GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

FOLIO DE BASES

CÓDIGO (uso interno)

BIOT- 01- AC- 68

1. ANTECEDENTES GENERALES DEL PROYECTO

NOMBRE DEL PROYECTO:

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA POBLACIONAL PARA EL MANEJO Y LA CONSERVACIÓN DE RECURSOS MARINOS DE IMPORTANCIA PARA LA ACUICULTURA Y LA PESQUERÍA

Línea Temática: Area Acuícola **Rubro:** Genética

Región(es) de Ejecución: Décima Región

Fecha de Inicio: 25-12-01

Fecha de Término: Enero 2005

DURACIÓN: 37 meses

AGENTE POSTULANTE:

Nombre :DIVISION DE FOMENTO DE LA ACUICULTURA
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
Dirección :BALMACEDA 252 Ciudad y Región:Puerto Montt-X REGION
RUT
Teléfono :56-65-250085Fax y e-mail:65-262961 a_vergara@telsur.cl
Cuenta Bancaria (tipo, Nº, banco):

AGENTES ASOCIADOS: Universidad Austral de Chile

REPRESENTANTE LEGAL DEL AGENTE POSTULANTE:

Nombre:GUILLERMO MORENO PAREDES
Cargo en el agente postulante:DIRECTOR EJECUTIVO
RUT: Firma:
Dirección:Bellavista 168, piso 15 Ciudad y Región: Valparaíso – V Región
Fono: 32-229101 Fax: 32-221542 e-mail:direccion@ifop.cl

COSTO TOTAL DEL PROYECTO (Valores Reajustados) : $

FINANCIAMIENTO SOLICITADO (Valores Reajustados) : $ 65 %

APORTE DE CONTRAPARTE (Valores Reajustados) : $ 35 %

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO – CENTRO DE MARICULTURA HUELMO – ifop

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA – UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS – MINISTERIO DE AGRICULTURA

10

2. EQUIPO DE COORDINACIÓN Y EQUIPO TÉCNICO DEL PROYECTO

2.1. Equipo de coordinación del proyecto
(presentar en Anexo A información solicitada sobre los Coordinadores)

COORDINADOR DEL PROYECTO

NOMBRE	RUT	FIRMA
ANA MARIA VERGARA MELLADO		

AGENTE	DEDICACIÓN PROYECTO (%/año)
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO	40%
CARGO ACTUAL INVESTIGADOR	CASILLA
DIRECCIÓN BALMACEDA 252	CIUDAD PUERTO MONTT

FONO	FAX	E-MAIL
65-250085	65-262951	a_vergara@telsur.cl

COORDINADOR ALTERNO DEL PROYECTO

NOMBRE	RUT	FIRMA
~~HECTOR EDUARDO BUSTOS ROJAS~~ JORGE TORO (nuevo Coordinador)		

AGENTE	DEDICACIÓN PROYECTO %/AÑO
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO	30%
CARGO ACTUAL DIRECTOR ZONAL X y XI REGIONES INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO	CASILLA
DIRECCIÓN BALMACEDA 252	CIUDAD PUERTO MONTT

FONO	FAX	EMAIL
~~65-250085~~	~~65-262951~~	ebustos@ifop.cl

2.2 . Equipo Técnico del Proyecto
(presentar en Anexo A información solicitada sobre los miembros del equipo técnico)

Nombre Completo y Firma	RUT	Profesión	Especialidad	Función y Actividad en el Proyecto	Dedicación al Proyecto (%/año)
Ana Maria Vergara Mellado		Biólogo Marino	Genética de Poblaciones	Coordinador General	40%
Eduardo Bustos Rojas		Biólogo Marino	Acuicultura de Moluscos	Coordinador Alterno	30%
Jorge Eduardo Toro Yagui		Médico Veterinario	Genética de Organismos Marinos	Profesional	30%
Técnico NN (a contratar)			Técnicas de Laboratorio	Técnicas Electroforesis Enzimática	100%
Técnico NN (a contratar)			Técnicas de Laboratorio	Técnicas ADN Utilizando RAPDs	100%
Gonzalo Gajardo Galvez		Licenciado en Ciencias	Genética de poblaciones	Consultor Externo	15%
Sergio Elgueta Catalán		Contador General	Administración y Finanzas	Administración	10%
Mónica Aguila		Contador General	Contabilidad	Contabilidad	10%

3. BREVE RESUMEN DEL PROYECTO

En general, la conservación de los recursos naturales se ha enfocado principalmente a los medioambientes terrestres y selvas tropicales, donde el deterioro de los ecosistemas ha sido más evidente e intenso. Esto indica la tendencia del hombre de preocuparse de la conservación de las especies así como de la conservación genética, sólo cuando el deterioro es grande o irreversible. La conservación de los recursos acuáticos también requiere de esta atención ya que muchas especies de agua dulce y algunas marinas han llegado a extinguirse. También ha habido disminuciones significativas en la abundancia de los stocks explotados y cambios en su composición genética por efecto de la pesquería selectiva.

Debido a esto, creciente ha sido el interés en el ámbito mundial, regional y nacional por incorporar en las políticas de explotación de los recursos, los conceptos de manejo y uso sustentable de ellos para la mantención de la biodiversidad y su conservación. La mantención de la biodiversidad ha sido siempre enfocada a un nivel macro (ecosistemas) dejando de lado análisis a otros niveles, como lo es al nivel de genes. La biodiversidad genética, que en una definición amplia sería sinónimo de recurso genético, es importante debido a que proporciona la base de la diversidad de toda la vida del planeta. Además provee la materia prima para el mejoramiento genético de las especies y es la base para el fitness en las poblaciones naturales.

Una parte importante de nuestra economía se basa en la explotación de los recursos marinos y en la acuicultura. Sin embargo, el conocimiento de dichos recursos a nivel genético es muy reducido. Si se quiere seguir haciendo uso de dichos recursos así como también llevar a cabo una acuicultura responsable es de urgente necesidad conocer el estatus genético de las poblaciones naturales, al menos de aquellas que están siendo explotadas comercialmente. La principal causa del atraso en la implementación de medidas apropiadas de conservación a nivel genético parece ser la ignorancia o indiferencia hacia las implicancias de los estudios básicos de genética poblacional (estructura genética, identificación de poblaciones y stocks) los cuales son los únicos indicadores reales del impacto de las actividades de la pesquería, la acuicultura y la repoblación sobre las poblaciones naturales a manejar y conservar.

Con el propósito de establecer la estructura genético poblacional de dos importantes recursos bentónicos de nuestros país, *Loxechinus alb*us, y *Concholepas concholepas,* determinando posibles diferenciaciones genéticas entre poblaciones a macro y microescala, se recolectarán muestras a lo largo de su distribución natural en el litoral chileno. Las muestras serán analizadas a nivel genético poblacional usando las técnicas de electroforesis enzimática y ADN utilizando marcadores RAPDs. Además, se analizarán muestras provenientes de hatchery (reproductores y juveniles) con el propósito de evaluar el tipo de impacto sobre la composición genética de las poblaciones naturales causadas por las actividades de traslado de semillas para efectos de cultivo y repoblamiento.

Estos estudios de genética poblacional involucran la detección cuantitativa de la variación genética en las poblaciones naturales, permitiendo explicar esta variación en términos de su origen y mantenimiento y su importancia evolutiva. En otras palabras, los conocimientos genético-poblacionales son fundamentales para entender cabalmente la dinámica biológica de sus individuos y por ende son directamente aplicables a su manejo y conservación. Los resultados aquí generados deberán impactar directamente en las políticas de uso sustentable de estos recursos.

4. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA A RESOLVER

En general, la conservación de los recursos naturales se ha enfocado principalmente a los medioambientes terrestres y selvas tropicales, donde el deterioro de los ecosistemas ha sido mas evidente e intenso (Ryman, 1991). Esto indica la tendencia del hombre de preocuparse de la conservación de las especies así como de la conservación genética, sólo cuando el deterioro es grande o irreversible (Neira et al., 1998). En este sentido la conservación de los recursos acuáticos ha estado particularmente dirigida hacia las especies de agua dulce, donde los problemas de degradación del medio ambiente, introducción de especies y sobreexplotación son mas críticos y urgentes (Smith, 1996). La extinción de especies de estos habitats debido al impacto humano ha sido común durante este siglo (Moyle y Leidy, 1992; Harvey, 1998), mientras que la extinción de especies marinas ha sido mas bien rara debido a la alta abundancia y amplio rango de distribución de muchas de ellas. Sin embargo, en años recientes, varias especies de moluscos marinos han llegado a extinguirse (Cultota, 1994). Por otro lado, stocks de peces que presentaban grandes abundancias han colapsado (Beverton, 1990; Myers et al., 1996; Cook et al., 1997) o la composición genética de algunas poblaciones sobreexplotadas ha sido cambiada por efecto de la pesquería selectiva (Strokes et al., 1993; Smith 1994).

En las ultimas décadas, organizaciones como Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO) ha puesto mucho énfasis en el desarrollo de políticas para el manejo de los recursos genéticos acuáticos. Durante la década del 90 esta institución ha promovido un significativo desarrollo en la conservación y uso sustentable de la diversidad biológica del planeta, incluyendo el establecimiento de la Convención de Diversidad Biológica (CBD), la aceptación del Código de Conducta FAO para la Pesquería Responsable y el acuerdo de incluir los recursos genéticos acuáticos en la Comisión FAO de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura. De este modo, la comunidad internacional y los gobiernos de varias naciones han entendido que el uso sustentable y la conservación de los recursos genéticos acuáticos son vitales para proporcionar seguridad alimenticia y nutricional.

La biodiversidad genética, que en una definición amplia sería sinónimo de recurso genético, es importante debido a que proporciona la base de la diversidad de toda la vida del planeta. Además provee la materia prima para el mejoramiento genético de las especies y es la base para el fitness en las poblaciones naturales. La conservación de la biodiversidad, en general, ha sido enfrentada a un nivel macro (ecosistemas), contándose con poca información de la diversidad o variación genética a nivel intra específico, por ejemplo. ¿Por qué es importante la diversidad genética? Si la diversidad llega a ser baja en muchos genes en una especie, esa especie esta en riesgo, ya que tiene solo una posibilidad de información para todos o casi todos sus genes, en otras palabras, son casi idénticos. Si una nueva presión ocurre, tal como un desastre medioambiental, una población con alta diversidad genética tiene mayores posibilidades de tener al menos algunos individuos con una información genética que les permita sobrevivir. Si la diversidad genética es muy baja, puede que ningún individuo de la población posea las características necesarias para hacer frente a la nueva condición medioambiental llevando a esa población a desaparecer en poco tiempo. La diversidad o variación genética de una especie esta abierta al cambio. No importa cuantos alelos de un gen están presenten en una población hoy, solo los alelos que sobrevivan en la próxima generación contribuirán a la diversidad genética de la especie en el futuro. Una vez que las variantes de un gen son perdidas no pueden ser recuperadas.

La mantención de la variación genética puede verse amenazada por las actividades económicas asociadas a los recursos. En algunos casos el conflicto entre conservación e

intereses comerciales ha servido para retardar acciones efectivas (Ryman, 1991). La mayoría de las actuales discusiones sobre manipulación genética se focaliza sobre organismos genéticamente modificados (OGM) y la potencial amenaza ecológica y genética que tales organismos constituyen en las poblaciones naturales (Tiedje et al., 1989; Gustafsson y Jansson, 1993; Abbott, 1994; Molin y Kjelleberg, 1993). Otras formas de manipulación genética de animales y plantas silvestres son llevadas a cabo masivamente en la mayoría de los países con una nula preocupación de su efecto potencial. Acuicultura (introducción de especies exóticas (enfermedades), hibridación, perdida de diversidad genética a través de breeding), pesquería (extinción de especies debido a sobreexplotación, cambios en la frecuencia génica debido pesquería selectiva) y repoblamiento (transferencia de individuos de una localidad a otra) representan tales actividades que pueden amenazar seriamente la diversidad biológica al nivel de gen. Aunque algunas de las amenazas discutidas pueden ser generalmente reconocidas, ellas son insuficientemente consideradas en el manejo de las poblaciones naturales. No es nuestra intención argumentar en contra de la acuicultura o la explotación y repoblación de las poblaciones naturales, es mas nosotros creemos que es de vital importancia llevar a cabo estas actividades, pero en una vía que no necesariamente reduzca la diversidad a nivel de genes. Es decir, la meta debe ser realizar una acuicultura, pesquería y repoblamiento "responsables". Para llevar a cabo estas actividades con responsabilidad es que se debe desarrollar investigación y generar conocimientos básicos de la estructura genética poblacional, que son los que pretende entregar la presente investigación. Los recursos marinos explotados comercialmente deben ser investigados para efectuar capturas racionales y no exterminar la fuente de ingresos considerado que los organismos son el resultado de sus genes, del medio ambiente y de la interacción entre ellos. Así se podría dispones de un cuerpo de información que a futuro nos permita aplicar normativas de manejo y control en forma eficiente a fin de lograr una explotación sustentable en el tiempo. Un ejemplo destacable es Japón, donde las altas extracciones de productos del mar han hecho abocar esfuerzos para una producción sustentable dirigiendo los esfuerzos hacia la recuperación de stocks en zonas costeras a través de semillas producidas en hatcheries de peces y moluscos, la preservación y acomodo de zonas de nursery y la promoción de las operaciones de acuicultura. Todas las actividades antes mencionadas son desarrolladas dando énfasis en la mantención de la diversidad biológica a través de la conservación genética de stocks cultivados y silvestres (Wada, 1999)

En Chile, así como en Latinoamérica, la conservación y el manejo de la variabilidad genética de los recursos acuáticos son conceptos nuevos y solo manejados por científicos. En el ámbito administrativo, no hay claridad aún en el concepto de diversidad genética. Esto es claramente reflejado en leyes concernientes con la conservación de recursos naturales, donde el manejo de la variabilidad genética no es aun una preocupación así como tampoco se cuenta con su definición y consecuentemente referencias específicas a éste y medidas para su manejo no existen. Mas aun, estrategias para la conservación de recursos naturales han sido desarrolladas sólo en los más severos casos de sobreexplotación y estas estrategias consideran conservación al nivel de especies y no de la variabilidad genética intra específica.

Un buen ejemplo de este último caso lo constituye el recurso *Concholepas concholepas*, comúnmente conocido como "loco". Este molusco de la familia Muricidae, se distribuye desde Lobos Afuera, Perú (16°57`S) y a lo largo de toda la costa chilena hasta Cabo de Hornos (55°40`S) incluyendo la Isla Juan Fernández (33°40`S; 74°40`S) y es encontrado en aguas hasta 40 m de profundidad. Las estadísticas oficiales de explotación las cuales datan de 1938, indican que los desembarques ya eran el doble en 1955, alcanzando 5.000 t. Desde 1972, hubo un acelerado incremento en la pesquería, la cual alcanzó 25.000 t en 1980, año en el cual el loco comenzó a ser exportado. El 30% de incremento alcanzado en

1981 provocó una sucesión de vedas, las cuales no cubrieron todo el territorio, sino que fueron restringidas a ciertas regiones y la talla mínima comercial fue fijada en 12 cm. En 1982, un sistema de cuotas de desembarco fue impuesto, reduciendo el tamaño comercial a 10 cm. Junto con el hecho de que muchas de las cuotas de desembarco no fueron respetadas, una continua presión extractiva continuó a lo largo de todo el litoral, desde la segunda región al sur. La explotación se concentró sobre animales alrededor de la talla mínima de extracción y en gran cantidad. Esto resultó en un decremento generalizado en el tamaño y número de los individuos capturados en áreas explotadas desde 1986. Una completa evaluación de stocks usando el análisis de reducción de stock (Rivas 1989, basados en Kimura y Tagart, 1982; Kimura et al., 1984) mostró una alarmante reducción de los reproductores en las áreas explotadas, con un alto riesgo de extinción, lo cual derivó en una veda indefinida desde 1989. Esta medida trajo consigo severos problemas económicos para los pescadores artesanales así como para la industria, resultando en el incremento de extracciones y ventas ilegales de este molusco. Con posterioridad, en 1993, se implementó un sistema de cuotas de extracción no transferibles asignadas a cada buzo que contara con su debida acreditación. Castilla (1988, 1994) enfrentó la recuperación de este recurso en una interesante vía. El propuso la categoría de Áreas de Manejo de Recursos Bentónicos como un modelo de manejo, la cual fue incluida como tal en la Ley de Pesca y Acuicultura. Después de unos pocos años de protección sin actividades extractivas, algunas localidades y reservas costeras, tales como Las Cruces y Quintay, comenzaron a poblarse densamente con *Concholepas*. En estos estudios, posibles cambios en la variabilidad genética no fueron monitoreados. Sin embargo, el loco constituye uno de los pocos recursos en Chile que cuenta con alguna información de su variación génica y diferenciación genética interpoblacional orientada al manejo. Esta información fue el resultado del Proyecto Sectorial "loco", un esfuerzo conjunto de investigadores de todo el país que abarcaron diferentes aspectos biológicos de la especie con el fin de estudiar la factibilidad de cultivo así como de disponer de información necesaria para que los organismos estatales correspondientes puedan legislar sobre normas de extracción con una base biológica sólida. En este contexto, se obtuvo información de 6 localidades del centro-norte (Guiñez *et al.*, 1992) y 6 localidades del centro sur del país (Gallardo y Carrasco, 1996). En general se encontró bajos porcentajes de loci polimorficos, de número de alelos por locus y de heterocigosidad promedio (indicador de variabilidad genética). Esto puede deberse a la intensa actividad pesquera que podría alterar la estructura y la variabilidad genética a través de la remoción selectiva de individuos de genotipos heterocigotos que presentan una mayor tasa de crecimiento (Guiñez et al., 1986; Smith et al., 1991). Por otro lado, en las localidades del centro sur se encontró reducidos niveles de subdivisión poblacional sugiriendo que la fase larval planctónica de 2-3 meses, lo cual provoca el asentamiento a gran distancia de la población parental, resulta en un alto nivel de flujo de genes que previenen la diferenciación por deriva dentro o entre regiones, evidenciando de este modo la existencia de una sola gran unidad panmixtica en el área estudiada. Lo anterior es sumamente favorable para el manejo del recurso, en el sentido de que solo con algunas pocas reservas genéticas a lo largo de su distribución sería factible conservarlo.

Se concluye también que la dispersión larval es lo bastante amplia para reponer la variación genética perdida por sobreexplotación de los stocks locales, pero probablemente no lo suficientemente grande para compensar las consecuencias demográficas de las continuas e intensivas extracciones (Gallardo y Carrasco *op cit*). Estos resultados contrastan con lo observado en la zona centro-norte, donde se sugiere la existencia de al menos tres agregados poblacionales que deben ser considerados como unidades independientes para su manejo. Los autores asumen barreras hidrobiológicas que limitan el flujo génico como causa de estas diferenciaciones. Cabe destacar que este último estudio consideró zonas del extremo norte (incluido Perú), lo cual no fue hecho en el estudio del centro-sur, donde localidades del extremo sur no fueron muestreadas. Por otro lado, una mínima coincidencia entre las alozimas

ensayadas por Guiñez *et al.* y Gallardo y Carrasco impiden detalladas comparaciones y sustanciales conclusiones. De este modo, un análisis geográfico más amplio y extremo daría un cuadro mas detallado de los patrones ya descritos, así como también un análisis genético-poblacional basado en las mismas alozimas para el total de las muestras haría comparable los resultados para todo el litoral. Además, el análisis de la estructura genética a través de la técnica de ADN utilizando Rapds daría cuenta de variaciones genética no detectables a través de la técnica de electroforesis enzimática.

Dado que el loco constituye el molusco de mayor importancia desde el punto de vista económico en Chile, todos los esfuerzos que se dediquen a su conservación son de gran valor y necesarios. Es así como esfuerzos en otro ámbito están siendo llevados a cabo por el IFOP en Hueihue, Isla de Chiloé. Estos son tendientes a aportar a la conservación de este recurso a través de proyectos de investigación concentrados en el manejo de poblaciones cautivas para cultivo y a la producción de semillas bajo condiciones controladas de laboratorio.

Otro recurso de interés de analizar en el contexto de la conservación de la variación genética es el erizo comestible. El erizo rojo (*Loxechinus albus* (Molina 1872)) es uno de los recursos bentónicos más importantes para la pesquería artesanal chilena (Stotz et al., 1992). Los desembarques de esta especie en los años 1986-88 fueron del orden de las 25 mil toneladas anuales manteniéndose posteriormente alrededor de las 20 mil toneladas anuales con un incremento el año 1998 por sobre las 44 mil toneladas anuales (Sernapesca, 1998). El aumento de la presión extractiva, conlleva a una reducción de la densidad natural, y es por ello que se han establecido medidas legislativas como la prohibición de captura durante la época reproductiva y un tamaño mínimo de extracción. Sin embargo, estas medidas no han sido suficientes (Reyes, 1986, Stotz, 1992) para la recuperación natural de recurso. La implementación de otra medida para la recuperación de las poblaciones naturales de éste recurso que involucra el repoblamiento con juveniles producidos en hatchery ha sido una propuesta que se ha implementado a nivel experimental (Bustos, 1991).

En este momento existe un desconocimiento total de la estructura genética poblacional del erizo rojo. Por este motivo, es tremendamente peligroso iniciar repoblamiento con juveniles producidos en ambiente controlado, sin un adecuado monitoreo genético, especialmente si se desconoce el tamaño poblacional efectivo. Por otro lado, el establecimiento de medidas de manejo del recurso sin un conocimiento mínimo de la estructura genética poblacional de esta especie podría provocar efectos sobre la variabilidad genética del recurso que conllevaría a problemas irreversibles al momento de instaurar medidas de conservación para esta especie de importancia comercial (Beaumont, 1994, 2000; Barchard, 1997).

El flujo génico entre poblaciones ó stocks (conjunto de individuos de una misma especie, que poseen apareamiento al azar e integridad temporal y/o espacial (Altukhov, 1981)), juega un rol preponderante en la estructura genética de las poblaciones dentro de una especie. Aquellas especies con larvas de vida planctónica prolongada, como es el erizo, tenderían en forma teórica a homogenizar genéticamente las poblaciones (Edmands, 1996), y aunque existe mucha evidencia empírica que sustenta esta predicción, existen en la literatura científica casos en los cuales esta predicción no se cumple (Palumbi, 1994). Muchas especies marinas pueden no llegar a utilizar su potencial de distribución debido a mecanismos de comportamiento que favorecen un reclutamiento local o debido a que la dispersión larval se ve afectada por efectos de depredadores. Por otro lado la dispersión larval efectiva también puede verse afectada por factores físicos como corrientes a gran escala, edies de pequeña escala y/o surgencias (Incze, 1990). Mayores diferenciaciones genéticas entre poblaciones a pesar de una gran dispersión larval se pueden deber a mortalidad diferencial post-asentamiento (Koehn, et al. 1980) y a variaciones temporales en la composición genética de larvas y/o juveniles reclutas (Watts, et al, 1990).

Loxechinus albus, representa una especie con factores que promueven la homogeneidad genética debido a su fertilización externa, alta fecundidad, un estadío de larva planctónica prolongada y una distribución latitudinal relativamente continua (Figura 1). Sin embargo, no se han realizado estudios para determinar la estructura genético-poblacional en esta especie de alto valor comercial, lo cual es primordial antes de iniciar cualquier tipo de manejo eficiente de repoblamiento para cultivo y/o conservación (Beaumont, 1994, 2000, Gallardo 1998). El conocimiento de la estructura genético poblacional de cualquier especie que sea explotada por su alto valor comercial nos entrega como herramienta la línea base, que nos permite comparar los efectos de la sobreexplotación, manejo y repoblamiento. Los efectos del repoblamiento deben ser medidos a través de estudios con marcadores genéticos que nos entregan información sobre la variabilidad genética, heterocigosidad, flujo génico etc. Cuando se hace un repoblamiento, se introducen juveniles en áreas de bancos naturales sobreexplotados o con fines de manejo. Estos individuos introducidos se entrecruzarán con los del banco natural, con el consiguiente cambio de la estructura genético-poblacional de esa población natural. Las consecuencias genéticas de este entrecruzamiento dependerán del grado en que la población introducida difiera de la población nativa.

Si la especie se caracteriza por poseer stocks o poblaciones adaptadas localmente, el resultado inmediato de la introgresión sera la ruptura de complejos génicos coadaptados con una consecuente reducción en la aptitud reproductiva en los descendientes (Gaffney, 1992). Solo cuando el número de individuos introducidos es relativamente grande en comparación con la población nativa, los efectos de esta entrecruza pueden ser fenotipicamente observables. Seguido al repoblamiento, la selección natural va actuar sobre el promedio de la aptitud poblacional y conformará nuevos complejos de genes coadaptados. Cuando las poblaciones endémicas, normalmente sobrexplotadas, tienen un número reducido de individuos y están localmente adaptadas, la repoblación sin un adecuado control genético puede destruir el único fenotipo de la población local aún cuando la aptitud reproductiva de la población no se vea comprometida. Este efecto de homogenización en repoblamientos sin el adecuado monitoreo genético se denomina popularmente "polución genética" y tiene como resultado la pérdida de diversidad interpoblacional y de fenotipos locales únicos.

Actualmente en Chile la tecnología para producir juveniles de *Loxechinus albus* en ambiente controlado esta muy avanzada. En éstas poblaciones o stocks de reducido tamaño utilizados en hatcheries para la producción de juveniles, las frecuencias alélicas están sujetas a grandes fluctuaciones entre generaciones y esto resulta inevitablemente en pérdida de alelos (Beaumont, 2000). En poblaciones con cruzamiento al azar, Nei describe la "varianza del tamaño poblacional efectivo", sin embargo, otro factor adicional puede inferir en cambios en la frecuencia alélica entre generaciones en los hatcheries y este es la denominada "endogamia del tamaño poblacional efectivo" (Ryman et al., 1995). En poblaciones pequeñas, especialmente en hatcheries, existe una mayor probabilidad de que los cruzamientos ocurran entre individuos emparentados y de esta forma la consanguinidad sea mayor que en poblaciones de mayor tamaño. Así, cuando solo un reducido número de individuos contribuye genéticamente a la nueva generación las frecuencias alélicas pueden cambiar drásticamente y los alelos mas escasos se espera que desaparezcan. Este es el denominado efecto "cuello de botella" o efecto "fundador".
Además, en los hatcheries se debe también considerar otro problema, que es el de asegurarse un número similar de machos y hembras participando con gametos para producir juveniles. De no ser así el tamaño poblacional efectivo puede verse severamente afectado (Falconer, 1981).

Existe abundante evidencia en estudios con invertebrados marinos en donde se demuestra que el número de alelos por locus (la diversidad alélica), se ve significativamente reducida en poblaciones de hatchery comparada con la población natural de la cual provinieron

los reproductores. Sería largo enumerar los ejemplos pero ello ha sido descrito y con evidencia muy clara en la literatura científica (Beaumont 2000), utilizando electroforesis enzimática, ADN nuclear (RAPDs, RFLPs) y ADN mitocondrial en distintas especies de invertebrados marinos.

Para planificar un eficiente manejo de cualquier especie en cultivo, el modelo requiere información sobre el tipo y grado de varianza genética, estructura genético-poblacional y el grado de distancia y/o identidad genética entre las poblaciones a manejar (Beaumont et al., 1989; Beaumont, 1991, 2000, Gallardo et al., 1998). Ello es primordial para la conservación y manejo en cautiverio de las especies involucradas (Gaffney, 1990). Dado a que la variación bioquímica es un reflejo del pasado genético de una población, es muy importante conocerla para establecer normas de manejo en los cultivos y/o repoblamiento de estas especies marinas. La mayoría de los organismos acuáticos no existen como una población homogénea o continua, sino que consisten de una colección de poblaciones que pueden ser reconocidas por diferentes caracteres tales como zonas de desove, habitat, etc. (Gallardo et al, 1998). Sin embargo, estas poblaciones no son estables en el tiempo, debido a que ocurren mezclas entre ellas que van produciendo cambios en su estructura, o también, la acumulación de diferencias genéticas entre poblaciones, las cuales conducen a la creación de razas y finalmente de especies. El reconocimiento de la estructura de la población ha sido desarrollado y mantenido en numerosas especies, siendo fundamental en la ciencia y manejo pesquero (Gaffney, 1990, Beaumont, 1991, Gallardo *et al*, 1998), especialmente en organismos acuáticos de importancia económica.

Diferentes técnicas se han desarrollado para reconocer la estructura de poblaciones. Desde técnicas que utilizan la biología de la especies, medidas morfométricas y merísticas, estructura de edades, hasta fauna parasitaria, pero todos estos métodos caracterizan a las poblaciones o stocks en forma dinámica o ecológica. En cambio, los estudios a nivel genético logran establecer diferencias entre poblaciones en una escala mucho mayor, entregando poderosas herramientas para el examen de la evolución, filogenia y generación de propuestas de manejo de poblaciones naturales.

Gran parte de los invertebrados marinos posee una prolongada vida larval pelágica, permitiendo un amplio rango de dispersión espacial (flujo génico) (Edmonds et al, 1996, Craddock et al., 1995). El ciclo de vida del erizo (*Loxechinus albus*) está asociado con una vida larval pelágica que puede llegar a prolongarse varias semanas alimentándose en la columna de agua, y por ende, presenta un gran potencial de dispersión (que puede llegar a varios cientos de kilómetros) (Buckle et al, 1973, Guisado y Castilla, 1987, Edmonds et al, 1996, Bayne, 1965; Craddock et al., 1995). Esta característica del ciclo de vida de esta especie, hace imprescindible el estudio de la estructura genético-poblacional (Palumbi, 1995; Pawlik, 1992; Rodriguez et al., 1993). La investigación de la estructura genético-poblacional dentro de un amplio rango de distribución geográfica de *L. albus* con electroforesis enzimática y ADN (PCR y RAPDs) (Ashley et al., 1990; O´Connell et al, 1995; Grandjean et al., 1997) permitirá diferenciar stocks (los stocks se diferencian unos de otros en sus tasas de crecimiento, reproducción, mortalidad entre otras). Si estas diferencias son producidas por factores genéticos, es muy importante manejar a cada unidad por separado (Allendorf et al., 1987)), evaluar los efectos del flujo génico (Slatkin, 1981; Cockerham y Weir, 1993), producto de la dispersión larval y la actividad de repoblamiento.

Ante este gran cuerpo de evidencias de la necesidad de conocer la estructura génica de las poblaciones, la comunidad científica no puede permanecer indiferente y esperar que las especies se encuentren en peligro para realizar algún esfuerzo tendiente a su conservación. Además se posee el conocimiento técnico y la infraestructura necesaria para llevar a cabo

estos estudios. Aspectos de la genética molecular comenzaron a ser usadas a partir de la década de los 50, realizándose estudios en variantes de grupos sanguíneos de atunes, bacalao y salmónidos. Estos métodos fueron reemplazados luego por las técnicas electroforéticas que establecían polimorfismo proteico determinado genéticamente (Ward & Grewe, 1994). Este nuevo método es rápido, relativamente barato y reproducible, sin embargo, entrega una aproximación indirecta de la variabilidad del ADN nuclear (Ward & Grewe, 1994). Esta técnica, tiene a su haber una enorme cantidad de información, debido a su amplio y fomentado uso en discriminación de especies, stocks, etc. en distintos organismos terrestres y acuícolas. La electroforesis en gel es una técnica poderosa y relativamente sencilla, la cual permite separar proteínas de acuerdo a su carga neta y tamaño en un campo eléctrico. La base de este método radica en el hecho de que cada proteína específica está codificada por un solo gen. Los loci polimórficos son usados para determinar las similitudes y diferencias a lo largo del rango de una pesquería o entre especies. Los datos son obtenidos como genotipos (composición genética de cada locus en un individuo) y cubren las frecuencias alélicas, que es la proporción de alelos en una muestra de la población para cada locus (Gallardo, 1998). Las ventajas de la electroforesis enzimática son la rapidez, su relativamente bajo costo y la enorme base de datos existente de autores que han utilizado esta técnica. Por otro lado, el advenimiento de nuevas y mas poderosas técnicas moleculares, especialmente la técnica de la polymerase chain reaction (PCR), resuelve el potencial problema de la electroforesis enzimática, la cual podría ser influenciada por la selección natural al estar las variantes alélicas en algunos casos asociadas con los ciclos metabólicos de los organismos. Por ello en el presente proyecto se utilizaran ambas metodologías, con el fin de validar los resultdos obtenidos.

La necesidad del uso de ambas técnicas (electroforesis enzimática y ADN) ha sido documentado en recientes estudios científicos en los cuales estos dos tipos de marcadores han entregado resultados bastante diferentes (Buroker, 1983, Reeb and Avise, 1990, Burton and Lee, 1994, Edmands et al,1996, Comesaña, 1999). En estos estudios, los marcadores de ADN han podido detectar diferencias poblacionales no detectadas a través de electroforesis enzimática. Sin embargo, la electroforesis enzimática continúa siendo una técnica comparativamente conveniente en cuanto a costo y tiempo lo que permite muestreos en una escala espacial y temporal que no es muy práctico con marcadores de ADN (Palumbi, 1995, Edmands et al., 1996).

5. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Una enorme cantidad de estudios genéticos se han llevado a cabo en agricultura y ganadería para mejorar la calidad y productividad de sus recursos. Aunque estudios sobre la genética y selección en organismos acuáticos pueden también contribuir a incrementar la productividad de los recursos acuáticos y a realizar un manejo adecuado de los stocks de estos recursos (especialmente aquellos de importancia comercial), no se ha realizado un esfuerzo similar, a pesar de que los organismos acuáticos han estado siendo explotados también desde tiempos remotos.

Las aplicaciones potenciales de la genética en los recursos acuáticos están en la aplicación de marcadores genéticos en el estudio de poblaciones naturales, con el fin de poder realizar manejo de estas poblaciones para su explotación comercial y también para su conservación. Por otro lado también en la aplicación de programas de mejoramiento genético para caracteres de importancia económica como ser tasa de crecimiento, tasa de conversión alimenticia, resistencia a enfermedades, características morfológicas deseadas y manejo de la reproducción.

Si bien es cierto en la naturaleza ocurren variaciones en el tamaño y forma (utilizadas hasta muy recientemente como caracteres taxonómicos) éstas variaciones pueden estar influenciadas fuertemente por el ambiente y no son por lo tanto heredables. Aunque mutaciones en el color, forma ó potencial reproductivo ofrecen un grupo de marcadores que han sido utilizados en un amplio rango de estudios genéticos, principalmente en micro-organismos y plantas, la obtención de tales marcadores en organismos diploides con lapsos generacionales prolongados (como las especies propuestas en el presente proyecto), requiere de mucho tiempo, especialmente cuando es necesario demostrar la neutralidad del marcador. Un ejemplo, la electroforesis enzimática, posee una base genética simple y muy bien establecida, sin embargo, su rol adaptativo, aunque sea menor o cuestionable, limita en cierta forma su utilización como marcadores neutrales para estudios de estructura poblacional. Sin embargo, la electroforesis enzimática es muy útil al momento de estudiar selección en poblaciones naturales y debido a su amplio uso durante las últimas tres décadas, existe un cúmulo enorme de datos obtenidos con esa técnica lo que permite realizar comparaciones e inferencias que se han utilizado en programas de manejo y conservación.

Los estudios en genética poblacional involucran la detección cuantitativa de la variación genética en poblaciones naturales, permitiendo explicar esta variación en términos de su origen y mantenimiento y su importancia evolutiva. Los estudios de diferenciación poblacional en especies acuáticas revisten enorme interés por las implicaciones de tipo económicas y de conservación. Es por ello que los conocimientos genético-poblacionales son fundamentales para entender cabalmente la dinámica biológica de sus individuos. La variación genética en poblaciones naturales está influenciada por factores tales como tamaño poblacional, mutación, migración, dispersión, y selección. Las frecuencias génicas en una población de reducido tamaño, por ejemplo, está sujeta a procesos fluctuantes aleatorios, los cuales se ven incrementados al reducirse aun mas el tamaño poblacional debido o la deriva genética. En un caso extremo, la deriva genética puede llevar a la fijación aleatoria de un alelo y a la pérdida de otros (Klug & Cummings, 1991).

La segregación Mendeliana y la recombinación son procesos que generan variación genotípica a través de la reorganización de alelos que ya están presentes en la población, pero la mutación por otro lado incrementa la variación genética a través de la generación de nuevos alelos. La mutación ocurre en forma laeatoria en forma independiente si es ventajoso o desventajoso para el organismo (Klug & Cummings).

Las mutaciones que ocurren dentro de una población pueden llevar al establecimiento de una frecuencia génica diferente. En forma similar la migración puede ser fuente de nuevos alelos y

por lo tanto también influenciar las frecuencias génicas cuando los individuos se mueven entre subpoblaciones. La migración también puede ocurrir entre dos poblaciones que estuvieron alguna vez aisladas geograficamente.

Nuevo conocimiento sobre la estructura poblacional se ha podido generar a través de estudios sobre grados de dispersión y flujo génico (Slatkin, 1994). Algunas especies han demostrado un alto grado de dispersión y flujo génico. Por ejemplo muchos invertebrados marinos, incluyendo el chorito (*Mytilus edulis chilensis*) poseen una larva con un período de vida planctónica bastante prolongado. Algunos autores como Koehn (1976) y Comesaña et al (1999) demostraron que para varios loci alozímicos existía muy poca diferenciación poblacional sobre enormes distancias geográficas. Por otro lado hay especies con mucho menos poder de dispersión y por ende flujo génico, especialmente aquellas que no son meroplanctónicas. Sin embargo, aquí entra en juego otro factor muy importante que son los programas de repoblamiento y/o de cultivo de especies, en donde para llevarlos a cabo se deben producir en ambientes controlados (hatcheries) los juveniles que posteriormente serán distribuídos en distintas localidades, afectando positivamente o negativamente las frecuencias génicas de las poblaciones naturales. Es por ello que es importantísimo, primeramente conocer la estructura genético-poblacional de las poblaciones naturales, para poder determinar posteriormente si ha existido un cambio de ésta con la introducción de nuevos individuos que aportarán al pool genético de esa población. En segundo lugar es necesario monitorear genéticamente los reproductores utilizados para la producción de juveniles en ambientes controlados y determinar si el tamaño poblacional efectivo es adecuado para mantener una variabilidad genética adecuada en la población, detectando la variabilidad de las cohortes de juveniles producidas en éstos ambientes controlados. Estos estudios son primordiales si se desea hacer un manejo que permita mantener los niveles de variabilidad genética en las poblaciones naturales (Beaumont, 2000).

Con el advenimiento de nuevas técnicas en biología molecular, ha existido cada vez un mayor interés y énfasis en el uso de caracteres basados en el ADN como marcadores. La variación en el ADN puede proveer de respuestas a las preguntas sobre relaciones genéticas entre poblaciones naturales de las distintas especies, las cuales tienen una directa relación con aspectos del manejo de recursos naturales. La mayor parte de los estudios sobre la variación del ADN se basan en el uso de ensayos (probes) no específicos que revelan perfiles multi-alélicos únicos para cada individuo (Minisatellite DNA fingerprintings) o el uso de ensayos específicos que reconoce variación multi-alélica en un locus específico (microsatellites). Los marcadores basados en Minisatellites no son recomendables para realizar estudios poblacionales debido a que no permiten la cuantificación de diferencias genéticas y la estimación de heterosigosidad y distancias genéticas. Los marcadores basados en microsatellites se prestan para esos propósitos, sin embargo, son mas dificiles y caros de desarrollar y lo mas importante, demasiado caros para aplicarlos en estudios poblacionales muy extensos.

Una relativamente nueva técnica molecular que utiliza marcadores denominados RAPD (Random amplified polymorphic DNA) ha sido utilizada recientemente para describir loci polimórficos en poblaciones naturales (Jones et al., 1994; Fong et al., 1995). Esta técnica se basa el el uso de PCR (Polimerase chain reaction) en la cual un oligonucleótido de entre 5 y 10 bases con una secuencia arbitraria (primer) se utiliza para amplificar regiones anónimas del ADN genómico. Los productos de la amplificación (fragmentos de ADN) son resueltos a través de electroforesis en un gel de agarosa (sumergido en un buffer) y los productos polimórficos amplificados son utilizados como marcadores genéticos.

Comparado con otras técnicas basadas en variabilidad del ADN, la detección y uso del marcadores RAPD es mas rápido y menos caro. Esta técnica requiere una muy pequeña cantidad de ADN patrón por reacción, varias reacciones pueden llevarse a cabo al mismo tiempo en termocicladores comerciales, y los productos de la reacción pueden ser resueltos y

documentados sin mayores dificultades. Es así que esta técnica ha sido utilizada con éxito en una enorme variedad de estudios genéticos: estudios filogenéticos y de genética de poblaciones (por ejemplo: Bassan et al., 1992; Hadrys et al., 1992, Jones et al., 1994; Fong et al., 1995). También se ha utilizado para estudiar la segregación genética (Durand et al., 1993; Yu and Pauls, 1993), caracterización de híbridos (Patwary and van der Meer, 1994), identificación de cepas (Goodwin and Annis, 1991), estudios de pedigreé (Scott and Williams, 1993), identificación de marcadores ligados a a genes resistentes a enfermedades (Martin et al, 1991, Paran et al, 1991). Esta técnica también ha sido usada en estudios sobre especiación (Arnold et al., 1991), polinización (Philbrick, 1993), filogenética (Stronman and MacKay, 1993), mapas genéticos (Reiter et al., 1992) entre otros.

6. MARCO GENERAL DEL PROYECTO

Políticas internacionales, regionales y nacionales para el uso sustentable y la conservación de los recursos son de urgente necesidad. Sin tales políticas, las pesquerías continuarán declinando y esta constante disminución de los stocks tendrá repercusión en la acuicultura, la cual probablemente fracasará para realizar su potencial de crecimiento, Del mismo modo, la biodiversidad acuática, de la cual depende la conservación de los medioambientes marinos y dulceacuicolas, será reducida o perdida. La Convención sobre la Diversidad Biológica, a la cual Chile esta suscrito, requiere el establecimiento de tales políticas para la conservación y uso de los ecosistemas, organismos y genes acuáticos.

Nuestro país ha avanzado en la generación de este tipo de políticas a través de leyes como la Ley 18892 (1991) de Pesca y Acuicultura y la Ley 19399 (1994) Bases del Medioambiente que involucran al concepto de manejo de los recursos acuáticos. Sin embargo, se ha fracasado en incorporar consideraciones genéticas al manejo de los recursos acuáticos. La principal causa del atraso en la implementación de medidas apropiadas de conservación a nivel genético parece ser la ignorancia o indiferencia hacia las implicancias de los estudios básicos de genética poblacional (estructura genética, identificación de poblaciones y stocks) los cuales son los únicos indicadores reales del impacto de las actividades de la pesquería, la acuicultura y la repoblación sobre las poblaciones naturales a manejar y conservar.

De este modo nos parece urgente generar esta información y así contribuir al conocimiento del status genético de nuestros recursos. Las herramientas para este tipo de investigación son accesibles y se cuenta con la infraestructura y el conocimiento adecuado para realizar la caracterización genética de recursos marinos de importancia económica. A mediano plazo, estos estudios se debieran proyectar hacia la mayor cantidad posible de recursos existentes, tantos los usados en la actualidad en pesquería y acuicultura, los de uso potencial en estas actividades y, los que a pesar de no tener un valor económico especifico, nos ayudarían a entender mejor nuestros ecosistemas.

7. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO

El proyecto contempla un laboratorio central ubicado en el campus Isla Teja de la Universidad Austral de Chile en Valdivia (Décima Región). Se trata del Laboratorio de Genética perteneciente al Instituto de Biología Marina "Dr. Jurgen Winter". En este laboratorio se realizarán la totalidad de los análisis de electroforesis enzimática y ADN utilizando RAPDs.

La administración del proyecto se concentrará en la Casa Central de la División de Acuicultura del Instituto de Fomento Pesquero ubicada en al ciudad de Puerto Montt (Décima Región)

Para la ejecución del proyecto, las poblaciones naturales más representativas de los recursos a estudiar serán sometidas a muestreo. De este modo, un total de 18 localidades pertenecientes a 10 regiones del país serán incluidas en el análisis (Las regiones VI, VII y Metropolitana no serán muestreadas). * ver mapa anexo para detalle de las localidades

Fig. 1. Lugares de obtención de muestras de la especie *Loxechinus albus* (●).

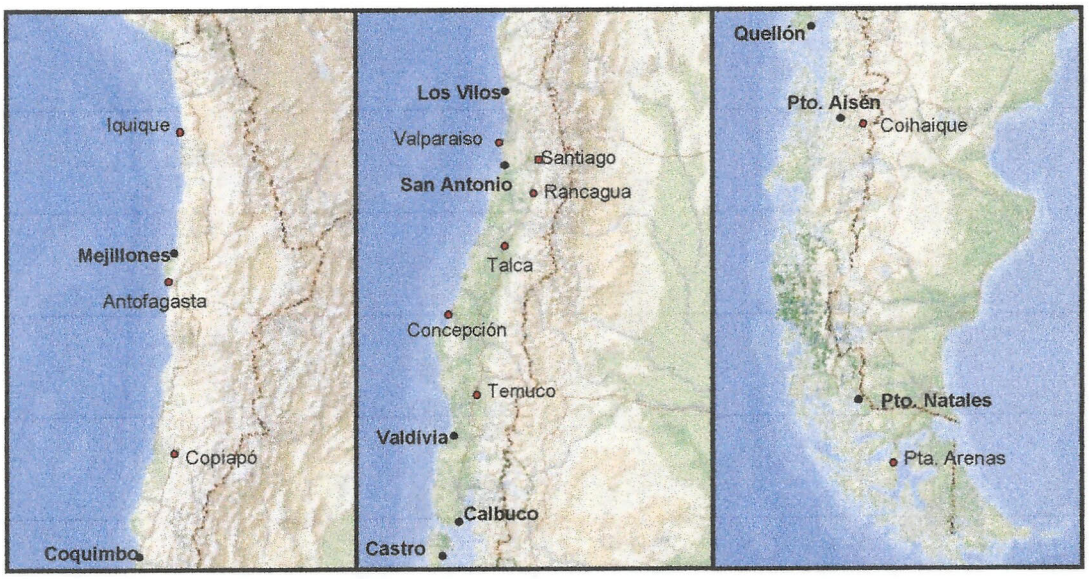


Fig. 2. Lugares de obtención de muestras de la especie *Concholepas concholepas* (●).

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
ifop
CENTRO DE MARICULTURA HUINAY

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

8. OBJETIVOS DEL PROYECTO

8.1. GENERAL:

Determinar la estructura genético-poblacional de dos importantes recursos bentónicos del litoral chileno con el propósito de llevar a cabo un manejo sustentable de las poblaciones bajo explotación y generar las bases para programas de conservación de estos recursos. Además, caracterizar el impacto de la acuicultura y la repoblación sobre las poblaciones naturales.

8.2. ESPECÍFICOS:

1. Caracterizar a nivel genético poblacional el recurso bentónico *Loxechinus albus* a lo largo del litoral chileno.

2. Caracterizar genéticamente los reproductores y las cohortes de juveniles de *L. albus* producidas en ambiente controlado.

3. Evaluar el tipo de impacto que las cohortes de juveniles de *L. Albus* provenientes de hachery podrían tener sobre la estructura genética de las poblaciones naturales.

4. Caracterizar a nivel genético poblacional el recurso bentónico *Concholepas concholepas* a lo largo del litoral chileno.

5. Generar un catastro con la caracterización genética-poblacional de los recursos bajo estudio para su utilización como referencia en futuras investigaciones

6. Proponer medidas de manejo para el uso sustentable y conservación de los recursos acuáticos estudiados en el presente proyecto.

9. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS

1. Obtención de las muestras y almacenamiento

La elección de las localidades para el presente proyecto, se realizó siguiendo el criterio de los principales lugares de desembarque de los recursos a analizar. De este modo, se obtuvo información de las estadísticas de desembarque entregadas en el Anuario Estadístico de Pesca emitido por SERNAPESCA (1999), seleccionándose las localidades con un mayor porcentaje de desembarque de cada uno de los recursos, asumiéndose que esto reflejaría a las poblaciones naturales mas representativas del país
Las muestras serán obtenidas directamente por los técnicos del proyecto o se requerirán los servicios de pescadores artesanales de las localidades. Si los muestreos coinciden con la veda del recurso, se solicitará la correspondiente autorización para una pesca de investigación a la entidad correspondiente (Subsecretaria de Pesca y SERNAPESCA)

1.1 Recurso *Loxechinus albus*
Durante los 18 primeros meses del proyecto se realizará la caracterización genética de las poblaciones del erizo comestible *Loxechinus albus*
Para un análisis a nivel macrogeográfico, 9 localidades serán sometidas a muestreo. Estas corresponden a Iquique (I Región); Antofagasta (II Región); Tomé (VIII Región); Valdivia, Calbuco, Castro y Quellón (X Región); Puerto Aysén (XI Región) y Punta Arenas (XII Región). Para un análisis a nivel microgeográfico, al menos otras 2 sub-localidades de Quellón que representan el 33 % del desembarque total respectivamente, serán muestreadas.
Los muestreos se realizarán trimestralmente, abarcando de 2 a 3 poblaciones por muestro. Se recolectarán a través de buceo autónomo 100 individuos adultos al azar de cada población completándose para el recurso erizo un total de 1200 muestras. Cada individuo será medido (diámetro de la testa) con calibre vernier (0,1 mm precisión) y será disectado. Muestras de gónada se congelarán en nitrógeno líquido en tubos NUNC de 1.8 ml. para su posterior análisis de electroforesis enzimática, mientras que glándula digestiva y músculo de la linterna de Aristóteles se fijarán con etanol al 95% en tubos eppendorf para su posterior análisis de AND utilizando RAPDs
Del mismo modo, para lograr los objetivos específicos 2 y 3, se obtendrá una muestra de los reproductores llevados al Centro de Maricultura Hueihue (IFOP), lugar donde se lleva a cabo producción bajo ambiente controlado del recurso erizo. Posteriormente, la progenie de dichos reproductores también será analizada (200 muestras).

1.2 Recurso *Concholepas concholepas*
Durante el cuarto y sexto semestre del proyecto, individuos de *C. concholepas* serán recolectados de ambientes rocosos submareales a través de 10 localidades del litoral chileno. Este análisis de estructura genética a nivel macrogeográfico abarcará de la II a la V Región, para continuar luego desde la X a la XII. Las localidades seleccionadas corresponden a Mejillones, Coquimbo, Los Vilos, San Antonio, Valdivia, Calbuco, Castro, Quellón, Puerto Aysén y Puerto Natales. La localidad de Quellón será la elegida para conocer la estructura genético poblacional a nivel microgeográfico. Así, un total de 13 muestras poblacionales (1300 individuos) será obtenida. De cada individuo adulto elegido al azar se obtendrá la longitud peristomal y posterior a la disección, muestras de pie, manto, branquia y hepatopancreas será almacenada como fue descrito para los otros recursos.

. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS (continuación)

2. Caracterización genético poblacional a través de electroforesis enzimática:

Se analizará electroforéticamente (según Selander et al.,1971; Harris & Hopkinson,1976; Richarson et al.,1986; Durant et al., 1993; Beaumont & Toro,1996) los siguientes sistemas enzimáticos IDH (1.1.1.2), □-GPDH (1.1.1.8), MDH (1.1.1.37), ME (1.1.1.40), 6-PGDH (1.1.1.44), ODH (1.5.1.11), ATT (2.6.1.1), PGM (2.7.5.1), EST (3.1.1.1), LAP (3.4.11.1), PEP (3.4.11.13), MPI (5.3.1.8), PGI (5.3.1.9), GOT (2.6.1.1), GSR (1.6.4.2) y XDH (1.2.1.37). Se caracterizará: grado de polimorfismo, heterocigosidad, frecuencias alélicas, genotípicas y equilibrio Hardy-Weinberg. Se calculará distacia genética (Nie, 1978) e índice de similaridad (Rogers, 1972) y análisis de cluster (UPGMA).La heterogeneidad de las frecuencias génicas se examinará según Workman y Niswander, 1970; Hart y Clark, 1989. La diferenciación espacial en las frecuencias génicas se examinará utilizando el análisis jerárquico de estructura reproductiva (Wright, 1965, 1978), examinándose para detectar diferencias poblacionales derivadas de presiones ambientales diferentes como selección y deriva genética (Richardson, 1986, Koehn, 1991). El modelo a utilizar es de "aislamiento por distancia", en donde los efectos en cada locus serán independientes ya que existirá una estructura subpoblacional que limite el flujo génico en una localidad en particular (Richardson, 1983; Richardson et al., 1986).

3. Caracterización genético poblacional a través de análisis de ADN utilizando RAPDs:

La técnica RAPD (Randomly amplified polymorphic DNA) es relativamente nueva (Williams et al, 1990) y se basa en PCR (polymerase chain reaction, Sakai et al., 1988) en el cual un solo oligonucleotido de entre 5 y 10 mer (primer) con una secuencia arbitraria se utiliza para amplificar regiones anónimas del ADN genómico. Debido a que el primer es corto (5 -10 bases) existe una alta probabilidad de que, repartidos en genoma, se encuentren pequeñas repeticiones invertidas que sean complementarias muy próximas entre si, las que servirían de sitios para el primer.
Para este tipo de análisis se trabajará con 50 individuos de cada una de las poblaciones muestreadas. A cada ejemplar muestreado se le determinará su longitud máxima (mm) con un pié de metro y se le procederá a disectar un trozo de aproximadamente 200-400 mg de tejido gonadal, músculo ó del borde del manto. Esta muestra de tejido se fijará en con etanol al 95% en tubos Nunc y se conservará a –20°C a la espera de su análisis.

3.1 Extracción de ADN:
Se extraerá el ADN genómico total de un trozo de tejido (50 – 100 mg) fijado previavente en etanol al 95% y se trozará 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 adicionará 500 µl de una solución de fenol-cloroformo-isoamil alcohol (24:24:1). Esta mezcla se agitará en un vortex y se centrifugará a 13.000 rpm durante 15 minutos a 5 °C, para posteriormente sifonear el sobrenadante y transferirlo a un nuevo tubo ependorf de 1.5 ml previamente autoclavado. Los acidos nucleicos se precipitarán con la adición de 1000 µl de etanol a -20 °C (Toro, 1998), y los tubos se mantendrán en el freezer a –20°C por 20 minutos previo a su centrifugación a 6.000 rpm por 3 minutos. Luego el sobrenadante se descartará, y se adicionará nuevamente 500 µl de etanol a –20 °C, para luego centrifugar a 6000 RPM. Luego de este procedimiento de lavado, se procederá a descartar el sobrenadante, dejando el pellet en el fondo del tubo y colocando los tubo en un concentrador (disecador SAVANT DNA 110) de ADN a 37°C hasta que el etanol se evapore completamente. El pellet de ADN extraído

se resuspenderá (incubando a 60°C por 10 minutos) en 200 µl de agua bidestilada y se almacenará a -20°C, hasta el momento de la amplificación.

3.2 Amplificación del ADN:

Se utilizarán 48 primers (ver tabla a continuación) en cada reacción PCR (para cada ejemplar) con el fin de generar marcadores moleculares para los 50 individuos de cada una de las poblaciones y especies muestreadas.

Se llevarán a cabo amplificaciones estándar para PCR utilizando una mezcla de 25 µl (en tubos para PCR ultra delgados de 500 µl (Gordon technologies)) que contendrán 2 µl de ADN genómico extraído (en una dilución a establecer), 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 primer, una unidad de Tfl (Thermus flavus) ADN polimerasa (Promega), agua bi-destilada y PCR-buffer (Promega). La reacción será cubierta con una gota de aceite mineral para evitar evaporación y se colocará en un termo-ciclador ((Amplitron II, Thermolyne Inc). El protocolo del termo-ciclador será el siguiente: un período de denaturalización a 94°C por 3 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 20 segundos, 50 °C por 20 segundos y 72 °C por 2 minutos. Se tendrá especial cuidado en la manipulación, para prevenir contaminación de ADN de cada muestra. Se usarán pipetas eppendorf con puntas desechables, las cuales se autoclavarán periódicamente junto con todos los tubos y puntas que serán del tipo desechables. Además, en cada set de muestras a amplificar en el termo-reciclador, se adicionará una muestra negativa (sin ADN).

3.3 Electroforesis del producto de la amplificación PCR:

La totalidad de los fragmentos de ADN amplificado con los primers utilizados se separarán 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. Dos escalas estandars de 1Kb (Life Technologies) se correran en cada uno de los extremos del gel. Luego de la electroforesis los fragmentos RAPD se visualizaran con una tinción de etidium bromide durante 15 minutos y previo a un lavado de los geles en agua, su visualización se llevará a cabo en bandejas de luz UV, donde se fotografiarán según Comesaña et al.(1999); Toro (1999).

3.4 Análisis estadísticos y genéticos:

Para cada individuo en las poblaciones, el patrón de bandas se determinara como presente (1) o ausente (0) para cada primer. Las frecuencias alelicas se generaran bajo la asumción de la proporción Hardy Weinberg utilizando la ecuación 1= p2 + pq+ q2, donde p2 es la proporción de individuos homocigotos dominantes (expresando 1's para ambos alelos en un mismo loci, teniendo ambos sitios primer), 2pq es la proporción de heterocigotos (expresando un 1 y un 0 por cada alelo, teniendo solo uno de los sitios primer), y q2 es la proporción de individuos homocigotos recesivos (expresando 0's para ambos alelos en un mismo loci, faltando ambos sitios primer). Estudios previos con electroforesis enzimática en poblaciones naturales de A. Purpuratus y Concholepas concholepas han demostrado que se encuentran en equilibrio Hardy Weinberg (Jollan etal., 1995, Torres, 1992).

Para cada población la proporción q2 se multiplicará por el número de individuos que posean este genotipo (ausencia ó 0) en cada fragmento. Esta proporción será utilizada para efectuar una simulación Monte Carlo (Roff & Bentzan, 1989) con el fin de analizar la existencia de diferenciación genética entre las distintas poblaciones muestreadas.

La distancia genética Nie (Nie, 1977), que cuantifica las diferencias genéticas entre poblaciones, se estimará en base a las frecuencias alélicas utilizando el paquete estadístico Biosys 1.7. El patrón de diferenciación genética basado en la distancia genética Nie, se

graficará en un dendrograma utilizando UPGMA (Unweigthed Pair Group Method with Arithmetic Mean). Se llevarán a cabo correlaciones (Spearman rank) para determinar si existe asociación entre la distancia genética y la distancia geográfica de las poblaciones analizadas. Se calculará el índice de disimilaridad (d) entre individuos dentro de cada población de acuerdo a la fórmula de Baruffi et al (1995): d = NAB / (NA + NB) donde NA y NB corresponden al número de fragmentos en los individuos A y B respectivamente, y NAB corresponde al número de fragmentos que difieren entre dos individuos. También se llevrán a cano análisis de varianza de una vía, para detectar diferencias entre el índice de disimilaridad promedio de todas las poblaciones analizadas.

La heterocigosidad promedio esperada o diversidad génica, se determinará para cada población. La heterocigosidad promedio se define en términos de frecuencias génicas y es la proporción promedio de de heterocigotos por locus en una población con cruzamiento al azar (Nie, 1987) y se estima a través de la fórmula: h prom = (måi=1 2pq) / m ; donde m= número de loci con dos alelos e i= ith locus, sobre todos los loci para cada población.

Análisis multidimensional (multidimensional scaling) , basado en el índice de disimilaridad será utilizado para detectar la presencia de relaciones o patrones entre individuos de las poblaciones. Este análisis se utiliza para detectar patrones a partir de asociaciones entre loci (Rohlf,1992). Aquellos individuos que grafican mas cercanos, son genéticamente mas similares que aquellos mas distantes en el gráfico multidimensional. El estadístico strees mide el goodness of fit en los datos originales (Rohlf, 1992). Este estadístico se interpreta como: 0.00 fit perfecto, 0.05 excelente, 0.1 bueno, 0.2 regular, y 0.4 malo.

Los análisis genéticos se llevarán a cabo con los programas computacionales Gel-Pro analyser Version 3.1 (Media Cybernetics); BIOSYS-1.7 (Swofford and Selander, 1989), Zaykin & Pudovkin (1993); SYSTAT 5.1 (Wilkinson, 1991) y el programa AMOVA (análisis de varianza molecular) desarrollado por Excoffier et al. (1992).

Secuencia de los primers a utilizar:

Primer	Secuencia 5´- 3´
1	CCTGGGTTTG
2	ACAGGGCTCA
3	CCGGCCCCAA
4	TTCCCCGCCC
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	CGTCTGCCCG
20	TAGCCCGCTT
21	TACGATGACG
22	GCGGTATAGT
23	AACACACGAG
24	GGTCTCTCCC
25	AGAGGGTTCT
26	TGTCGGTTGC
27	ATGTGTTGCG
28	GTGCGTCCTC
29	AGCAGCGTGG

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO – CENTRO DE MARICULTURA
ifop

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

10. A
ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)

2002

AÑO

recurso *Loxechinus albus*

Objetivo Especif. Nº	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
1	1.1	Ajustar las técnicas de electroforesis enzimática para *L. albus*	Enero 2002	Marzo 2002 2001
1	1.2	Ajustar y determinar los marcadores RAPDs a utilizar *L. albus*	Enero 2002	Marzo 2002
1	1.3	Muestreo trimestral de poblaciones naturales	Enero 2002	Diciembre 2002
1	1.4	Fijación y almacenamiento de tejidos	Enero 2002	Diciembre 2002
1	1.5	Realización análisis electroforéticos y ADN	Enero 2002	Diciembre 2002
1	1.6	Determinación los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	Julio 2002	Diciembre 2002
1	1.7	Determinación el tamaño efectivo poblacional	Julio 2002	Diciembre 2002
1	1.8	Estimación de la diferenciación genética	Noviembre 2002	Diciembre 2002
1	1.9	Estimación de la distancia genética	Noviembre 2002	Diciembre 2002
1	1.10	Determinación del flujo de genes	Noviembre 2002	Diciembre 2002
2	2.1	Muestreo de reproductores y juveniles en hatcheries	Julio 2002	Septiembr 2002
2	2.2	Fijación y almacenamiento de tejidos	Julio 2002	Septiembr 2002
2	2.3	Realización análisis electroforéticos y ADN	Septiembr2 002	Diciembre 2002
2	2.4	Determinación los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	Noviembre 2002	Diciembre 2002
3	3.1	Determinación del tamaño efectivo poblacional a utilizar en el hatchery	Octubre 2002	Diciembre 2002
3	3.2	Estimación de la diferenciación genética entre las poblaciones naturales y de hatcheries	Octubre 2002	Diciembre 2002

10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)

AÑO 2003 recursos *Loxechinus albus y Concholepas concholepas*

Objetivo Especif. Nº	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
1	1.5	Realización análisis electroforéticos y ADN	Enero 2003	Abril 2003
1	1.6	Determinación los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	Enero 2003	Junio 2003
1	1.7	Determinación el tamaño efectivo poblacional	Enero 2003	Mayo 2003
1	1.8	Estimación de la diferenciación genética	Enero 2003	Junio 2003
1	1.9	Estimación de la distancia genética	Enero 2003	Junio 2003
1	1.10	Determinación del flujo de genes	Enero 2003	Julio 2003
2	2.3	Realización análisis electroforéticos y ADN	Enero 2003	Mayo 2003
2	2.4	Determinación los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	Enero 2003	Abril 2003
3	3.1	Determinación del tamaño efectivo poblacional a utilizar en el hatchery	Febrero 2003	Junio 2003
3	3.2	Estimación de la diferenciación genética entre las poblaciones naturales y de hatcheries	Febrero 2003	Junio 2003
4	4.1	Ajustar las técnicas de electroforesis Enzimática para *C. concholepas*	Julio 2003	Septiembr2 003
4	4.2	Ajustar y determinar los marcadores RAPDs a utilizar para *C. concholepas*	Julio 2003	Octubre 2003
4	4.3	Muestreo trimestral de poblaciones naturales	Julio 2003	Diciembre 2003
4	4.4	Fijación y almacenamiento de tejidos	Julio 2003	Diciembre 2003
4	4.5	Realización análisis electroforeticos y ADN	Octubre 2003	Diciembre 2003

10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)

AÑO 2004 recurso *Concholepas concholepas*

Objetivo Especif. Nº	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
4	4.5	Realización análisis electroforeticos y ADN	Enero 2004	Octubre 2004
4	4.6	Determinación los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	Junio 2004	Octubre 2004
4	4.7	Determinación del tamaño efectivo poblacional	Julio 2004	Diciembre 2004
4	4.8	Estimación de la diferenciación genética	Octubre 2004	Diciembre 2004
4	4.9	Estimación de la distancia genética	Octubre 2004	Diciembre 2004
4	4.10	Determinación del flujo de genes	Octubre 2004	Diciembre 2004
5	5.1	Elaboración de un catálogo con la caracterización genético-poblacional de las poblaciones analizadas para cada una de las dos especies	Diciembre 2004	Diciembre 2004
6	6.1	Realización de un seminario taller para discutir y proponer medidas de manejo y conservación de los recursos en estudio	Diciembre 2004	Diciembre 2004

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO - ifop - CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y EXPLOTACIÓN MARINA

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA - UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS - MINISTERIO DE AGRICULTURA

10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)

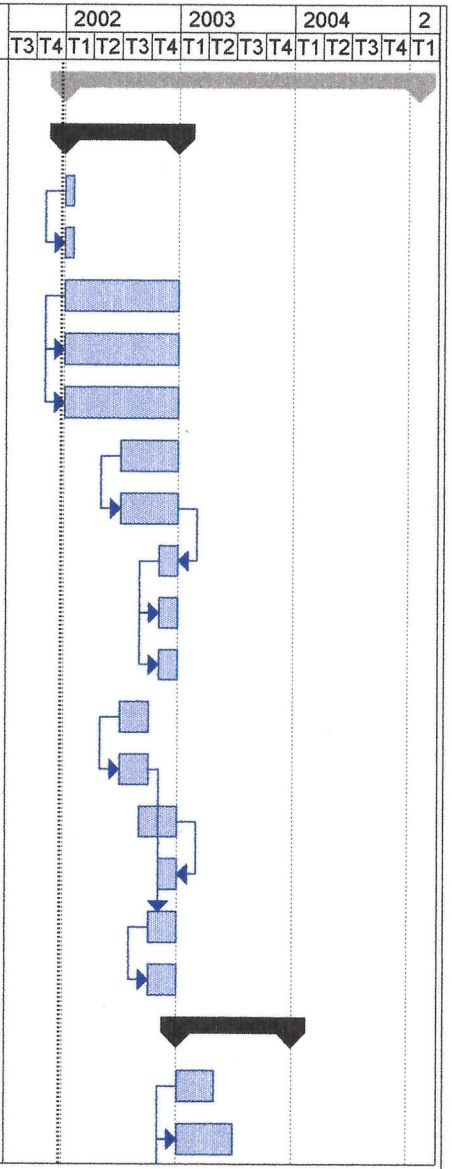
AÑO 2005

Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
5	5.1	Elaboración de un catálogo con la caracterización genético-poblacional de las poblaciones analizadas para cada una de las dos especies	Enero 2005	Enero 2005

INSTITUTO DE FOMENTO ... CENTRO

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

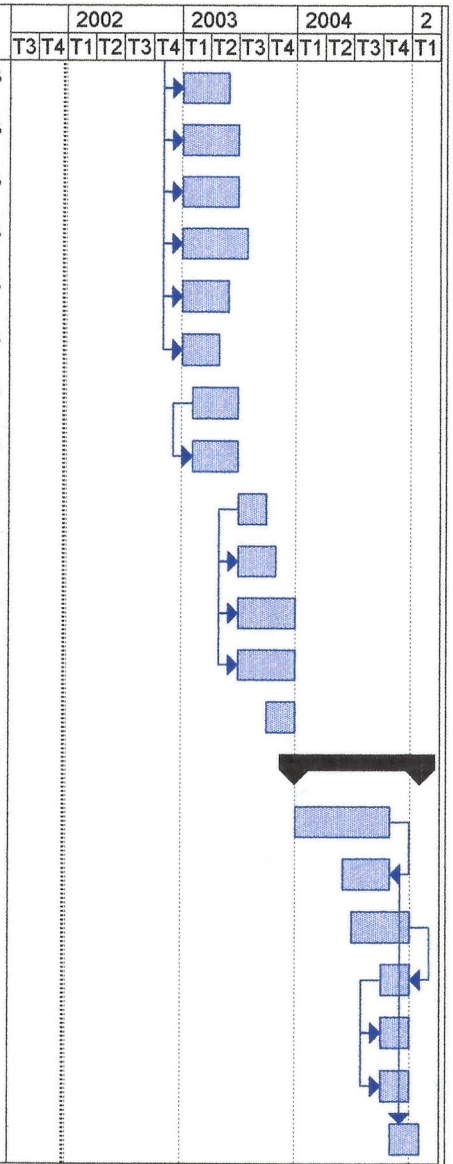
Id	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin
0	**fia**	**804 días**	**mi 02/01/02**	**lu 31/01/05**
1	**AÑO 2002**	**260 días**	**mi 02/01/02**	**ma 31/12/02**
2	Ajustar las técnicas de electroforesis enzimatica para L.albus	22 días	mi 02/01/02	ju 31/01/02
3	Ajustar y determinar los marcadores RAPDs a utilizar L.albus	22 días	mi 02/01/02	ju 31/01/02
4	Muestreo trimestral de poblaciones naturales	260 días	mi 02/01/02	ma 31/12/02
5	Fijación y almacenamiento de tejidos	260 días	mi 02/01/02	ma 31/12/02
6	Realización análisis electroforéticos y ADN	260 días	mi 02/01/02	ma 31/12/02
7	Determinación los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	132 días	lu 01/07/02	ma 31/12/02
8	Determinación el tamaño efectivo poblacional	132 días	lu 01/07/02	ma 31/12/02
9	Estimación de la diferenciación genética	43 días	vi 01/11/02	ma 31/12/02
10	Estimación de la distancia genética	43 días	vi 01/11/02	ma 31/12/02
11	Determinación del flujo de genes	43 días	vi 01/11/02	ma 31/12/02
12	Muestreo de reproductores y juveniles en hatchery	66 días	lu 01/07/02	lu 30/09/02
13	Fijación y almacenamiento de tejidos	66 días	lu 01/07/02	lu 30/09/02
14	Realización análisis electroforéticos y ADN	87 días	lu 02/09/02	ma 31/12/02
15	Determinación los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	43 días	vi 01/11/02	ma 31/12/02
16	Determinación del tamaño efectivo poblacional a utilizar en el hatchery	66 días	ma 01/10/02	ma 31/12/02
17	Estimación de la diferenciación genética entre las poblaciones naturales y de hatch	66 días	ma 01/10/02	ma 31/12/02
18	**AÑO 2003**	**260 días**	**ju 02/01/03**	**mi 31/12/03**
19	Realización análisis electroforeticos y ADN	85 días	ju 02/01/03	mi 30/04/03
20	Determinación los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	128 días	ju 02/01/03	lu 30/06/03



Proyecto: fia
Fecha: ju 20/12/01

Tarea
División
Progreso
Hito
Resumen
Tarea resumida
División resumida
Hito resumido
Progreso resumido
Tareas externas
Resumen del proyecto

Id	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin
21	Determinación del tamaño efectivo poblacional	107 días	ju 02/01/03	vi 30/05/03
22	Estimación de la diferenciación genética	128 días	ju 02/01/03	lu 30/06/03
23	Estimación de la distancia genética	128 días	ju 02/01/03	lu 30/06/03
24	Determinación del flujo de genes	151 días	ju 02/01/03	ju 31/07/03
25	Realización análisis electroforeticos y ADN	107 días	ju 02/01/03	vi 30/05/03
26	Determinación de los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	85 días	ju 02/01/03	mi 30/04/03
27	Determinación del tamaño efectivo poblacional a utilizar en el hatchery	106 días	lu 03/02/03	lu 30/06/03
28	Estimación de la diferenciación genética entre la poblaciones naturales y de hatche	106 días	lu 03/02/03	lu 30/06/03
29	Ajustar las técnicas de electroforesis Enzimática para C. Concholepas	66 días	ma 01/07/03	ma 30/09/03
30	Ajustar y determinar los marcadores RAPDs a utilizar para C. Concholepas	88 días	ma 01/07/03	ju 30/10/03
31	Muestreo trimestral de poblaciones naturales	132 días	ma 01/07/03	mi 31/12/03
32	Fijación y almacenamiento de tejidos	132 días	ma 01/07/03	mi 31/12/03
33	Realización análisis electroforeticos y ADN	66 días	mi 01/10/03	mi 31/12/03
34	**AÑO 2004**	**282 días**	**vi 02/01/04**	**lu 31/01/05**
35	Realización análisis electroforetícos y ADN	216 días	vi 02/01/04	vi 29/10/04
36	Determinación los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad)	109 días	ma 01/06/04	vi 29/10/04
37	Determinación del tamaño efectivo poblacional	131 días	ju 01/07/04	ju 30/12/04
38	Estimación de la diferenciación genética	65 días	vi 01/10/04	ju 30/12/04
39	Estimación de la distancia genética	65 días	vi 01/10/04	ju 30/12/04
40	Determinación del flujo de genes	65 días	vi 01/10/04	ju 30/12/04
41	Elaboración de un catálogo con la caracterización genético-poblacional de las pobl	66 días	lu 01/11/04	lu 31/01/05

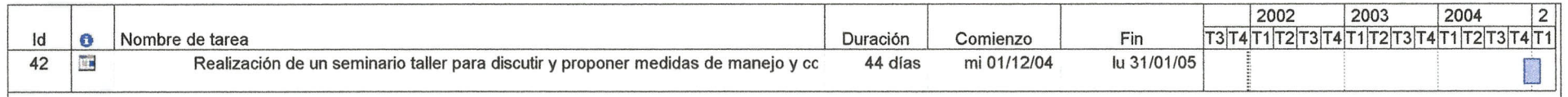


Proyecto: fia
Fecha: ju 20/12/01

Tarea
División
Progreso
Hito
Resumen
Tarea resumida
División resumida
Hito resumido
Progreso resumido
Tareas externas
Resumen del proyecto

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Id	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin
42	Realización de un seminario taller para discutir y proponer medidas de manejo y cc	44 días	mi 01/12/04	lu 31/01/05



Proyecto: fia
Fecha: ju 20/12/01

Tarea
División
Progreso
Hito
Resumen
Tarea resumida
División resumida
Hito resumido
Progreso resumido
Tareas externas
Resumen del proyecto

11. RESULTADOS ESPERADOS E INDICADORES

11.1. Resultados esperados por objetivo

Obj. Esp. Nº	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
				Meta	Plazo
1	Conocimiento estructura genética de poblaciones de *L. albus*	1100 erizos de 11 poblaciones analizados	Conocimiento de la variabilidad genética intra e Inter poblacional	Sistemas enzimáticos y marcadores de ADN definidos	Marzo 2002
2	Conocimiento estructura genética de cohortes de hatchery de *L. albus*	200 erizos analizados (reproductores y juveniles)	Determinar la variabilidad genética de reproductores y juveniles de hatchery	Determinar el tamaño poblacional efectivo	Octubre 2002
3	Conocimiento impacto de la acuicultura y repoblación sobre las poblaciones naturales de *L. albus*	Estimación del grado de polimorfismo y heterocigosidad	Determinar si es un impacto positivo, negativo ó neutro para la mantención de la variabilidad genética	Determinar la variabilidad genética de los juveniles y población afectada	Diciembre 2002
4	Conocimiento estructura genética de poblaciones de *C. concholepas*	1300 muestras de 13 poblaciones analizadas	Conocimiento de la variabilidad genética intra e Inter poblacional	Sistemas enzimáticos y marcadores de ADN definidos	Septiembre 2003
5	Catálogo conteniendo el estatus genético de los recursos estudiados	Grado de aceptación del catálogo por la comunidad científica y sector público	50 ejemplares impresos del catálogo	Elaboración de tablas y gráficos	Junio 2003
6	Medidas de manejo para el uso sustentable y la conservación de los recursos	Interés y discusión de la información por parte de las entidades generadores de políticas de manejo	Utilización de la información contenida en los informes para la generación de medidas de manejo de estos recursos	Realización de un seminario taller para discutir medidas de manejo y conservación de éstos recursos	Diciembre 2004

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO – CENTRO DE ACUICULTURA
MINISTERIO DE AGRICULTURA

11.2. Resultados esperados por actividad

Obj. Esp. Nº	Activid. Nº	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
					Meta	Plazo
1	1.1	Estandarización de buffers y pHs para cada enzima	Corridas electroforéticas con buena resolución	8 alozimas polimorficas ajustadas	4 alozimas polimorficas ajustadas	Marzo 2002
1	1.2	ADN extraído de *L. albus*	Amplificación de ADN con los primers y visualización en geles de agarosa	8 primers polimorficos ajustados	4 primers polimorficos ajustados	Marzo 2002
1	1.3	Identificación de los bancos naturales de cada localidad	Salidas a terreno cada 3 mese para obtención de muestras	300 individuos muestreados en cada salida a terreno	No hay	
1	1.4	Muestras rigurosamente identificadas y almacenadas a la temperatura adecuada	Muestras de tejido de erizo adecuadamente fijadas	Obtención de muestras de tejido de erizo de 11 localidades	Elección del tejido que muestre bandas con mejor resolución	Abril 2003
1	1.5	muestras de 1100 individuos sometidas a análisis de ADN y electroforésis	Obtención de geles con bandas nítidas para análisis genético poblacional	Obtención del genotipo de 1100 individuos	muestras de 550 individuos sometidas a análisis de ADN y electroforésis	Diciembre 2002
1	1.6	Número de genotipos heterocigotos y homocigotos de cada locus para cada población	Estimación de los genotipos para 1100 individuos	Estimación del porcentaje de heterocigosidad para cada población	Estimación de los genotipos para 550 individuos	Septiembre 2002
1	1.7	Datos para la estimación del tamaño poblacional efectivo	Estimaciones y valores para el tamaño poblacional efectivo	Determinación del valor para el tamaño poblacional efectivo	No Hay	
1	1.8	Frecuencias alélicas y genotípicas para cada locus identificado	Estimación de las frecuencias alélicas y genotípicas para 1100 individuos	Cuantificación del grado de diferenciación genética a nivel micro y macrogeográfico	Estimación de las frecuencias alelicas y genotípicas para 550 individuos	Septiembre 2002

11.2. Resultados esperados por actividad

Obj. Esp.

					PARCIAL	
Nº	Nº	RESULTADO	Indicador	Meta Final	Meta	Plazo
1	1.10	Descripción del flujo de genes entre poblaciones analizadas	Valores para la estima del flujo de genes interpoblacional	Determinación del flujo génico entre poblaciones de *L. Albus*	No Hay	
2	2.1	100 muestras de reproductores y 100 de semillas	Éxito en la obtención de semillas de los reproductores muestreados	Obtención	No hay	
2	2.2	Muestras rigurosamente identificadas y almacenadas a la temperatura adecuada	Muestras de tejido de erizo adecuadamente fijadas	Obtención de muestras de tejido de erizo para análisis	Elección del tejido que muestre bandas con mejor resolución	Marzo 2002
2	2.3	Muestras de 200 individuos sometidas a análisis de ADN y electroforésis	Obtención de geles con bandas nítidas para análisis genético poblacional	Obtención del genotipo de 200 individuos	muestras de reproductores sometidas a análisis de ADN y electroforésis	Diciembre 2002
2	2.4	Número de genotipos heterocigotos y homocigotos de cada locus para reproductores y semillas	Estimación de los genotipos para 200 individuos	Estimación del porcentaje de heterocigd para reproductores y semillas	Estimación de los genotipos para reproductores	Diciembre 2002
3	3.1	En base a los datos obtenidos en la actividad 1.7, se determinará el número de reproductores que deberían utilizarse en el hatchery	Valor del tamaño poblacional efectivo a utilizar en el hatchery para *L. albus*	Conocer el número de reproductores necesarios para mantener la variabilidad genética	No Hay	
3	3.2	Valores y gráficos previo análisis para determinar el grado de diferenciación genética entre poblaciones	Tablas con valores y gráficos con curvas demostrando grado de diferenciación	Determinación del grado de difrenciación genética entre poblaciones naturales y stocks	No Hay	

		naturales y stocks provenientes de hatchery	genética	provenientes de Hatchery		
4	**4.1**	Estandarización de buffer y pH para cada sistema enzimatico a utilizar con *C. conholepas*	Corridas electroforéticas con buena resolución	8 alozimas polimorficas ajustadas	4 alozimas polimorficas ajustadas	Septiembre 2003
4	**4.2**	ADN extraído de *C. concholepas*	Amplificación de ADN con los primers y visualización en geles de agarosa	8 primers polimorficos ajustados	4 primers polimorficos ajustados	Octubre 2003
4	**4.3**	Identificación de los bancos naturales de cada localidad	Salidas a terreno para obtención de muestras	300 individuos muestreados en cada salida	No hay	
4	**4.4**	Muestras rigurosamente identificadas y almacenadas a la temperatura adecuada	Muestras de tejido de loco adecuadamente fijadas	Obtención de muestras de tejido de loco de 13 localidades	Elección del tejido que muestre bandas con mejor resolución	Septiembre 2003
4	**4.5**	muestras de 1300 individuos sometidas a análisis de ADN y electroforésis	Obtención de geles con bandas nítidas para análisis genético poblacional	Obtención del genotipo de 1300 individuos	muestras de 600 individuos sometidas a análisis de ADN y electroforésis	Marzo 2004
4	**4.6**	Número de genotipos heterocigotos y homocigotos de cada locus para cada población	Estimación de los genotipos para1300 individuos	Estimación del porcentaje de heterocigosidad para cada población	Estimación de los genotipos para 600 individuos	Marzo 2004
4	**4.7**	Datos para la estimación del tamaño poblacional efectivo	Estimaciones y valores para el tamaño poblacional efectivo	Determinación del valor para el tamaño poblacional efectivo	No Hay	
4	**4.8**	Frecuencias alélicas y genotípicas para cada locus identificado	Estimación de las frecuencias alélicas y genotípicas para 1300 individuos	Cuantificación del grado de diferenciación genética a nivel micro y macrogeográfico para *C. concholepas*	Estimación de las frecuencias alelicas y genotípicas para 600 individuos	Septiembre 2004

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

4	4.9	Frecuencias alélicas y genotípicas para cada locus identificado	Estimación de las frecuencias alelicas y genotípicas para 1300 individuos	Cuantificar la distancia entre poblaciones, asociarla con distancia genética geográfica	Estimación de las frecuencias alelicas y genotípicas para 600 individuos	Marzo 2004
4	4.10	Descripción del flujo de genes entre poblaciones analizadas	Valores para la estima del flujo de genes interpoblacional	Determinación del flujo génico entre poblaciones de *C. concholepas*	No Hay	
5	5.1	Tabulación y elaboración de gráficos con los datos obtenidos para ambas especies	Número de tablas y gráficos conteniendo la totalidad de los datos obtenidos	Elaboración e impresión de un catálogo conteniendo la caracterizació n genético poblacional de ambas especies	No hay	
6	6.1	Realización de un Seminario Taller para discutir y proponer medidas de manejo y conservación de los recursos en estudio	Documento que resume las principales conclusiones del seminario Taller	Utilización de la Información contenida en un documento del Taller, para que sean utilizadas por las autoridades encargadas de llevar a cabo planes de manejo de éstos recursos	No hay	

INSTITUTO DE FO... CENTRO DE ... AGRICULTURA ifop

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS MINISTERIO DE AGRICULTURA

ANEXO solicitado por los revisores del Proyecto:

Detalle de actividades trimestrales y Metas semestrales:

Año 2002:

Primer trimestre (Enero, Febrero y Marzo):
Durante este primer trimestre se espera iniciar los ajustes de las técnicas para el análisis de las muestras para el recurso erizo, tanto para la electroforesis enzimática como para los análisis de ADN.
Para ello ya se encuentra en trámite el permiso para realizar la pesca de investigación, con el propósito de realizar el primer muestreo (N=100) en la localidad de Valdivia.
Durante este mes, además, se iniciará la solicitud de las cotizaciones para los reactivos a utilizar en los análisis.
Se llevará a cabo la adquisición de los equipos e insumos de laboratorio.
Se realizará el primer muestreo de dos poblaciones de *L. albus* provenientes de las localidades de Iquique y Antofagasta.
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para éstas dos poblaciones.

Segundo trimestre (Abril, Mayo y Junio):
Se llevará cabo la compra de insumos de laboratorio necesarios para el análisis durante este segundo trimestre.
Se realizará el segundo muestreo de dos poblaciones de *L. albus* provenientes de las localidades de Punta Arenas y Puerto Aysén.
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para éstas poblaciones

Metas esperadas para el primer semestre

- Establecer los sistemas enzimáticos a utilizar en los análisis de todas las poblaciones de *L. albus*
- Establecer los marcadores RAPDs a utilizar en los análisis de todas las poblaciones de *L. albus*
- Confección de tablas para frecuencias alélicas para cada población
- Análisis de los datos de las 4 poblaciones analizadas
- Estimar el grado de polimorfismo para las cuatro poblaciones analizadas
- Estimar el grado de variabilidad (heterozigosidad)
- Estimar el grado de variabilidad genética intra e interpoblacional
- Estimar el grado de diferenciación genética interpoblacional
- Estimar el flujo génico entre poblaciones
- Análisis de tests de heterogeneidad Chi-cuadrado para las frecuencias alélicas, entre poblaciones

Tercer trimestre (Julio, Agosto, Septiembre):
Se llevará cabo la compra de insumos de laboratorio necesarios para el análisis durante este tercer trimestre.
Se recolectarán muestras (N=100) de de *L. Albus* utilizados como reproductores en el hatchery
Se muestreará al zar 100 juveniles obtenidos bajo condiciones controladas en al hatchery
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para estos dos grupos de *L. Albus*.

Cuarto trimestre (Octubre, Noviembre y Diciembre)
Se llevará cabo la compra de insumos de laboratorio necesarios para el análisis durante este cuarto trimestre.
Se realizará el tercer muestreo de dos poblaciones provenientes de las localidades de Calbuco y Castro.
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para éstas poblaciones

Metas esperadas para el segundo semestre:

- Análisis de los datos de las nuevas poblaciones analizadas
  Reproductores de hatchery
  Juveniles obtenidos bajo ambiente controlado
-
- Confección de tablas para frecuencias alélicas para cada población
- Estimar el grado de polimorfismo para las cuatro poblaciones analizadas
- Estimar el grado de variabilidad (heterozigosidad)
- Estimar el grado de variabilidad genética intra e interpoblacional
- Estimar el grado de diferenciación genética interpoblacional
- Estimar el flujo génico entre poblaciones
- Análisis de tests de heterogeneidad Chi-cuadrado para las frecuencias alélicas, entre poblaciones

Año 2003:

Quinto trimestre (Enero, Febrero, Marzo)
Se llevará cabo la compra de insumos de laboratorio necesarios para el análisis durante este quinto trimestre.
Se realizará el cuarto muestreo, en este caso de 3 poblaciones de *L. albus* provenientes de la localidad de Quellón, donde se realizará un muestreo a micro-escala.
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para éstas tres poblaciones

Sexto trimestre (Abril, Mayo y Junio)
Se llevará cabo la compra de insumos de laboratorio necesarios para el análisis durante este sexto trimestre.

Se realizará el quinto muestreo, en este caso de las poblaciones de *L. albus* provenientes de las localidades de Valdivia y Tomé.
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para estas poblaciones.

Metas esperadas para el tercer semestre:

- Análisis de los datos de las 4 poblaciones analizadas
- Confección de tablas para frecuencias alélicas para cada población
- Estimar el grado de polimorfismo para todas poblaciones analizadas
- Estimar el grado de variabilidad (heterozigosidad)
- Estimar el grado de variabilidad genética intra e interpoblacional
- Estimar el grado de diferenciación genética interpoblacional
- Estimar el flujo génico entre poblaciones

Análisis de tests de heterogeneidad Chi-cuadrado para las frecuencias alélicas, entre todas las poblaciones analizadas
Preparación de manuscritos para publicaciones científicas

Séptimo trimestre (Julio Agosto y Septiembre):
Se llevará a cabo la adquisición de los insumos de laboratorio para los análisis a llevar cabo durante el séptimo trimestre.
Se recolectará una muestra de 100 individuos de *C. Concholepas* para iniciar las pruebas de los sistemas enzimáticos y marcadores de ADN.

Octavo trimestre (Octubre, Noviembre y Diciembre):
Se llevará cabo la compra de insumos de laboratorio necesarios para el análisis durante este octavo trimestre.
Se realizará el primer muestreo de tres poblaciones del recurso *C. Concholepas* en las localidades de Mejillones, Coquimbo y Los Vilos.
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para éstas tres poblaciones

Metas esperadas para el cuarto semestre:

- Establecer los sistemas enzimáticos a utilizar en los análisis de todas las poblaciones de *C. concholepas*
- Establecer los marcadores RAPDs a utilizar en los análisis de todas las poblaciones de *C. concholepas*
- Confección de tablas para frecuencias alélicas para cada población
- Análisis de los datos de las 3 poblaciones analizadas
- Estimar el grado de polimorfismo para las 3 poblaciones analizadas
- Estimar el grado de variabilidad (heterozigosidad)
- Estimar el grado de variabilidad genética intra e interpoblacional
- Estimar el grado de diferenciación genética interpoblacional
- Estimar el flujo génico entre poblaciones

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
ifop
CENTRO DE MARICULTURA HUEIHUE

- Análisis de tests de heterogeneidad Chi-cuadrado para las frecuencias alélicas, entre poblaciones

Año 2004:

Noveno trimestre (Enero, Febrero y Marzo):
Se llevará cabo la compra de insumos de laboratorio necesarios para el análisis durante este noveno trimestre.
Se realizará el segundo muestreo de tres poblaciones del recurso *C. Concholepas* en las localidades de San Antonio, Pto. Aysén y Pto. Natales.
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para éstas tres poblaciones

Décimo trimestre (Abril, Mayo, y Junio):
Se llevará cabo la compra de insumos de laboratorio necesarios para el análisis durante este décimo trimestre.
Se realizará el tercer muestreo de tres poblaciones del recurso *C. Concholepas* en las localidades de Valdivia, Calbuco y Castro.
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para éstas tres poblaciones

Metas esperadas para el Quinto semestre:

- Análisis de los datos de las 6 poblaciones de *C. Concholepas* analizadas
- Confección de tablas para frecuencias alélicas para cada población
- Estimar el grado de polimorfismo para las todas poblaciones analizadas
- Estimar el grado de variabilidad (heterozigosidad)
- Estimar el grado de variabilidad genética intra e interpoblacional
- Estimar el grado de diferenciación genética interpoblacional
- Estimar el flujo génico entre poblaciones
  Análisis de tests de heterogeneidad Chi-cuadrado para las frecuencias alélicas, entre poblaciones

Décimo primer trimestre (Julio, Agosto y Septiembre):
Se llevará cabo la compra de insumos de laboratorio necesarios para el análisis durante este décimo primer trimestre.
Se realizará el cuarto muestreo de tres poblaciones del recurso *C. Concholepas* en la localid de Quellén, en donde se llevará a cabo un muestreo a micro-escala.
Se realizará el análisis tanto de electroforesis enzimática, como de los marcadores de ADN para éstas tres poblaciones
Se inician los preparativos para la organización del Seminario Internacional Taller sobre Manejo y conservación de los recursos *L. albus y C. Concholepas.*

Décimo segundo trimestre (Octubre, Noviembre y Diciembre):
Preparación, edición e impresión del catálogo conteniendo el estatus genético de los recursos estudiados en el presente proyecto
Realización del Seminario Taller sobre Manejo y Conservación de los Recursos *L. albus y C. Concholepas.*

Preparación de manuscritos para enviar a publicar en revistas científicas
Elaboración del Informe Final del Proyecto.

Metas esperadas para el Sexto semestre + enero 2005.

- Análisis de los datos de todas las poblaciones de *C. Concholepas.*
- Confección de tablas para frecuencias alélicas para cada población
- Estimar el grado de polimorfismo para las todas poblaciones analizadas
- Estimar el grado de variabilidad (heterozigosidad)
- Estimar el grado de variabilidad genética intra e interpoblacional
- Estimar el grado de diferenciación genética interpoblacional
- Estimar el flujo génico entre poblaciones
- Análisis de tests de heterogeneidad Chi-cuadrado para las frecuencias alélicas, entre poblaciones
- Envio de manuscritos a publicar en revistas científicas
- Distribución del catálogo conteniendo el estatus genético de los recursos estudiados en el presente proyecto
- Publicación y difusión de las principales conclusiones del Seminario
- Entrega del Informe Final del Proyecto

.

12. IMPACTO DEL PROYECTO

12.1. Económico

El sector pesquero en Chile ha experimentado un importante incremento en los últimos años constituyendo una parte importante de la economía nacional.

Dentro del sector pesquero, la acuicultura ha sido calificada como una de las actividades mas dinámicas e importantes, con un desarrollo espectacular desde la década del 80. Durante los últimos años, sus exportaciones representan alrededor de un tercio del total exportado por el sector pesquero. Ella está basada en el cultivo comercial de 14 especies, de las cuales seis son de origen endémico y ocho han sido introducidas desde el hemisferio norte. Al comparar la producción y exportación de productos provenientes de la acuicultura en la última década, se observa que en el año 1985, se produjeron 7.497 t que significó un ingreso de 3.2 millones de dólares, y en 1995 se produjeron 206.266 t lo que se tradujo en ingresos de divisas por 552 millones de dólares. Este crecimiento se basó principalmente en el cultivo de salmónidos y secundariamente en el cultivo de algas y moluscos. Durante este periodo la producción referida a volumen, ha tenido una tasa de crecimiento anual promedio de 39%. Este gran desarrollo confirma que la acuicultura es la actividad, dentro del sector pesquero, que por una parte va a mantener el abastecimiento global de productores derivados del mar y que por otra contribuye con significativos beneficios económicos y sociales.

Así, uno de los grandes desafíos de la acuicultura es la sustentabilidad en el largo plazo. Esta actividad se vislumbra como la alternativa mas plausible para incrementar el suministro de los recursos pesqueros que demandará la humanidad de este siglo y que la actividad extractiva no podrá satisfacer. En este ámbito, el desafío de la sustentabilidad también compete a la pesquería, en el sentido de que su extracción debe estar bien regulada para asegurar la abundancia y permanencia de los recursos en el tiempo.

De este modo, el manejo y uso sustentable de los recursos es una gran responsabilidad que compete a los científicos y sector público. Precisamente los factores que limitan la conservación y manejo de los recursos acuáticos corresponde principalmente a la distancia entre la información científica y tecnológica, la ausencia de programas apropiados e instituciones involucradas en el tema y la carencia de políticas nacionales e internacionales.

Es por eso que el presente proyecto pretende aunar esfuerzos en este sentido, generando en una primera instancia conocimientos genéticos básicos para la identificación de stocks, y así facilitar el manejo y conservación de recursos, y posteriormente difundir estos conocimientos a las instancias del sector público que regulan la explotación de los recursos. El fin ultimo es asegurar la abundancia y permanencia de los recursos para que el crecimiento del sector pesquero y los ingresos que ella genera no se vean estancados o mermados.

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
ifop
CENTRO DE MARICULTURA
MINISTERIO DE AGRICULTURA

12.2. Social

El impacto social del presente proyecto está en directa relación con los impactos económicos, ya que los recursos que se pretenden estudiar en el presente proyecto, están siendo explotados únicamente por el sector pesquero artesanal y por ende el adecuado manejo y conservación de los recursos asegurará que la presente y las futuras generaciones puedan hacer uso de los recursos marinos actualmente en explotación. Así mismo, las áreas de manejo que los pescadores artesanales tendrán a su cargo, necesita de planes de manejo específicos para cada una de las especies que allí se encuentran en forma natural. Esto sin duda involucrará repoblamiento con juveniles obtenidos bajo ambientes controlados, cuyo impacto en la composición genética de la población natural, se pretende medir en este proyecto. Ello permitirá generar planes de manejo adecuados para la sustentabilidad del recurso y su adecuada conservación por parte de los pescadores artesanales.

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
IFOP
CENTRO DE ACUICULTURA HUEIHUE

UNIDAD DE
Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

12.3. Otros (legal, gestión, administración, organizacionales, etc.)

El presente proyecto generará conocimiento de la estructura genética poblacional, la cual deberá ser una herramienta para la conservación y manejo de los recursos estudiados. De este modo los resultados aquí generados deberían impactar directamente en las decisiones tomadas por los organismos e instituciones que regulan los planes de manejo y conservación de los recursos marinos. Es así como el presente proyecto pretende difundir sus resultados a instituciones como Subsecretaria de Pesca, Sernapesca, Conama y otras universidades donde existan científicos trabajando en el área. Por ejemplo, actualmente la Conama se encuentra elaborando un Protocolo de Bioseguridad con principal énfasis en la introducción de organismos transgénicos. Este protocolo también tiene como meta regular el traspaso de semillas producidas en hatcheries, con el fin de evitar "daño genético" a las poblaciones naturales donde estas semillas son trasladadas. Sin embargo, evaluar este daño es imposible ya que no existe el conocimiento de la estructura genética de los recursos que actualmente están siendo producidos bajo condiciones controladas. De este modo, el presente proyecto contribuirá a otorgar la línea base necesaria para evaluar cualquier modificación a nivel genético que sufran las actuales poblaciones naturales de "erizo rojo" y "loco" por causa de actividades irresponsables.

En Chile, así como en Latinoamérica no existen Programas de Conservación de Recursos Genéticos, ya que la conservación siempre ha sido enfocada a niveles macros (ecosistemas, especies). Por está razón, aunque parezca ambicioso, nosotros esperamos promover el concepto de "conservación de recursos genéticos" de modo de que las instituciones incorporen, primero el concepto, y luego la idea de establecer este tipo de programas.

13.1. Descripción (tipo de efecto y grado)

Se considera que el proyecto no tendrá ningún tipo de impacto ambiental ya que consiste básicamente en la toma de muestras de individuos de "loco" y "erizo rojo" de la naturaleza y su posterior análisis genético poblacional en laboratorio.

13.2. Acciones propuestas

13.3. Sistemas de seguimiento (efecto e indicadores)

16. ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROYECTO

16.1. Criterios y supuestos utilizados en el análisis

Indicar criterios y supuestos utilizados en el cálculo de ingresos (entradas) y costos (salidas) del proyecto

El presente proyecto por tratarse de un estudio de investigación básico no requiere de análisis económico

16.2. Flujo de Fondos del Proyecto e Indicadores de Rentabilidad (calcular el VAN y la TIR dependiendo del tipo de proyecto)

I. PROYECCIÓN SITUACIÓN SIN PROYECTO

ITEM	AÑOS DE LA PROYECCIÓN					
	1	2	3	4	5	6
1. ENTRADAS						
Subtotal Entradas						
2. SALIDAS 2.1. Inversiones 2.2. Gastos de Operación 2.3. Otros						
Subtotal Salidas						
3. BENEFICIOS NETOS TOTALES (1-2)						
VAN (12%)						
TIR						

II. PROYECCIÓN SITUACIÓN CON PROYECTO

ITEM	AÑOS DE LA PROYECCIÓN					
	1	2	3	4	5	6
1. ENTRADAS						
Subtotal Entradas						
2. SALIDAS 2.1. Inversiones 2.2. Gastos de Operación 2.3. Otros						
Subtotal Salidas						
3. BENEFICIOS NETOS TOTALES (1-2)						
VAN (12 %)						
TIR						

III. FLUJO DE FONDOS DEL PROYECTO

ITEM	AÑOS DE LA PROYECCIÓN					
	1	2	3	4	5	6
1. SUBTOTAL ENTRADAS SIN PROYECTO						
2. SUBTOTAL ENTRADAS CON PROYECTO						
3. ENTRADAS TOTALES (2-1)						
4. SUBTOTAL SALIDAS SIN PROYECTO						
5. SUBTOTAL SALIDAS CON PROYECTO						
6. SALIDAS TOTALES (5-4)						
7. BENEFICIOS NETOS INCREMENTALES DEL PROYECTO (3-6)						
8. BENEFICIOS NETOS TOTALES CON PROYECTO (2-5)						
9. BENEFICIOS NETOS TOTALES CON PROYECTO DESPUÉS DEL IMPUESTO						
VAN (12%)						
TIR						

17. RIESGOS POTENCIALES Y FACTORES DE RIESGO DEL PROYECTO

17.1. Técnicos

El presente proyecto presenta una metodología muy simple por lo que presenta muy bajo nivel de riesgos técnicos.

De acuerdo a las actividades descritas, se efectuarán muestreos trimestrales de los recursos a estudiar. Estos muestreos serán realizados por los técnicos del proyecto o por algún buzo contratado y se contará con las autorizaciones para pesca de investigación proporcionadas por la Subsecretaría de Pesca. Al contar con esta autorización, uno de los inconvenientes que podría retardar la extracción de los recursos, como lo son los periodos de vedas, quedaría solucionado ya que esta pesca de investigación permite la extracción de los recursos, en las cantidades debidamente estipuladas, en cualquier época del año.

Luego de obtenidas las muestras continúa el proceso de almacenamiento de las mismas. Se cuenta con la infraestructura para almacenar y congelar la cantidad de muestras prevista para cada periodo de muestreo, por lo que esta actividad no presenta riesgos.

Finalmente todas las muestras obtenidas son sometidas a las técnicas de electroforésis enzimática y ADN. Estas técnicas una vez estandarizadas para cada recurso, pasan a constituir una receta que se aplica sin riesgos de perder muestras.

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
CENTRO DE MARICULTURA HUEIHUE
ifop

17.2. Económicos

El presnete proyecto no presenta riesgos económicos, ya que como se mencionó anteriormente, constituye un estudio básico que no producirá ganancias económicas

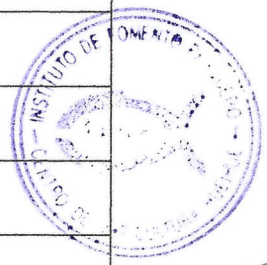
17.3. Gestión

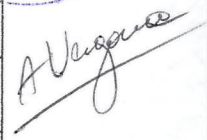
El equipo coordinador del proyecto así como la institución asociada, tienen a su haber la ejecución de una gran cantidad de proyectos en forma individual y asociados a diversas instituciones del quehacer científico. Dada esta vasta experiencia, se espera que no exista ningún tipo de riesgos en la gestión

17.4. Otros

17.5. Nivel de Riesgo y Acciones Correctivas

Riesgo Identificado	Nivel Esperado	Acciones Propuestas
Perdida de muestras por falla en los sistemas de almacenamiento	bajo	Repetir el muestreo





INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO – CENTRO DE ACUICULTURA MUEBLE

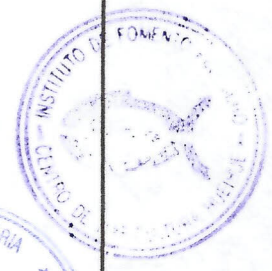
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

18. ESTRATEGIA DE TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

La transferencia de los resultados se realizará a través de un Seminario-Taller al cual se invitarán personeros directamente relacionados con el manejo y la conservación de recursos acuáticos, a representantes de las organizaciones relacionadas al medio ambiente y a investigadores nacionales y extranjeros que trabajan en la actualidad en el área.

Además se publicarán los resultados en revistas científicas destacadas a nivel internacional y a nivel nacional se editará un catálogo conteniendo el estatus genético de las poblaciones bajo estudio, lo cual será una herramienta de gran valor para evaluar el futuro impacto de la acuicultura y la repoblación sobre las poblaciones naturales de los recursos estudiados.

Del mismo modo, los investigadores del proyecto participarán activamente en congresos nacionales del área y asistirán al congreso "Genetic in Aquaculture 2003" a realizarse en Chile.



19. CAPACIDAD DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO

19.1. Antecedentes y experiencia del agente postulante y agentes asociados

(Adjuntar en Anexo B el Perfil Institucional y documentación que indique la naturaleza jurídica del agente postulante)

La División de Acuicultura del Instituto de Fomento Pesquero cuenta con una vasta experiencia en el desarrollo de proyectos de I&D para el sector acuícola nacional. En la actualidad ejecuta 20 proyectos en recursos algológicos, moluscos, peces y equinodermos y de diversos fondos (FDI, FONDEF; FNDR y otros). Las investigaciones están relacionadas principalmente con el desarrollo y optimización de tecnologías de cultivo y repoblamiento de estos recursos, genética en peces en moluscos, gestión del medioambiente (ver Memoria 1999-2000, anexo B).

Anexo B Perfil

El Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) es una Corporación de Derecho Privado sin fines de lucro creada en 1964. En 1990, producto de un proceso de reestructuración institucional, el IFOP creó la División de Acuicultura con sede en la ciudad de Puerto Montt.

La División de Acuicultura definió como su misión:

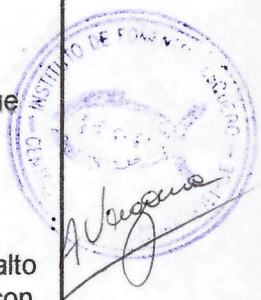
" realizar investigación, asistencia técnica y prestación de servicios para el sector pesquero en el campo de la repoblación y cultivo de recursos hidrobiológicos, con el objeto de fomentar y consolidar el desarrollo de la acuicultura como actividad productiva sustentable"

Para dar cumplimiento a esta misión, la División de Acuicultura está organizada en tres Unidades Técnicas y una Unidad de Administración y Finanzas encabezadas por el jefe de División.

De las Unidades Técnicas (de Peces, Moluscos y Algas) dependen los jefes de proyecto, investigadores, técnicos y operarios que participan en los diferentes proyectos de la División, mientras que la Unidad de Administración y Gestión (A & G) brinda a toda la División los servicios administrativos y de apoyo logístico pertinentes.

La investigación en la División de Acuicultura incluye diversas áreas de estudio en algas, moluscos, equinoderrmos y peces, esto es , genética, fisiología, bio-ecología, patología, biología de la reproducción, nutrición, biotecnología, tecnologías de cultivo y repoblación, manejo y bioquímica, entre otros
Además tienen como función recopilar, analizar y proyectar la información sectorial para que constituya una herramienta de apoyo en la toma de decisión, tanto del sector público como privado.

Todos los investigadores y equipo técnico de la División de Acuicultura están activamente involucrados en la investigación básica y aplicada. La mayoría de los proyectos tienen un alto potencial en el desarrollo de tecnologías de producción comercial. Los proyectos cuentan con financiamiento proveniente de diferentes fuentes como, FONDEF, FDI, FIP, FNDR, y empresa privada.



19.2. Instalaciones físicas, administrativas y contables

1. Facilidades de infraestructura y equipamiento importantes para la ejecución del proyecto.

Instalaciones Físicas.

Para la ejecución de los proyectos la División de Acuicultura cuenta con la siguiente infraestructura:

- Casa Central Puerto Montt
- Laboratorio de Algas Dr. Carl Skottbergii
- Sala Unidad Técnica Peces Dr. Guillermo Mann
- Biblioteca especializada Claudio Gay
- Laboratorio de Histología
- Centro de Maricultura Hueihue, Ancud
- Centro Tecnológico para la Acuicultura Putemún, Castro
- Centro Doctor Shiraishi, Coyhaique
- Centro Ensenada Baja, Coyhaique

Cada uno de los Centros cuenta con equipamiento e infraestructura adecuada para actividades de laboratorio, producción de semillas , talos u ovas , invernaderos y otras instalaciones anexas como bodegas por ejemplo.

2. Capacidad de gestión administrativo-contable.

La División de acuicultura del IFOP cuenta con una Unidad de Administración y Finanzas, constituida por un jefe de A&F , una contadora, dos secretarias y un técnico en computación, personal que está en condiciones de ejecutar un proyecto en sus aspectos administrativos y contables. La experiencia de esta Unidad es de más de 10 años y en diversos tipos de proyectos (FONDEF; FDI, FIP , FNDR y otros.

20. OBSERVACIÓN SOBRE POSIBLES EVALUADORES

(Identificar a el o los especialistas que estime inconveniente que evalúen la propuesta. Justificar)

Nombre	Institución	Cargo	Observaciones