la expresión de enzimas y la asimetría fluctuante de caracteres bilaterales (Leary *et al.* 1983, 1984a, 1984b, 1985a, 1985b, 1991, 1992, Blanco & Sánchez 1986, Leary & Allendorf 1989, Blanco *et al.* 1990). Se ha demostrado, además, que tanto la heterocigosidad en múltiples loci como en loci particulares pueden estar asociadas con la homeostasis del desarrollo en especies de salmónidos (Leary *et al.* 1983, 1984b, Blanco *et al.* 1990). Mitton & Koehn (1985) han propuesto que la mayor variabilidad molecular que presentan los heterocigotos les confiere una mayor estabilidad a las vías metabólicas, por lo que estos individuos están, en promedio, en un balance energético positivo más alto, lo que se traduce en un desarrollo más estable.

Considerando la aparente generalidad de la asociación entre heterocigosidad y homeostasis del desarrollo en poblaciones de peces salmónidos y su posible relación con la adecuación biológica, es de especial interés analizar el efecto de la heterocigosidad en loci particulares sobre la asimetría fluctuante en salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*). En el Complejo Piscícola de Coyhaique, del Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) en Aysén, XI Región, Chile (45°34'S-72°05'W), se desarrolla desde 1992 un programa de mejoramiento genético en esta especie. El sistema de cruzamientos utilizado en este programa permite generar un gran número de familias de medios hermanos y hermanos completos. Esto representa una ventaja, dado que al realizar comparaciones entre genotipos dentro de familias de hermanos completos, la posibilidad de encontrar una asociación de este tipo se incrementa respecto a lo esperado en poblaciones con cruzamiento al azar, ya que al ser grupos genéticamente homogéneos se reduce la variación causada por el genotipo residual que puede ocultar pequeñas diferencias biológicamente significativas.

En el presente estudio se analizó el efecto de la variación genotípica en el locus *PGM-1** sobre la asimetría fluctuante en familias de hermanos completos de salmón coho pertenecientes a la clase de año par de la cepa mantenida en el Programa de Mejoramiento Genético del Complejo Piscícola de Coyhaique.

Materiales y Método

Los ejemplares de salmón coho analizados en el presente estudio pertenecen a la cepa Coyhaique, mantenida en el Centro de Mejoramiento Genético, ubicado en el Complejo Piscícola de Coyhaique. El origen de esta cepa fue descrito por Winkler *et al.* (1999). El ciclo de vida de estos salmones es de dos años, tiempo al cabo del cual algunos son utilizados como reproductores, lo que genera subpoblaciones de años par e impar aisladas reproductivamente. Los

cruzamientos se realizaron durante el mes de mayo de 1996, siguiendo un diseño de medios hermanos y hermanos completos (Falconer 1981). Cada macho se cruzó en promedio con cuatro hembras, generando aproximadamente 121 familias de hermanos completos. Las familias se incubaron separadamente y se mantuvieron de esta forma hasta completar la etapa de crianza en agua dulce. Los cruzamientos, la incubación y el alevinaje se realizaron en la piscicultura D. Shiraishi perteneciente al Complejo Piscícola de Coyhaique.

Se analizaron muestras de tejido de 38 hembras y 29 machos usados como reproductores en 1996, con el objetivo de detectar la presencia de familias variables para 5 loci descritos previamente como polimórficos en la subpoblación de año par de la cepa Coyhaique: esterasa-6 (*EST-6**), esterasa-7 (*EST-7**), fumarato hidratasa-1 (*FH-1**), glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (*G3PDH-H**) y fosfoglucomutasa-1 (*PGM-1**) (Pérez 1997). Se utilizó electroforesis horizontal de proteínas en gel de almidón (10 %), según los procedimientos descritos por Aebersold *et al.* (1987). Los sistemas enzimáticos, loci examinados, soluciones también de corrima y tejidos analizados se muestran en la Tabla 1. La designación de loci y variantes alélicas corresponde a la nomenclatura propuesta por Shaklee *et al.* (1990) denominando al alelo más común dentro de un locus como 100, y al resto de los alelos sobre la base de su movilidad relativa respecto a éste. Sólo el locus *PGM-1** presentó variabilidad, por lo que fue el único considerado en el presente estudio. Debido a que en 61 familias no se dispuso de muestras de uno o ambos padres, en ellas la presencia de variabilidad para este locus se verificó mediante el análisis electroforético de un pool de muestras de tejido muscular de seis peces de cada familia. La probabilidad de detectar las familias efectivamente variables por este método es superior a 98%.

A los 5 meses de edad se extrajo al azar entre 40 y 60 individuos de cada familia previamente identificada como variable para el locus *PGM-1**. Los peces fueron dispuestos individualmente en bolsas plásticas, congeladas a -20°C y transportados luego en hielo seco hasta el Laboratorio de Genética de la Universidad Católica del Norte, en Coquimbo, en donde se mantuvieron congelados a -20 °C hasta el momento de su análisis.

Un total de 699 ejemplares, pertenecientes a catorce familias variables para el locus *PGM-1**, fueron considerados para el análisis. En cada individuo se realizó el recuento de los siguientes caracteres merísticos bilaterales: número de radios en las aletas pectorales, número de radios en las aletas pélvicas, número de branquias en la rama inferior del primer

arco branquial y número de branquispinas en la rama superior del primer arco branquial. Estos caracteres fueron seleccionados porque pueden ser contados fácilmente y con exactitud, y son determinados en estados tempranos del desarrollo (Leary *et al.* 1984b, Blanco *et al.* 1990). Además, todos ellos presentan asimetría fluctuante en salmónidos y no se han encontrado diferencias en los niveles de asimetría entre sexos (Leary *et al.* 1983, 1984b). Adicionalmente, de cada individuo se tomó muestras de tejido muscular, las que se almacenaron a -20° C y luego se analizaron siguiendo los procedimientos descritos previamente, con el objetivo de determinar su genotipo para el locus *PGM-1**.

La existencia de desviaciones de las frecuencias genotípicas del locus *PGM-1** con respecto a las proporciones esperadas en las progenies basándose en el genotipo de los padres, se verificó para cada familia mediante la prueba de bondad de ajuste de Ji cuadrado (Sokal & Rohlf 1995). La existencia de diferencias estadísticas entre los recuentos de ambos lados para cada carácter se verificó mediante la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas (Sokal & Rohlf 1995), para las clases genotípicas dentro de cada familia.

El nivel de asimetría individual para cada carácter se expresó como las diferencias reales y absolutas entre los lados izquierdo y derecho. El nivel de asimetría se comparó entre individuos con distinto genotipo dentro de familias basándose en la proporción de individuos asimétricos para cada carácter, el número de caracteres asimétricos por individuo y la magnitud de la asimetría computada como el valor absoluto de las diferencias de los recuentos entre lados, sumado sobre los cuatro caracteres medidos. Además, para las clases genotípicas de cada familia se calculó el promedio de los cuadrados de las diferencias entre lados, considerado el índice más sensible para determinar la existencia de diferencias en asimetría fluctuante en muestras pequeñas ($n < 25$), cuando la asimetría es independiente del tamaño del carácter (Palmer & Strobeck 1986).

Los datos correspondientes a las diferencias absolutas entre lados de cada carácter, el número de caracteres asimétricos por individuo y la magnitud de la asimetría, fueron comparados mediante un análisis de varianza no paramétrico (Zar 1999). Los datos correspondientes a la proporción de individuos asimétricos para cada carácter y al índice de asimetría se analizaron mediante un análisis de varianza de dos factores sin repetición, modelo mixto, donde los genotipos fueron tratados como efectos fijos y las familias como efectos aleatorios (Sokal & Rohlf 1995).

Tabla 1

Sistemas enzimáticos, número de la "Enzyme Commission" (E.C.), loci analizados, tejidos y soluciones tampón utilizados en el análisis electroforético de los ejemplares de salmón coho.

Enzyme systems, Enzyme Commission Number (E.C.), analyzed loci, tissue and buffer solutions used in the electrophoretic analysis of coho salmon specimens.

Sistema enzimático	E.C.	Locus	Tejido	Solución tampón ¹
Esterasa	3.1.1.	<i>EST-6*</i>	Músculo	Rw
	3.1.1.	<i>EST-7*</i>	Plasma	Rwm
Fosfoglucomutasa	5.4.2.2	<i>PGM-1*</i>	Músculo	ACE6,5 ² ; TC-4 ³
Fumarato hidratasa	4.2.1.2	<i>FH-1*</i>	Hígado	ACE7
Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa	1.1.1.8	<i>G3PDH-H*</i>	Hígado	ACE7

¹ Rw: Ridgway *et al.* (1970); Rwm: Ridgway *et al.* (1970) + EDTA; ACE 6,5: Clayton & Tretiak (1972) pH 6,5; TC-4: Selander *et al.* (1971), pH 5,8; ACE7: Clayton & Tretiak (1972), pH 7.

² Usado con reproductores

³ Usado con alevines

Resultados

El locus *PGM-1** presentó dos electromorfos de desplazamiento anódico, identificados como los alelos **-100* y **-145*, encontrándose sólo dos genotipos: *PGM-1*-100/-100* y *PGM-1*-100/-145*. En ninguna de las catorce familias analizadas se detectó desviaciones de las frecuencias genotípicas con respecto a las proporciones esperadas en las progenies sobre la base del genotipo de los padres ($p > 0,05$).

Los valores promedio de los recuentos de cada carácter merístico se muestran en la Tabla 2. No se encontraron diferencias significativas entre lados para ninguno de los caracteres analizados ($p > 0,05$), excepto para los individuos con el genotipo *PGM-1*-100/-145* en la familia 76, que presentaron diferencias entre ambos lados en el recuento de radios en las aletas pélvicas ($Z = 2,2014$, $p < 0,05$). El promedio de las diferencias entre lados para cada carácter es 0. No obstante, las diferencias entre los recuentos de ambos lados no presentaron distribución normal ($p < 0,05$).

No se encontraron diferencias significativas entre individuos con distintos genotipos para *PGM-1** para las diferencias absolutas entre lados de cada carácter, el número de caracteres asimétricos por individuo o la magnitud de la asimetría ($p > 0,05$). Por otra parte, el efecto de las familias fue significativo para las diferencias absolutas en el número de radios en las aletas pectorales ($F = 2,0609$; $p < 0,05$) (Fig. 1a), así como también para la magnitud de la asimetría

($F = 2,3475$; $p < 0,01$) (Fig. 1b) y el número de caracteres asimétricos por individuo ($F = 1,7419$; $p < 0,05$) (Fig. 1c). El efecto de interacción genotipo/familia no fue significativo en ninguno de los casos ($p > 0,05$).

No se detectaron diferencias significativas entre genotipos para la proporción de individuos asimétricos para cada carácter, así como tampoco fue significativo el efecto de las familias ($p > 0,05$). Por otra parte, los heterocigotos presentaron un índice de asimetría significativamente mayor que los homocigotos para el número de branquiaspinas en la rama inferior del primer arco branquial ($F = 5,2475$; $p < 0,05$) (Fig. 2a). El efecto de las familias fue significativo sólo para el índice de asimetría calculado para el número de radios en las aletas pélvicas ($F = 4,100$; $p < 0,01$) (Fig. 2b). En un análisis de varianza de dos factores sin repetición, no existe un término de error sobre el cual probar los efectos principales. Por lo tanto, en un modelo mixto, la significancia estadística del efecto aleatorio, en este caso las familias, no puede ser determinada de manera confiable debido a que los cuadrados medios deben ser probados sobre los cuadrados medios del efecto de interacción, para lo cual debe asumirse que no existe tal efecto. Así, la existencia de interacción puede disminuir la potencia de la prueba. No obstante, Zar (1999) ha señalado que si se detectan diferencias significativas, entonces el resultado debe ser aceptado como verdadero.

Tabla 2

Promedio y desviación estándar (DE) del número de radios en las aletas pectorales y pélvicas, y número de branquiaspinas en las ramas inferior y superior del primer arco branquial, en 699 ejemplares de salmón coho de la cepa Coyhaique, a los 5 meses de edad.

Average and standard deviations (DE) of the number of rays in pectoral and pelvic fins, and of the number of gill rakers in the upper and lower branchial arch in 699 five month old individuals of coho salmon from the Coyhaique strain.

Carácter	Izquierdo		Derecho	
	Promedio	DE	Promedio	DE
Radios en las aletas pectorales	15,25	0,78	15,25	0,52
Radios en las aletas pélvicas	9,96	0,43	9,99	0,20
Branquiaspinas en la rama inferior del primer arco branquial	11,60	0,95	11,64	0,82
Branquiaspinas en la rama superior del primer arco branquial	9,21	0,82	9,25	0,75

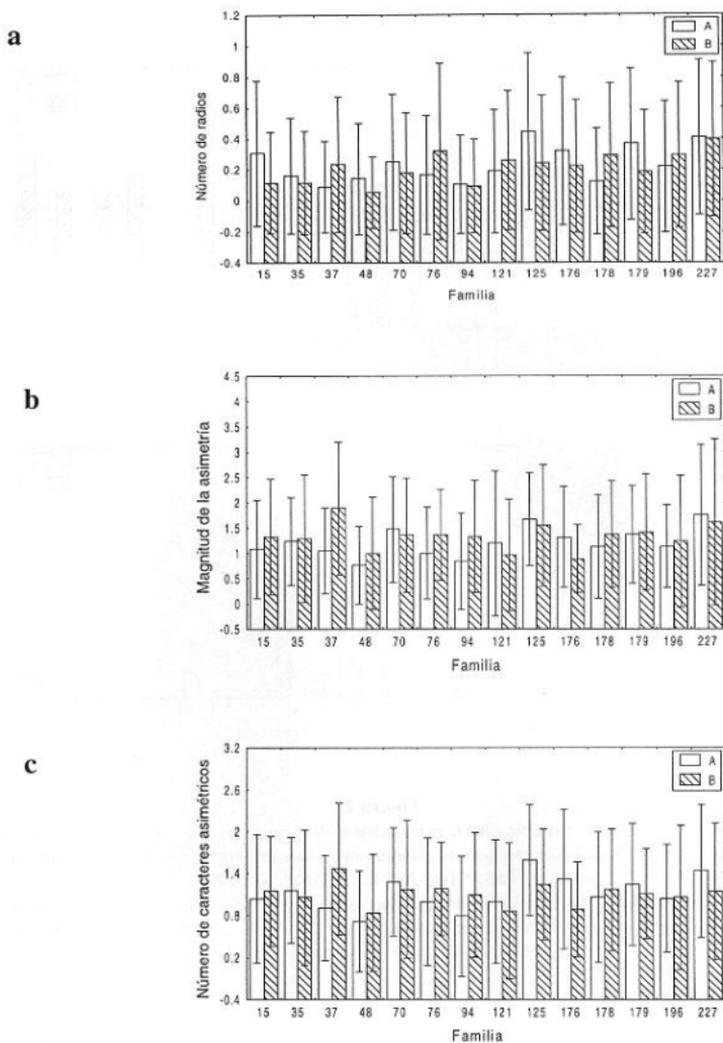
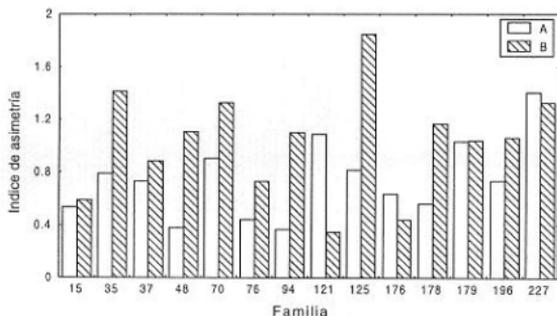
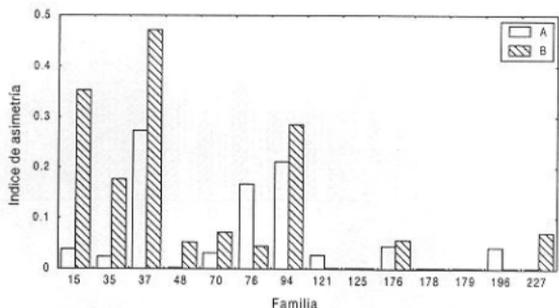


Figura 1

Promedio de las diferencias absolutas entre lados en el número de radios en las aletas pectorales (a), magnitud de la asimetría (b) y número de caracteres asimétricos por individuo (c) por genotipo en el locus *PGM-1**, en 14 familias de salmón coho (A = *PGM-1*100/100*; B = *PGM-1*100/145*).

Average of the absolute differences among sides in the number of rays in pectoral fins (a), magnitude of asymmetry (b) and number of asymmetric characters per individual (c) in animals with different genotype at the *PGM-1** locus in 14 coho salmon families (A = *PGM-1*100/100*; B = *PGM-1*100/145*).

a**b****Figura 2**

Índice de asimetría del número de branquiaspinas en la rama inferior del primer arco branquial (a) y del número de radios en las aletas pélvicas (b) en animales con distinto genotipo en el locus *PGM-1, en 14 familias de salmón coho**

(A = *PGM-1*100/100*; B = *PGM-1*100/145*).

Asymmetry index of the number of gill rakers in the lower branch of the first branchial arch (a) and of the number of rays in the pelvic fins (b) in animals with different genotype at the *PGM-1** locus in 14 coho salmon families

(A = *PGM-1*100/100*; B = *PGM-1*100/145*).

Discusión

Los caracteres merísticos analizados en el presente trabajo presentaron un promedio cero para las diferencias entre lados, coherente con el concepto de asimetría fluctuante. Sin embargo no presentaron distribución normal. En una diversidad de especies se ha observado que los recuentos promedio de caracteres merísticos bilaterales en las familias están positivamente asociados a los recuentos en los parentales (Leary *et al.* 1985b). Además, evidencias obtenidas en peces salmónidos sugieren la existencia de un componente genético tanto para la magnitud como para la dirección

de la variación merística inducida por el ambiente en estos peces (Leary *et al.* 1991). Por lo tanto, distintas poblaciones y familias pueden mostrar respuestas considerablemente variadas dentro y entre cepas, debido a diferencias genéticas. Esto podría dar cuenta de la ausencia de normalidad para la distribución de las diferencias entre lados.

Por otra parte, se encontró asociación entre el genotipo en el locus *PGM-1** y los niveles de asimetría fluctuante, excepto para el índice de asimetría correspondiente al número de branquiaspinas de la rama inferior del primer arco branquial, lo que no es más que

lo esperado por simple azar. Esto puede ser atribuido a la efectiva ausencia de asociación entre variantes genotípicas en el locus *PGM-1** y estabilidad de desarrollo o al efecto de características genéticas particulares tanto en las familias como en la cepa de salmón coho analizadas, lo que dificultaría la detección de una asociación de este tipo.

Los caracteres que exhiben asimetría fluctuante tienen bajos coeficientes de variación y alta heredabilidad. Sin embargo, la heredabilidad de la asimetría es en sí muy baja (Leary *et al.* 1985a), lo cual implica que ésta es casi enteramente causada por variación ambiental (Young *et al.* 1995) o efectos genéticos no aditivos, como dominancia o interacción genética. Por lo tanto, se predice que las ventajas asociadas a determinados genotipos se incrementarán con la heterogeneidad ambiental (Mitton & Grant 1984). En un ambiente de cultivo relativamente constante se podrían anular o disminuir significativamente los efectos de las diferencias causadas por determinados genotipos sobre la homeostasis del desarrollo. Las condiciones de cultivo en las que son mantenidos los ejemplares de salmón coho de la cepa Coyhaique durante la incubación y el alevinaje son menos fluctuantes que el ambiente natural y es posible que esta reducida variabilidad ambiental haya minimizado las diferencias en asimetría fluctuante entre individuos con distintos genotipos para *PGM-1**. Sin embargo, esta hipótesis no puede ser verificada con la información actualmente disponible.

Se ha postulado que la frecuencia y la magnitud de las asimetrías bilaterales se correlacionan negativamente con la tasa de desarrollo (Allendorf *et al.* 1983, Ferguson 1986), no sólo debido a que los ejemplares con tasas de crecimiento superiores tendrán una menor probabilidad de experimentar accidentes durante el período crítico en el que los caracteres son determinados (Danzmann *et al.* 1986), sino también porque la asimetría fluctuante está negativamente relacionada con adecuación. Los ejemplares de salmón coho con distintos genotipos para *PGM-1** mostraron diferencias significativas en el crecimiento durante la etapa de cultivo en agua dulce (Valdivia 1998), pero iguales niveles de asimetría. Esto sugiere que en esta cepa de salmón coho ambos caracteres, crecimiento y estabilidad del desarrollo, no estarían asociadas.

En algunos estudios realizados en salmónidos se han encontrado evidencias que indican que la asimetría fluctuante no se debe a la heterocigosis en sí. Híbridos producidos por cruce de especies de salmónidos son de tres a diez veces más heterocigotos en loci enzimáticos que los individuos de las especies parentales, pero presentan una reducida estabilidad del desarrollo (Leary *et al.* 1985b). Por otra parte, estudios

realizados en *O. mykiss* indican que los híbridos producidos por cruce de cepas presentan una mayor estabilidad del desarrollo, pero ésta no se correlaciona con una mayor heterocigosis enzimática (Ferguson 1986). La homeostasis del desarrollo se alcanza por medio de lo que Waddington (1942) definió como canalización del desarrollo, la cual determina la constancia fenotípica de ciertas características. Wilkins *et al.* (1995) han postulado que la canalización se incrementa con el efecto de complejos de genes coadaptados, combinaciones de genes ligados que interactúan entre sí y con el resto del genoma (Dobzhansky 1950), de modo de producir un fenotipo favorable. Esto implica la existencia de un balance génico que puede tener un papel importante en la determinación de los niveles de asimetría. De este modo, la mayor asimetría fluctuante en algunos individuos podría explicarse como efecto de la pérdida del balance génico, debido al rompimiento de complejos de genes coadaptados por hibridación o flujo genético (Wilkins *et al.* 1995), así como también por endogamia o selección. Interacciones alélicas y relaciones de dominancia, o efectos epistáticos y estructurales, probablemente también tienen un papel importante en la determinación de los niveles de asimetría fluctuante (Wilkins *et al.* 1995).

Resultados negativos al intentar relacionar la heterocigosis en loci que controlan la expresión de enzimas con la magnitud de la variabilidad fenotípica se han descrito en poblaciones silvestres del salmón rosado (*Oncorhynchus gorbuscha*) (Beacham & Withler 1985) y salmón chum (*Oncorhynchus keta*) (Beacham & Withler 1984). En cambio, evidencias provenientes del análisis de familias en salmón rosado, han evidenciado asociaciones positivas entre la heterocigosis individual en loci enzimáticos y la homeostasis de desarrollo (Kartavtsev 1992). Al analizar dentro de familias la relación entre la variación en un locus y la estabilidad de desarrollo, se maximiza la probabilidad de detectar los efectos del locus, ya que se reduce el error de las estimaciones causados por efecto del genotipo residual. Por lo tanto, la ausencia de asociación entre diferentes genotipos de *PGM-1**, en el presente trabajo, sugiere que esta relación no existe realmente. Es probable que la heterocigosis en un locus particular o en múltiples loci esté asociada con diferencias en asimetría fluctuante en algunas cepas o especies de salmónidos, pero ciertamente no puede considerarse como una regla general.

Agradecimientos

Los autores agradecen la valiosa cooperación del Sr. Alejandro Alert y del Dr. Roberto Neira en la obtención de las muestras; al Centro Piscícola de Coyhaique del Instituto de Fomento Pesquero por las facilidades para

desarrollar los experimentos. Trabajo parcialmente financiado por FONDAP OBM-Peces y Laboratorio de Genética de la UCN.

Literatura citada

Aebersold PB, GA Winans, DJ Teel, GB Milner & FM Utter. 1987. Manual for starch gel electrophoresis: a method for the detection of gene variation. NOAA, Technical Report NMFS 61:1-19.

Allendorf FW, KL Knudsen & RF Leary. 1983. Adaptive significance of differences in the tissue-specific expression of a phosphoglucosyltransferase gene in rainbow trout. Proceedings of the National Academy of Science U.S.A. 80: 1397-1400.

Beacham TD & RE Withler. 1984. Heterozygosity and morphological variability of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in southern British Columbia. Heredity 54: 313-322.

Beacham TD & RE Withler. 1985. Heterozygosity and morphological variability of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) from southern British Columbia and Puget Sound. Canadian Journal of Genetics and Cytology 27: 571-579.

Blanco G & JA Sánchez. 1986. Enzymatic heterozygosity and morphological variance in synthetic populations of *Drosophila melanogaster*. Genetics Selection Evolution 18: 417-426.

Blanco G, JA Sánchez, E Vázquez, E García & J Rubio. 1990. Superior developmental stability of heterozygotes at enzyme loci in *Salmo salar* L. Aquaculture 84: 199-209.

Clayton J & DN Tretiak. 1972. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 29: 1169-1172.

Danzmann RG, M Ferguson & F Allendorf. 1986. Heterozygosity and developmental rate in a strain of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Evolution 40: 86-93.

Dobzhansky T. 1950. Genetics of natural populations. XIX. Origin of heterosis through natural selection in populations of *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 35: 288-302.

Falconer DS. 1981. Introduction to quantitative genetics. 2nd Edition, 339 p. Longman House, Essex, UK.

Ferguson MM. 1986. Developmental stability of rainbow trout hybrids: genomic coadaptation or heterozygosity? Evolution 40: 323-330.

Kartavtsev YP. 1992. Allozyme heterozygosity and morphological homeostasis in pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum): evidences from family analysis. Journal of Fish Biology 40: 17-24.

Leary RF, FW Allendorf & KL Knudsen. 1983. Developmental stability and enzyme heterozygosity in rainbow trout. Nature 301: 71-72.

Leary RF, FW Allendorf & KL Knudsen. 1984a. Superior developmental stability of heterozygotes at enzyme loci in salmonid fishes. The American Naturalist 124: 540-551.

Leary RF, FW Allendorf & KL Knudsen. 1984b. Major morphological effects of a regulatory gene: Pgm-1-t in rainbow trout. Molecular Biology and Evolution 1: 83-194.

Leary RF, FW Allendorf, KL Knudsen & GH Thorgaard. 1985a. Heterozygosity and developmental stability in gynogenetic diploid and triploid rainbow trout. Heredity 54: 219-225.

Leary RF, FW Allendorf, KL Knudsen and GH Thorgaard. 1985b. Inheritance of meristic variation and the evolution of developmental stability in rainbow trout. Evolution 39: 308-314.

Leary RF & FW Allendorf. 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. Tree 4: 214-217.

Leary RF, FW Allendorf & KL Knudsen. 1991. Effects of rearing density on meristic and developmental stability of rainbow trout. Copeia 1: 44-49.

Leary RF, FW Allendorf & KL Knudsen. 1992. Genetic, environmental, and developmental causes of meristic variation in rainbow trout. Acta Zoologica Fennica 191: 79-95.

Lerner IM. 1954. Genetic homeostasis, 134 p. Oliver and Boyd, Londres, U.K.

Mitton JB & MC Grant. 1984. Associations among protein heterozygosity, growth rate, and developmental homeostasis. Annual Review of Ecology and Systematic 15: 479-499.

Mitton JB & RK Koehn. 1985. Shell shape variation in the blue mussel *Mytilus edulis* L., and its association with enzyme heterozygosity. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 90: 73-80.

Palmer AR & C Strobeck. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. Annual Review of Ecology and Systematic 17: 391-421.

Pérez L. 1997. Estimación de la variabilidad genética en tres cepas de cultivo de salmón coho, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792). Tesis Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile, 66 p.

Ridgway GJ, S Sherburne & RD Lewis. 1970. Polymorphism in the esterases of Atlantic herring. Transactions of the American Fisheries Society 99: 147-151.

Selander RK, MH Smith, SY Yang, WE Johnsons & JB Gentry. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old field mouse (*Peromyscus polinotus*) Studies on Genetics VI., University of Texas Publications 7103: 49-90.

Shaklee JB, FW Allendorf, DC Morizot & GS Whitt. 1990. Genome nomenclature for protein-coding loci in fish. Transactions of the American Fisheries Society 119: 2-15.

Sokal RR & FJ Rohlf. 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 3^a Edición, 887 p. W.H. Freeman and Company, Nueva York.

Soulé M. 1967. Phenetics of natural populations. II. Asymmetry and evolution in a lizard. The American Naturalist 101: 140-167.

Soulé M. 1979. Heterozygosity and developmental stability: another look. Evolution 33: 396-401.

Soulé ME. 1982. Allomeric variation. I. The theory and some consequences. The American Naturalist 120: 751-764.

- Soulé ME & J Cuzin-Roudy. 1982. Developmental instability of extreme phenotypes. *The American Naturalist* 120: 765-786.
- Valdivia MV. 1998. Relación entre las variaciones aloenzimáticas y el crecimiento durante la etapa de agua dulce en salmón coho, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792). Memoria Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile, 76 p.
- Van Valen L. 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16: 125-142.
- Waddington CH. 1942. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature* 150: 563-565.
- Wilkins NP, E Gosling, A Curatolo, A Linnane, C Jordan & HP Courtney. 1995. Fluctuating asymmetry in Atlantic salmon, European trout and their hybrids, including triploids. *Aquaculture* 137: 77-85.
- Winkler FM, D Bartley & NF Díaz. 1999. Genetic differences among year classes in a hatchery population of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792)) in Chile. *Aquaculture* 173: 425-433.
- Young WP, PA Wheeler & GH Thorgaard. 1995. Asymmetry and variability of meristic characters and spotting in isogenic lines of rainbow trout. *Aquaculture* 137: 67-76.
- Zar JH. 1999. *Biostatistical Analysis*. 4ª Edición, 663 p. Prentice-Hall, Nueva Jersey, U.S.A.