



**UNIVERSIDAD ESTATAL**  
**PENÍNSULA DE SANTA ELENA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR**

**ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA**

**EJECUCIÓN DE PRUEBAS DE PARENTESCO PARA  
GENERAR LÍNEAS DE SELECCIÓN GENÉTICA EN**  
*Litopenaeus vannamei*

**TESIS DE GRADO**

Previa a la obtención del Título de:

**BIÓLOGO MARINO**

**MARCELO ANTONIO SUÁREZ BAQUE**

**LA LIBERTAD – ECUADOR**

**2006**

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

Las doctrinas, conceptos, resultados e ideas expresadas en este trabajo pertenecen única y exclusivamente al autor, y la propiedad intelectual de la misma es compartida con el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (Fundación CENAIM-ESPOL) y a la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE).

**Autor: Marcelo Antonio Suárez Baque**

**C.I: 0918886466**

## **DEDICATORIA**

Sus brazos siempre se abren cuando necesito un abrazo. Sus corazones saben comprender cuándo necesito amigos. Sus ojos sensibles se endurecen cuando necesito una lección. Sus fuerzas y el amor me han dirigido por la vida y me han dado las alas que necesitaba para volar. Un hombre quiere a su amor más que a nadie, a su esposa mejor que a nadie, pero a sus padres más tiempo que a nadie. Padres son los nombres de Dios que vive en los labios y el corazón de todos los niños. Ninguna lengua es capaz de expresar la fuerza, la belleza y el inmenso amor de mis padres.

A ustedes va dedicado todo este esfuerzo y sacrificio y por ustedes lo hice porque son y serán siempre mi vida.

***CARMEN Y DIONICIO***

Los quiero mucho

## AGRADECIMIENTO

A Dios por sobre todas las cosas por darme las fuerzas y encarar la vida con decisión y coraje, por ayudarme a cristalizar mis sueños y ha alcanzar la dicha de la felicidad con cada objetivo cumplido, por iluminar y bendecir mi hogar y mi alma con su presencia, y simplemente por darme la oportunidad de existir y estar en este mundo.

A mis queridos padres porque con su apoyo y confianza logramos superar juntos cada dificultad de la vida, por el inmenso amor que me han brindado hasta ahora y por los sabios consejos que me han inculcado hasta el día de hoy.

A mi hermana Irma por estar en todo momento conmigo de manera incondicional. Por todo el cariño y amor que da sin recibir nada a cambio.

A la Fundación CENAIM-ESPOL por abrirme las puertas de su institución y permitirme realizar mi tesis de grado, a su principal el director Jorge Calderón Ph.D por darme la oportunidad como estudiante de aprender parte de la investigación científica en la fundación.

Al M.Sc Enrique Blacio coordinador de asuntos estudiantiles por darme la oportunidad de ser parte del grupo de tesis seleccionados de la fundación y permitirme integrar la lista de estudiantes en el centro.

A Franklin Pérez U., Ph.D tutor de tesis, por enseñarme los principios básicos de genética y porque gracias a sus conocimientos científicos impartidos logré adquirir experiencia en la parte practica de esta difícil carrera y entender parte del amplio mundo de la genética cualitativa. Porque con su tutoría logré culminar con éxito la parte experimental y practica de la tesis de grado.

A Jordan Vivanco, Cesar Gonzabay, compañeros del laboratorio de genética por toda la paciencia y ayuda prestada durante el tiempo de tesis, por enseñarme los protocolos de trabajos a seguir en el laboratorio.

A Julie Nieto., Ph.D por brindarme todo su apoyo y confianza, por todas las ideas que me dio y enseñó durante la parte experimental de la tesis de grado.

A todos mis compañeros de tesis (Yomara, Jessenia, Martha, Maritza, Francisco, Jorge y Alfonso) por estar conmigo en las buenas y las malas, por toda la confianza y apoyo que me dieron y porque juntos pudimos superar cada dificultad y cada barrera que se presentara.

A los directivos de la facultad de Ciencias del Mar por los consejos y enseñanzas durante todo el periodo de estudio en la universidad.

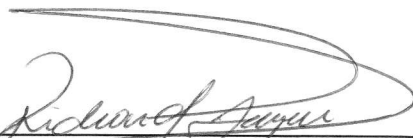
Muchas gracias a todos ustedes, sin su ayuda no hubiera sido posible la buena realización y culminación de este trabajo.

# TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



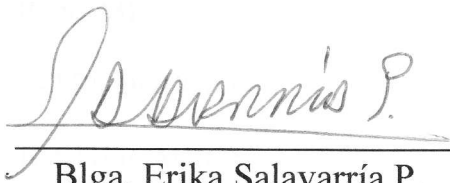
Ing. Gonzalo Tamayo C.

Decano



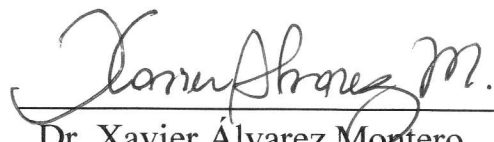
Blgo. Richard Duque M.

Director de Escuela



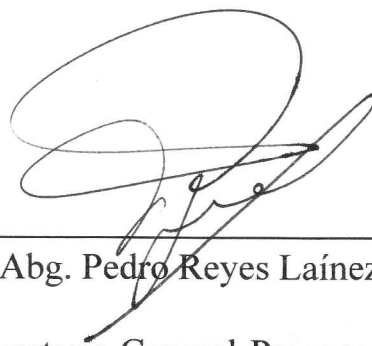
Blga. Erika Salavarría P.

Tutor de Tesis



Dr. Xavier Álvarez Montero

Docente de Área



Abg. Pedro Reyes Laínez

Secretario General-Procurador

# ÍNDICE GENERAL

	Págs.
ÍNDICE GENERAL.....	VIII
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	XVII
ÍNDICE DE TABLAS.....	XIX
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	XXIV
ABREVIATURAS.....	XXXV
RESUMEN.....	XXXIX
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	9
OBJETIVOS.....	12
Objetivo general.....	12
Objetivos específicos.....	12
HIPÓTESIS.....	13
Hipótesis nula.....	13
Hipótesis alterna.....	13
1. PROGRAMAS DE MEJORAMIENTOS GENÉTICOS.....	14
1.1. Tecnologías genéticas.....	14
1.2. Metodología moleculares.....	15
1.3. Marcadores moleculares.....	18
1.4. Marcadores genéticos.....	19
1.5. Marcadores moleculares tipos microsatélites.....	20

1.6. Reacción en cadena de la polimeraza.....	25
1.7. Análisis de fragmentos de DNA.....	29
1.8. Ventajas del análisis de DNA utilizando microsatélites.....	32
1.9. Pruebas de parentescos con microsatélites.....	33
1.10. Mejoramiento genético.....	34
1.11. Estudios realizados con microsatélites.....	35
1.12. Selección masal para crecimiento y resistencia.....	37
<b>2. METODOLOGÍA EMPLEADA PARA LA EJECUCIÓN</b>	
<b>DE LAS PRUEBAS DE PARENTESCOS.....</b>	<b>41</b>
2.1. Obtención de muestras.....	41
2.2. Manejo del experimento .....	42
2.2.1. Extracción de DNA.....	42
2.3. Pruebas de iniciadores (primers).....	43
2.4. Amplificación de muestras (PCR).....	44
2.5. Iniciadores utilizados.....	45
2.6. Electroforesis.....	45
2.6.1. Armado de placas.....	45
2.6.2. Geles de poliacrilamida.....	46
2.6.3. Cargado de muestras.....	47
2.6.4. Tinción de geles.....	48
2.7. Base de fotos.....	48
2.8. Análisis de geles.....	49
2.9. Determinación de parentesco.....	49



2.10. MADURACIÓN.....	50
2.10.1. Cruces dirigidos.....	50
2.10.1.1. <i>Copula natural</i> .....	51
2.10.1.2. <i>Inseminación artificial</i> .....	51
2.10.2. Obtención de huevos.....	52
2.10.3. Obtención de nauplios.....	52
2.11. LARVICULTURA.....	53
2.11.1. Siembra de nauplios (estadios tempranos, hasta Postlarva 15).....	53
2.11.2. Estadios Posteriores.....	53
2.12 EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE LOS ORGANISMOS.....	54
2.12.1 Evaluación de nauplios hasta postlarva 15.....	54
2.12.2. Evaluación en prejuveniles.....	54
2.12.3. Método de selección de muestras.....	55
2.12.3. Análisis estadístico.....	56
3.    PRUEBAS DE PARENTESCOS EN <i>Litopenaeus vannamei</i> .....	57
3.1. EXTRACCIÓN EMPLEADA.....	57
3.2. INICIADORES UTILIZADOS.....	57
3.3. PERFIL GENÉTICO DE LOS ORGANISMOS.....	59
3.4. DETERMINACIÓN DE PARENTESCOS.....	63
3.5. TOTAL DE ORGANISMOS ANALIZADOS.....	65

3.6. MADURACIÓN.....	65
3.6.1. Dirección de cruces.....	65
3.6.2. Inseminaciones realizadas.....	66
3.6.3. Cópulas naturales.....	69
3.6.4. Número de hembras desovadas.....	71
3.6.5. Nauplios obtenidos por tratamientos.....	72
3.6.5.1. <i>Seleccionados-seleccionados</i> .....	72
3.6.5.2. <i>Seleccionados-control</i> .....	73
3.6.5.3. <i>Control-control</i> .....	74
3.6.6. Deformidad.....	74
3.6.7. Total de nauplios obtenidos.....	76
3.7. EVALUACIÓN DE ORGANISMOS.....	77
3.7.1. Larvicultura.....	77
3.7.1.1. <i>Evaluación por tratamientos</i> .....	87
3.7.2. Tanques rectangulares de una tonelada (semanas Post siembra).....	90
3.7.2.1. <i>Primeras evaluaciones postsiembra (cuatro primeras     Semanas)</i> .....	91
3.7.2.2. <i>Quinta semana postsiembra</i> .....	94
3.7.2.3. <i>Sexta semana postsiembra</i> .....	95
3.7.2.4. <i>Séptima semana postsiembra</i> .....	97
3.7.2.5. <i>Octava semana postsiembra</i> .....	98
3.7.2.6. <i>Resumen de crecimiento en semanas postsiembra</i> .....	100

3.7.3. Análisis de anova simple.....	102
4. CONCLUSIONES.....	104
4.1. INICIADORES.....	104
4.2. PERFIL GENÉTICO.....	104
4.3. DETERMINACIÓN DE PARENTESCO.....	105
4.4. DIRECCIÓN DE CRUCES.....	105
4.5. DATOS DE DESOVES.....	106
4.6. EVALUACIÓN DE ORGANISMOS.....	107
4.6.1. Larvicultura.....	107
4.6.2. Tanques rectangulares.....	108

DISCUSIÓN

RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

## ANEXOS

ANEXO 1. EXTRACCIÓN DE DNA CON EL MÉTODO DE CHÉLEX.....	136
ANEXO 2. EXTRACCIÓN DEL DNA CON EL MÉTODO DE CTAB.....	137
ANEXO 3. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y CONTROLES.....	139
ANEXO 4. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y CONTROLES.....	140
ANEXO 5. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y CONTROLES.....	141
ANEXO 6. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y CONTROLES.....	142
ANEXO 7. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y CONTROLES.....	143
ANEXO 8. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y CONTROLES.....	144
ANEXO 9. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y CONTROLES.....	145
ANEXO 10. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y CONTROLES.....	146
ANEXO 11. CANTIDAD DE ORGANISMOS QUE MURIERON DURANTE EL TIEMPO QUE	

DURÓ LA PRUEBA DE PARENTESCO.....	147
ANEXO 12. DATOS DE COPULA E INSEMINACIÓN DEL PRIMER DÍA.....	148
ANEXO 13. DATOS DE COPULA E INSEMINACIÓN DEL SEGUNDO DÍA.....	149
ANEXO 14. DATOS DE COPULA E INSEMINACIÓN DEL TERCER DÍA.....	150
ANEXO 15. DATOS DE DESOVES DEL PRIMER DÍA DE TRABAJO.....	151
ANEXO 16. DATOS DE DESOVES DEL SEGUNDO DÍA DE TRABAJO.....	152
ANEXO 17. DATOS DE DESOVES DEL TERCER DÍA DE TRABAJO.....	153
ANEXO 18. DATOS PROMEDIOS DEL PRIMER PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS.....	154
ANEXO 19. DATOS PROMEDIOS DEL SEGUNDO PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS.....	155
ANEXO 20. DATOS PROMEDIOS DEL TERCER PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS.....	156
ANEXO 21. DATOS PROMEDIOS DEL CUARTO PESO	

REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS.....	157
ANEXO 22. DATOS PROMEDIOS DEL QUINTO PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS.....	158
ANEXO 23. DATOS PROMEDIOS DEL SEXTO PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS.....	159
ANEXO 24. DATOS PROMEDIOS DEL SEPTIMO PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS.....	160
ANEXO 25. PESOS PROMEDIOS Y DESVIACIONES ESTANDARES DE LAS OCHO SEMANAS DE ANÁLISIS.....	161
ANEXO 26. DIFERENCIAS DE PESO ENTRE TRATAMIENTOS DURANTE LAS OCHO SEMANAS DE PESO.....	162
ANEXO 27. DIFERENCIAS ESTADISTICAS ENTRE TRATAMIENTOS (PROBABILIDADES) DURANTE LAS SEMANAS DE POSTSIEMBRAS.....	163
ANEXO 28. CANTIDAD DE ORGANISMOS PESADOS POR CADA TANQUE DURANTE	

LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS.....	164
ANEXO 29. PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA DE LOS ORGANISMOS DESPUES DE LAS OCHO SEMANAS DE ANÁLISIS.....	165
ANEXO 30. GEL DE POLIACRILAMIDA MOSTRANDO LAS BANDAS DE DNA AMPLIFICADAS UTILIZANDO DIFERENTES TIPOS DE MICROSATÉLITES.....	166
ANEXO 31. INSEMINACIONES REALIZADAS CON HEMBRAS Y MACHOS SELECCIONADOS.....	167
ANEXO 32. SET DE LARVICULTURA DONDE FUERON SEMBRADOS LOS DIFERENTES NAUPLIOS PROVENIENTES DE LOS TRES CRUCES DIRIGIDOS.....	168
ANEXO 33. TANQUES EXTERIORES EN LOS CUALES SE SEMBRO A LOS ORGANISMOS EN ESTADIOS DE PL 15.....	169
ANEXO 34. TANQUES EXTERIORES MOSTRANDOS LOS RESPECTIVOS AQUAMATS.....	170
ANEXO 35. COSECHA DE LOS ORGANISMOS DE LOS TANQUES RECTANGULARES.....	171

# ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pag.
Figura 1. Ejemplo de un microsatélite dinucleótido.....	18
Figura 2. Anatomía de un microsatélite.....	19
Figura 3. Pasos básicos del PCR.....	22
Figura 4. Amplificación exponencial del PCR.....	23
Figura 5. Análisis de fragmento de DNA.....	24
Figura 6. Resumen de crecimiento en longitud promedios De los tres tratamientos en estadios Nauplios- Postlarva 18.....	90
Figura 7. Pesos promedios de los tres tratamientos en el Primer peso realizado en la semana postsiembra.....	92
Figura 8. Pesos promedios de los tres tratamientos en el Segundo peso realizado en la semana postsiembra.....	93
Figura 9. Pesos promedios de los tres tratamientos en el Tercer peso realizado en la semana postsiembra.....	93
Figura 10. Pesos promedios de los tres tratamientos en el Cuarto peso realizado en las semanas Postsiembra.....	95
Figura 11. Pesos promedios de los tres tratamientos en el Quinto peso realizado en las semanas Postsiembra.....	96



Figura 12. Pesos promedios de los tres tratamientos en el	
Sexto peso realizado en las semanas	
Postsiembra.....	98
Figura 13. Pesos promedios de los tres tratamientos en el	
Séptimo peso realizado en las semanas	
Postsiembra.....	100
Figura 14. Resumen de los pesos promedios de los tres	
Tratamientos realizados durante las semanas	
Postsiembra.....	102

# ÍNDICE DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Lista de Iniciadores utilizados en la amplificación	
De todas las muestras.....	58
Tabla 2. Frecuencia de alelos presentados en los catorce	
Microsatélites evaluados.....	60
Tabla 3. Frecuencias alélicas de los diferentes microsatélites	
Evaluados durante el experimento.....	61
Tabla 4. F estadístico y diferenciación demográfica de cada	
Microsatélite evaluado.....	62
Tabla 5. Relaciones filogenéticos por dendograma UPGMA	
Para grupo seleccionados y controles de camarón	
Blanco <i>litopenaeus vannamei</i> utilizando un proceso	
De selección masal.....	64
Tabla 6. Cruces dirigidos en organismos seleccionados-	
Seleccionados (machos y hembras).....	66
Tabla 7. Cuadro se organismos inseminados (7 machos	
Y 10 hembras seleccionadas, y 3 machos controles)	
Durante la primera noche de trabajo.....	67

Tabla 8. Cuadro se organismos inseminados (3 hembras Seleccionadas, 5 hembras controles cruzadas con 8 Machos seleccionados) durante la segunda noche De trabajo.....	68
Tabla 9. Cuadro se organismos inseminados (12 hembras Seleccionadas con 12 machos controles) durante La tercera noche de trabajo.....	68
Tabla 10. Cuadro de organismos copulados (6 hembras Seleccionadas con 6 machos controles) durante La primera noche de trabajo.....	69
Tabla 11. Cuadro de organismos copulados (8 hembras Seleccionadas y 4 hembras controles cruzados con 12 machos controles) durante la segunda noche de Trabajo.....	70
Tabla 12. Cuadro de organismos copulados (9 hembras Seleccionadas cruzadas con 9 machos controles) Durante la tercera noche de trabajo.....	70
Tabla 13. Cantidad de organismos utilizados en los cruces Y número de hembras desovadas por día de trabajo.....	72
Tabla 14. Cantidad de nauplios obtenidos en los cruces Seleccionados-seleccionados.....	73
Tabla 15. Cantidad de nauplios obtenidos en los cruces Seleccionados-control.....	73

Tabla 16. Cantidad de nauplios obtenidos en los cruces	
Control-control.....	74
Tabla 17. Porcentaje de deformidad del primer día de	
Cópula e inseminación.....	75
Tabla 18. Porcentaje de deformidad del segundo día de	
Cópula e inseminación.....	75
Tabla 19. Porcentaje de deformidad del tercer día de	
Cópula e inseminación.....	75
Tabla 20. Total de nauplios obtenidos en los tres	
Tratamientos empleados.....	76
Tabla 21. Primera medición de organismos realizada	
(Estadío de nauplios).....	78
Tabla 22. Segunda medición de organismos realizada	
(Estadío de Zoea 1).....	79
Tabla 23. Tercera medición de organismos realizada	
(Estadío de Zoea 3, Mysis 1).....	80
Tabla 24. Cuarta medición de organismos realizada	
(Estadío de Post-larva 1-2).....	81
Tabla 25. Quinta medición de organismos realizada	
(Estadío de Post-larva 5-6).....	82
Tabla 26. Sexta medición de organismos realizada	
(Estadío de Post-larva 10-11).....	83

Tabla 38. Pesos promedios de los tres tratamientos en el	
Cuarto peso realizado en las semanas	
Postsiembra.....	94
Tabla 39. Pesos promedios de los tres tratamientos en el	
Quinto peso realizado en las semanas	
Postsiembra.....	96
Tabla 40. Pesos promedios de los tres tratamientos en el	
Sexto peso realizado en las semanas postsiembra.....	97
Tabla 41. Pesos promedios de los tres tratamientos en el	
Séptimo peso realizado en las semanas	
Postsiembra.....	99
Tabla 42. Representatividad de los datos de pesos realizados	
En las ocho semanas mediante el análisis de	
Anova expresados en probabilidad ( $p < 0,05$ ).....	103

Tabla 27. Séptima medición de organismos realizada	
(Estadío de Post-larva 13-14).....	84
Tabla 28. Octava medición de organismos realizada	
(Estadío de Post-larva 16-17).....	85
Tabla 29. Novena medición de organismos realizada	
(Estadío de Post-larva 18).....	86
Tabla 30. Longitud en milímetros por tanques de las nueve	
Mediciones en los Seleccionados-Seleccionados.....	87
Tabla 31. Longitud en milímetros por tanques de las nueve	
Mediciones en los Seleccionados-control.....	88
Tabla 32. Longitud en milímetros por tanques de las nueve	
Mediciones en los Control-Control.....	88
Tabla 33. Longitud en milímetros por tanques de las nueve	
Mediciones en las dos familias seleccionadas.....	89
Tabla 34. Longitud promedio de los tres tratamientos	
Utilizados en el experimento.....	89
Tabla 35. Pesos promedios de los tres tratamientos en el	
Primer peso realizado en la semana postsiembra.....	90
Tabla 36. Pesos promedios de los tres tratamientos en el	
Segundo peso realizado en las semanas	
Postsiembra.....	92
Tabla 37. Pesos promedios de los tres tratamientos en el	
Tercer peso realizado en las semanas postsiembra.....	92

## GLOSARIO

**Alelo.-** Uno de un par de genes, o de múltiples formas de gen, localizados en igual locus de cromosomas homólogos. También denominados alelomorfo.

**Biomasa.-** Cantidad de materia viva. Es la cantidad de materia en los organismos por unidad de superficie o volumen expresado en unidad de peso. Masa de material viviente. Es la cantidad de materia en los organismos por unidad de superficie o volumen expresada en unidad de peso. Cantidad total de material vivo de un cuerpo de agua particular.

**Bloom.-** Término que se refiere a un aumento explosivo de la densidad de los organismos. ("Florecimiento"). Se caracteriza por un aumento cuantitativo notable y localizado de algunas especies de plancton produciendo notables decoloraciones del agua.

**Cebadores.-** Una secuencia corta de oligonucleótidos que se une en forma complementaria específica a una cadena única de ácido nucleico e inicia la síntesis de esa cadena en presencia de ADN polimeraza y nucleótidos en una reacción de PCR.

**Código genético.-** Las instrucciones contenidas en un gen que le dicen a la célula cómo hacer una proteína específica. A, T, G, y C son las "letras" del código

genético y representan las bases nitrogenadas adenina, timina, guanina y citosina, respectivamente. Estas bases junto con un azúcar y un enlace fosfato constituyen los nucleótidos que son la unidad fundamental del ADN. En cada gen se combinan las cuatro bases en diversas formas, para crear palabras de 3 letras que especifican cuál aminoácido es necesario en cada paso de la elaboración de la proteína.

**Codominantes.-** Tendencia que tienen los organismos de presentar ambos alelos, es decir uno del padre y uno de la madre.

**Consanguinidad.-** También conocido como Inbreeding. Parentesco sanguíneo que presenta una población determinada de individuos, correspondientes a un parentesco común.

**Cópula.-** Proceso mediante el cual se produce la unión del macho y la hembra. Existen dos casos de cópulas. En el momento de la cópula, solamente hay un contacto entre las cloacas del macho y la hembra en el primer caso, mientras que en el segundo, hay una verdadera penetración.

**Cromosomas.-** Estructuras complejas, filiformes que se ven en los núcleos de animales y plantas durante la cariocinesis y que llevan las unidades genéticas alineadas.



**Diversidad genética.-** Variación de la composición genética de los individuos dentro de una especie o entre especies; variación genética heredable dentro de una población y entre poblaciones.

**Eclosión.-** Proceso de emergencia de un ejemplar desde el huevo o de una envoltura juvenil llamada también rotura del huevo.

**Electroforesis.-** Es la técnica por la cual mezclas complejas de moléculas como proteínas, ADN o ARN se separan en un campo eléctrico de acuerdo al tamaño y a su carga eléctrica. La electricidad empuja las moléculas a través de los poros de un gel, que es una sustancia firme como la gelatina. El gel puede hacerse de manera que sus poros tengan distintas dimensiones para separar las moléculas según un rango específico de tamaños y formas. Las moléculas más pequeñas migran más rápido que las más grandes.

**Endogamia.-** Término aplicado a ciertas costumbres que se practican en algunas sociedades antiguas, tribus o clan.

**Especie.-** Grupo de organismos que pueden reproducirse libremente entre sí, pero no con miembros de otras especies.

**Especiación.-** Conceptos fundamentales aplicados en la clasificación de cualquier tipo de organismos vivos. Clasificar una especie de organismo vivo en particular.

**Fenotipo.-** Características físicas que presenta un individuo. Son todos los caracteres observables que poseen los organismos. Composición física de un determinado individuo.

**Fertilidad.-** Se refiere a la capacidad o la posibilidad de tener hijos. Se puede ser fértil y no haber tenido aún ningún hijo, o se puede haber tenido hijos anteriormente (ser fecundo) y, en cambio, haber perdido posteriormente la fertilidad.

**Filogenia.-** Ordenación de las especies en taxones superiores y construcción de árboles evolutivos basados en relaciones evolutivas (naturales).

**Flanqueante.-** Dícese al sistema defensivo que en todas las partes se defiende entre sí.

**Fluorescencia.-** Emisión espontánea de radiación (luminiscencia) desde una entidad molecular excitada sin modificar su multiplicidad. Ciertos cuerpos tienen la propiedad de emitir luz cuando actúan sobre ellos diversas radiaciones. Esa fluorescencia se aprovecha para la radioscopia y para las pantallas reforzadoras.

**Gen.-** Unidad básica de la herencia. Unidad constituida de nucleoproteína que conlleva los factores responsables de la transmisión de todas las características innatas hereditarias tanto en animales como vegetales.

**Generación.-** Grupos de organismos que tienen un común progenitor o progenitores comprendidos en un solo nivel de la línea descendiente.

**Genoma.-** Dotación y composición genética de una especie. Juego haploide de cromosomas.

**Genotipo.-** Composición genética de un individuo, generalmente referido a una o varias relevantes en un determinado aspecto.

**Germoplasma.-** Se define germoplasma como el conjunto de genotipos que refleja la variabilidad genética de una especie. Se divide en tres tipos: Primarios, secundarios y terciarios.

**Herencia mendeliana.-** Forma en que se transmiten los genes y por ende los rasgos de padres a hijos. Entre los ejemplos de herencia mendeliana están la autosómica dominante, la autosómica recesiva y los genes ligados al sexo.

**Heterocigotos.-** Que posee dos formas diferentes de un gen en particular; cada una heredada de cada uno de los progenitores.

**Homocigotos.-** Que posee dos formas idénticas de un gen específico heredadas de cada uno de los progenitores.

**Hibridación.-** Apareamiento de bases de hebras únicas de ADN o ARN.

**Inseminación.-** Inseminación artificial es un método de reproducción que consiste en la deposición del semen en el sistema reproductivo de la hembra por medio instrumental reemplazando al servicio natural por el macho.

**Isoenzima.-** Usado para abarcar la totalidad de ejemplos de distintas formas físicamente de la actividad catalítica. Las Isoenzimas están comúnmente en el tejido de todos los vertebrados, insectos, plantas, y organismos unicelulares. Son proteínas que catalizan reacciones químicas en los seres vivos.

***Litopenaeus vannamei*.**- Crustáceo perteneciente al grupo de los *litopenaeus*.

**Locus.-** El lugar del cromosoma donde está localizado un gen específico, es la dirección física del gen. El plural es "loci".

**Macroevolución.-** La macroevolución, es lo que debiera haber ocurrido si la evolución hubiera debido llegar a la primera célula, o saltar a través de los genotipos, digamos que desde un reptil a un ave. Se refiere a como pudieron surgir formas de vida viables totalmente desarrolladas totalmente por accidente.

**Mapa genético.-** Representación gráfica de la localización lineal de los genes en un cromosoma; estas posiciones son determinadas por los porcentajes de

recombinación en experimentos de cruzamientos, Denominados también mapas cromosómicos.

**Mapeo genético.-** Mapa basado en las posiciones relativas de los genes en un cromosoma y de la distancia entre ellos.

**Marcador.-** También conocido como marcador genético, es un segmento de ADN cuya herencia se puede rastrear. Un marcador puede ser un gen, o puede ser un segmento de ADN sin función conocida. Dado que los segmentos de ADN que se encuentran contiguos en un cromosoma tienden a heredarse juntos, los marcadores se usan a menudo como formas indirectas de rastrear el patrón hereditario de genes que no han sido aún identificados, pero cuyas ubicaciones aproximadas se conocen.

**Microsatélites.-** Son secuencias de bases nucleótidas que se presentan de forma repetitiva en el genoma y sus repeticiones van de dos a seis pares de bases.

**Mutaciones.-** Una alteración estructural permanente en el ADN. En la mayoría de los casos, tales cambios en el ADN pueden no tener ningún efecto, o por el contrario causar daño, pero en ocasiones una mutación puede mejorar la probabilidad de supervivencia de un organismo y pasar el cambio positivo a sus descendientes.

**Nauplios.-** Fase larvaria primitiva en distintos grupos de crustáceos, es una forma libre y presenta tres pares de apéndices, que corresponden a las dos pares de antenas y a las mandíbulas, y está provisto de un ojo impar

**Nucleótido.-** Uno de los componentes estructurales o unidades constituyentes del ADN o del ARN. Un nucleótido consta de una base (adenina, timina, guanina, uracilo o citosina), más una molécula de azúcar y una de ácido fosfórico.

**Oligonucleótidos.-** Porción mínima de unas de las unidades estructurales del ácido nucleico (DNA).

**Pedigrís.-** Grado de parentesco de un individuo, generalmente cual es su procedencia y quienes son sus padres.

**Pentanucleótidos.-** Son secuencias de bases nucleicas que se repiten cinco veces sus pares de bases en el genoma. Su extensión comprende de 20 a 100 pares de bases.

**Perfilador.-** Instrumento utilizado para medir organismos de tamaños muy inferiores. Generalmente nauplios de camarones y artemias.

**Poliacrilamida.-** Sustancia química altamente tóxica. Sus exposiciones directas y seguidas producen efectos cancerígenos. Se utiliza para crear un tejido denso en el cual se tiñen bandas de DNA amplificadas

**Polimerasa.-** Enzima que enlaza nucleótidos entre sí para formar cadenas polinucleótidas.

**Polimórficos.-** Coexistencia de distintas formas genéticamente determinadas en una población. Exhiben un gran número de alelos variables en una muestra.

**Polimorfismo.-** Es la existencia de dos o más alelos de un gen presentes en una población, en una frecuencia significativa

**Postlarva.-** Estadios posteriores de los organismos (Después de larvas), generalmente después de dos semanas de haber existido.

**Presión de selección.-** Factores que influyen la dirección de la selección natural, generalmente la presión utilizada en un proceso de selección.

**Primers.-** (Iniciadores). Constituidos por una secuencia de bases nucleótidas, es un elemento necesario para el proceso de replicación del DNA en el PCR. El primers se ubica en la cadena molde para empezar la respectiva replicación a la cadena originaria.

**Productividad.-** Cantidad de materia orgánica, o su equivalente a materia seca, carbono, o contenido energético, que se acumula durante un determinado período de tiempo.

**Proteínas.-** Una molécula compuesta por una o más cadenas de aminoácidos. Las proteínas desempeñan una amplia gama de actividades vitales en la célula.

**Proteinaza K.-** Sustancia que rompe las proteínas de un tejido en la extracción del DNA para facilitar el proceso del PCR.

**Radioactividad.-** Es cuando los átomos que constituyen la materia suelen ser, generalmente, estables pero algunos de ellos se transforman espontáneamente y emiten radiaciones que transportan energía.

**Rotíferos.-** Son organismos pluricelulares, de pequeño tamaño, visibles a través de microscopía óptica. Presentan un órgano rotatorio, con cilios, de movimiento giratorio, creando fuertes corrientes de agua que le sirven para captar su alimento.

**Tandem.-** Colocados unos tras otros.

**TEMED.** - Químico utilizado para la preparación de los geles de poliacrilamida en el proceso de electroforesis.



**Termocicladores.-** Equipo utilizado para llevar a cabo el proceso de PCR. Este aparato realiza los ciclos en tiempos y temperaturas programadas de forma exacta.

**Tetranucleótidos.-** Son secuencias de bases nucleicas que se repiten cuatro veces sus pares de bases en el genoma. Su extensión comprende de 20 a 100 pares de bases.

**Transiluminador.-** La técnica de transiluminación, hoy se hace indispensable en el tratamiento de las patologías venosas, Pediatría, Neonatología y Anestesiología Infantil, en tanto que facilita el trabajo con precisión sobre la zona afectada, y agiliza el proceso con menor incidencia de riesgo.

**Trinucleótidos.-** Son secuencias de bases nucleicas que se repiten tres veces sus pares de bases en el genoma. Su extensión comprende de 20 a 100 pares de bases.

## ABREVIATURAS

**AFLPs.-** Amplified fragment length polymorphism (Amplificación de fragmentos polimórficos de longitud).

**APS.-** Ácido persulfato.

**CTAB.-** Cetyl-trimetil-Amonium bromide (Cetil-trimetil-Bromuro de amonio).

**CHELEX.-** Reactivo utilizado para la extracción del tejido de los organismos y obtener finalmente el ADN.

**DNA.-** Acido dexosiribonucleico.

**DNTPs.-** Desoxiribonucleosidetriphosphate (Desoxirribonucleótidos trifosfatos).

**g.-** Gramo.

**ISSRs.-** Inter-simples secuencia repeat (Entradas simples de secuencias repetidas).

**ml.-** Mililitros.

**PAA.-** Poliacrilamida.

**PCR.-** Polimerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la polimerasa).

**RAPDs.-** Randomly Amplified Polimorphic. DNA (Amplificaciones polimórficas al azar).

**RFLPs.-** Restrictions fragments length polimorphism (Restricción de fragmentos polimórficos de longitud).

**TBE.-** Tampón Tris borate (Tampón tris borato).

**WSSV.-** White spot virus. (Virus de la mancha blanca)

**TSV.-** Virus del síndrome de Taura

**IHHNV.-** Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética

**Tn.-** Toneladas.

**µl.-** Microlitros.

## RESUMEN

El presente trabajo se refiere a la ejecución de pruebas de parentesco en camarón blanco *Litopenaeus vannamei* para selección genética utilizando 14 marcadores moleculares tipo microsatélites (trinucleótidos, tetranucleótidos y nucleótidos) previamente evaluados según el grado de amplificación y el polimorfismo presentado.

Se consideraron 208 reproductores seleccionados y 100 organismos reproductores controles provenientes de un programa de selección realizada en el CENAIM. Se utilizó el tipo de extracción de DNA con el método de Chelex. Se extrajeron los pleópodos de los organismos reproductores controles y seleccionados, se tomó una pequeña porción de tejido y se procedió al procesamiento respectivo de las muestras. Las muestras fueron amplificadas mediante PCR y se procedió a la visualización de las bandas a través del proceso de electroforesis empleando la tinción de nitrato de plata.

El genotipado de las muestras de los individuos se realizó con un software específico llamado Gene Profiler para determinar la frecuencia alélica de la población muestreada. Para la determinación de parentesco se utilizó otro software que es el *Kinship* 1.2 y conocer de esta manera el grado de parentesco y consanguinidad de los reproductores. La reconstrucción de los pedigrí se lo realizó con el software *Kingroup* (Konovalov et al., 2004), este permite calcular

relaciones de pedigrí basadas en frecuencia de alelos de la población. Finalmente se escogió a los individuos no emparentados y aptos para los respectivos cruces.

Los cruces fueron por copula natural y por inseminación artificial entre reproductores Seleccionados-Seleccionados, Seleccionados-control y Control-Control. Al final se obtuvieron tres tratamientos diferentes (S-S, S-C, C-C) de organismos los cuales fueron muestreados y evaluados en cuanto a crecimiento hasta estadio de postlarva 15, con los datos obtenidos de la variable estudiada se realizó un análisis de anova simple para establecer probabilidad de las líneas en general y conocer diferencias estadísticas significativas en los tres tratamientos evaluados. Los datos fueron analizados mediante la prueba de Scheffe para determinar diferencias mínimas entre líneas seleccionadas y cual fue la mejor. El software utilizado para realizar el análisis de todos los datos fue el programa estadístico DataDesk. Los mejores pesos obtenidos al final del experimento presentaron los organismos Seleccionados-Seleccionados seguidos de los Seleccionados-Control y los Control-Control.

# INTRODUCCIÓN

Desde siempre, las diferentes especies animales han estado sometidas a una activa interacción con el medio ambiente, lo cual ha generado un gran número de genotipos adaptados a diferentes condiciones locales, ampliando la diversidad genética. Sin embargo, en las últimas décadas esta diversidad genética se ha visto severamente reducida por las exigencias del mercado. Ante esta situación, uno de los desafíos actuales es buscar la manera de incentivar la conservación y uso racional de los recursos genéticos (Becerra V. Paredes M, 2000).

La reducción de la variabilidad genética en las poblaciones de mejoramiento es el resultado de la selección direccional y la endogamia por consanguinidad y deriva genética. El aumento del número de familias y/o individuos selectos por familias promueve el mantenimiento de la variabilidad genética, no obstante con frecuencia reduce las ganancias genéticas; en tanto que el poco número de familias o individuos selectos por familias, puede incrementar la ganancia genética, pero reducir la diversidad (Zelener *et al*, 2003).

La conservación y utilización de los recursos genéticos es de importancia estratégica para la humanidad. Las regiones centro y sudamericana son consideradas como los centros de mayor diversidad biológica del mundo; de hecho varias especies de

importancia acuícola se han originado en estas regiones (Becerra V y Paredes M, 2000).

Los crustáceos son sin duda, son unos de los grupo de especies más importante en la acuicultura en el mundo, encabezados por el cultivo del camarón blanco. A la par a su elevada tasa de crecimiento, la industria camaronícola esta enfrentando problemas de diversa índole que frenan su desarrollo. Por ello, es necesaria la investigación permanente sobre los aspectos que le permitan optimizar su producción y hacer frente a nuevos retos y problemáticas (Portillo, G 2005).

En cuanto al sector camaronero, se ha desarrollado enormemente durante los 20 últimos años a nivel mundial, y como resultado de esto, muchos países han reforzado su producción camaronera. Sin embargo ese desarrollo se ha visto frenado debido a graves problemas que han amenazado fuertemente la producción, como por ejemplo la aparición de ciertos patógenos virales y la falta de líneas seleccionadas para alta productividad.

En 1998, la industria camaronera del Ecuador se convirtió en la segunda industria de mayor importancia de exportación. Antes de la llegada de la mancha blanca, el camarón fue en el Ecuador el tercer producto de exportación.

Con el fin de incrementar la productividad, se han puesto en marcha programas de selección y mejoramiento genético, para obtener organismos de mayor peso y de buena calidad sin tener que reducir la variabilidad genética en los individuos. Gracias a la tecnología, los programas de mejoramientos genéticos pueden ser acelerados al incluir técnicas moleculares basadas en DNA (Erazo E, 2002). Estas técnicas pueden facilitar estrategias como el monitoreo y la identificación de líneas, familias e individuos, control de sanguinidad y el diagnóstico de características hereditarias, dando como resultado el mejoramiento mediante la selección y combinación de genes favorables (Lester 1999; Davis y Hetzel, 2000).

La utilización de la biología molecular en los programas de mejoramiento genético brinda la posibilidad de realizar la selección genética a nivel fenotípico y genotípico pudiendo mejorar rápidamente las características que tienen baja heredabilidad (Fjalestad et al., 2003).

Los marcadores moleculares o de ADN presentan un patrón de herencia conocido y muestran polimorfismo, es decir, presentan distintas variantes o "alelos" del marcador dentro de la población bajo estudio.

Los marcadores basados en microsatélites han demostrado ser útiles para la rápida identificación y diferenciación de familias de camarones mediante PCR. Estos marcadores presentan algunas limitaciones debido a la ocurrencia de "alelos nulos" o



a productos de tamaño idéntico que contengan secuencias distintas, por lo que es recomendable que la amplificación por PCR se complemente con análisis de RFLP y secuenciación toda vez que la amplificación por PCR no identifique directamente los alelos.

Al momento en el Ecuador el uso de microsatélites para el mejoramiento genético en camarones es una realidad gracias al trabajo realizado por CENAIM (Pérez 2002). Con la utilización de los microsatélites es fácil realizar una selección genética, ya que la diversidad o frecuencia alélica presentadas en estos, nos permite determinar si existe o no grado de parentescos entre una población dada, y escoger a los individuos no emparentados para realizar el respectivo cruce y obtener de esta manera ganancias genéticas.

En los programas de selección, muchas veces se obtienen ciertas ganancias genéticas utilizando altas presiones de selección, pero esto conduce a que se pierda la variabilidad. Aún con una presión de selección muy alta es posible seleccionar animales de diferente contenido genético, aunque en proporciones muy bajas. La mayoría de los animales seleccionados pertenecerán a muy pocas familias. Si no contamos con información de lineage, los hijos que resulten de los cruces presentaran alta consanguinidad, producto del cruzamiento entre hermanos. En el caso del camarón blanco, se ha demostrado que la consanguinidad es negativa para caracteres

asociados a la producción; por tanto en un programa de mejoramiento debe evitarse por completo el cruce de individuos emparentados (Pérez 2003).

EL DNA es la molécula que contiene la información genética para el funcionamiento de todo ser vivo, al ser transmitida de padre a hijos, esa información es compartida entre individuos emparentados. El análisis del DNA permite estudiar un amplio rango de problemas biológicos utilizando la información contenida dentro de cada individuo (Pérez 2003).

La selección para el mejoramiento genético en especies acuícola en el Ecuador puede realizarse en base a tres sistemas: selección masal, selección familiar y walk back selection.

El sistema de selección familiar nos permite tener información de los pedigrís de la población, y evitar de esta manera la consanguinidad. Consiste en la evaluación de grupos de hermanos, derivados de diferentes cruces bajo condiciones similares.

Para esta selección se recomienda utilizar un número mínimo de 50 familias por ciclo de selección. Las familias son levantadas en forma separada hasta que alcancen un tamaño de aproximadamente 1 g. Una vez alcanzada esta talla, los animales de cada familia son marcados con elastómeros (marcas de diferente color) con el propósito de diferenciar a los individuos de cada familia; luego son sembrados en forma conjunta

en piscinas de evaluación estadística, bajo prácticas de manejo comercial para el respectivo levantamiento de tamaño de cosecha.

A cosecha los animales son recuperados y se toman datos de supervivencia, crecimiento y presencia de enfermedades. Los datos son evaluados y se puede generar un índice de selección integrado. Animales de las mejores familias son a su vez seleccionados y utilizados como padres para la próxima generación. Finalmente se reinicia el ciclo de selección para seguir con los pasos previamente indicados. Este esquema exige una alta inversión, debido a la necesidad de instalaciones dedicadas a la actividad y al personal especializado.

La selección masal es un proceso mucho más simple y económico que la selección familiar. Los animales a seleccionar son manejados bajo un esquema de producción comercial y al momento de la cosecha se procede a escoger los animales con mayor talla para utilizarlos como padres de la siguiente generación. Debido a la relación que existe entre presión de selección y pérdida de la variabilidad genética las presiones de selección recomendadas van del orden del 20 al 10%.

En un proceso de selección masal, la ganancia genética está dada por la fórmula:

$$G = I * SD * h^2$$

Donde I corresponde a la intensidad de selección, SD es la desviación estándar de la población bajo selección, y  $h^2$  es la heredabilidad del carácter en selección. De esta

ecuación el término I es el que más fácilmente puede variar y por ende influenciar de manera importante en la ganancia genética.

Presiones intensas de selecciones altas inducen pérdidas de la variabilidad genética, debido a que se seleccionan animales emparentados con alta frecuencia. Esto lleva a que durante la multiplicación de la línea seleccionada se produzcan entre individuos emparentados (consanguinidad), lo cual es negativo ya que induce pérdidas en el rendimiento de caracteres comerciales, por ejemplo crecimiento y supervivencia. En el esquema de selección masal tradicional no se cuenta con información de pedigrí de los animales en mejoramiento.

Las poblaciones naturales poseen alta variabilidad genética, que son el resultado de miles de años de adaptación a condiciones bióticas y abióticas cambiantes (Sunden y Davies, 1991 y Wolfus et al., 1997). Además, poblaciones con variantes alélicas únicas y genéticamente diferenciadas deben tener un manejo especial para prevenir la pérdida de biodiversidad genética (Grandjean y Schlotterer, 1999). Sin información de pedigrí, ni de variabilidad genética, y con alto grado de consanguinidad en los cruces de animales de selección masal, se produce entonces una rápida erosión genética, que está directamente relacionada con la intensidad de selección utilizada.

El sistema de genotipado de walk back selection ha ganado terreno en programas de mejoramiento de especies acuícolas, lo cual ha permitido realizar selecciones más

eficientes (Herginger et al., 1995) y tomar decisiones de selección independientes de los individuos con características deseadas pero que han sido favorecidos por causas ambientales (García y Benzie, 1994).

Este sistema permite seleccionar individuos mediante altas presiones de selección. Los animales seleccionados son genotipados con marcadores moleculares y el grado de parentesco y los pedigrís son determinados. Animales no emparentados y aquellos que presentan variantes alélicas interesantes o en baja proporción son utilizados como progenitores de la siguiente generación. Con ese esquema se elimina el problema de consanguinidad y se conserva la variabilidad genética total contenida en el grupo de animales seleccionados. El sistema de Walk Back Selection ha sido implementado en salmón y truchas (Norris et al., 1999; O'Reilly et al., 1998) y con este método se elimina el manejo de animales en forma separada como en el caso de familias lo cual reduce los costos del programa de selección.

## JUSTIFICACIÓN

En las últimas décadas ha existido un notorio aumento en los marcadores genéticos disponibles para estudios de diversidad genética. Algunos de ellos tienen diferentes bases moleculares, pero todos están enfocados a determinar la organización de la estructura genética en las poblaciones naturales y cultivadas. Además, ellos muestran la similitud entre y dentro de las poblaciones evitando el efecto ambiental (Becerra V. Paredes M, 2000).

Conocer la similitud entre los individuos y las poblaciones es de gran utilidad en los programas de mejoramiento genético, pues permite, además de la organización del material la selección adecuada de los genotipos superiores y la complementación con datos fenotípicos para el desarrollo de una población mejorada (Vierling, R.A, *et al* 1992).

Las técnicas de biología molecular, basadas en el análisis de ácidos nucleicos (PCR, microsatélites, AFLP, etc.), permiten la incorporación de nuevas alternativas para acelerar los procesos de selección. De esta forma, es posible explorar aspectos teóricos y prácticos relacionados con la genética de plantas, mejoramiento y análisis de germoplasma. El esfuerzo está concentrado en la aplicación de técnicas que permitan acelerar y reducir costos de los métodos convencionales de mejoramiento

y/o crear nuevas estrategias en donde la aplicación clásica encuentra dificultades. Esta disección de la información genética, que surge de técnicas de análisis molecular más accesibles y eficientes aplicadas en el laboratorio, pueden ser posteriormente correlacionadas con los avances que se obtienen en los ensayos de campo mediante el uso de la bioinformática (Bermeo 2003).

La implementación de marcadores tipo microsatélites se han convertido en una herramienta fundamental para determinar el parentesco de los individuos, y sin duda alguna constituyen un avance muy importante en el desarrollo de la biología molecular y la genética en general; Su utilización ha revolucionado todo el campo, y los resultados obtenidos hasta el día de hoy en cuanto a perfiles genéticos, mapas de construcción genética, pruebas de parentescos y otros son satisfactorios.

Realizando pruebas de parentescos podremos incrementar la variabilidad genética del camarón *Litopenaeus vannamei*, y evitar de esta manera una consanguinidad en la línea mejorada. Con los resultados obtenidos de estas pruebas podemos seleccionar a los padres de la siguiente generación cruzando individuos que presenten diferentes perfiles genéticos.

La presente investigación pretende aplicar la técnica de microsatélites a un grupo de animales seleccionados y otro grupo control que el CENAIM ha levantado dentro de su programa de genética. La información colectada servirá para determinar el grado

de parentescos (pedigrí) de esos animales y en base a esos datos se realizarán cruces dirigidos entre individuos no relacionados genéticamente.

La importancia de trabajar con organismos seleccionados genéticamente constituye a un incremento a las ganancias en cuanto a producción ya que las generaciones siguientes de individuos presentarán mayores pesos, mayor longitud y lo que es muy importante no se pierde la variabilidad genética de los individuos. Con un ciclo de selección genética habremos obtenido ganancias del 10 % en peso, lo que significa que con diez ciclos de selección se habrá incrementado al doble las ganancias en cuanto a producción y los ingresos económicos se habrán duplicados solamente trabajando con camarones genéticamente seleccionados.



# OBJETIVOS

## OBJETIVO GENERAL

- Generar líneas seleccionadas para alto crecimiento mediante pruebas de parentesco para incrementar la productividad de la actividad camaronera.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar parentescos en un grupo de reproductores de *Litopenaeus vannamei* utilizando marcadores moleculares tipo microsatélites.
- Obtener el grado de conservación de variabilidad genética utilizando microsatélites en una población derivada de cruces dirigidos.

## **HIPÓTESIS**

- Los marcadores moleculares tipo microsatélites son útiles para las pruebas de parentesco en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

### **HIPÓTESIS NULA**

- Las pruebas de parentescos determinaron alta consanguinidad de los organismos evaluados, tanto controles como seleccionados.

### **HIPÓTESIS ALTERNA**

- Baja consanguinidad en las pruebas de parentesco, permiten el cruce de los animales controles y seleccionados.

# **1. PROGRAMAS DE MEJORAMIENTOS GENÉTICOS**

## **1.1. TECNOLOGÍAS GENÉTICAS**

Los científicos han desarrollado una serie de técnicas bioquímicas y genéticas mediante las cuales el ADN puede ser separado y transferido de una célula a otra. Algunos de esos métodos de laboratorio ayudan a los investigadores a estudiar las propiedades de los genes en la naturaleza (permiten, por ejemplo, comparar los ADN de diferentes animales para establecer distancias evolutivas). Otras técnicas de ADN constituyen herramientas básicas en el campo de la ingeniería genética (alteración de genes de un organismo). Esas herramientas son utilizadas en la industria para desarrollar productos comerciales tales como cosechas más resistentes a la desecación o a las plagas, microorganismos capaces de descomponer compuestos contaminantes como hidrocarburos o petróleo, o capaces de producir determinados compuestos útiles en medicina en grandes cantidades como la insulina, el interferón o determinadas vacunas (Bailey y Bains 2003; y Benítez 2004).

Las moléculas de ADN de cualquier forma de vida tienen la misma estructura y están constituidas por las mismas cuatro bases nitrogenadas, por lo que los científicos han utilizado esas similitudes para introducir uno o más genes de un organismo en otro

diferente. Estos nuevos genes llegan a ser funcionales en el organismo receptor y a producir la proteína deseada. Esta tecnología del ADN recombinante es la que se ha utilizado para obtener grandes cantidades de determinadas proteínas como la insulina, necesaria para los organismos (Bailey y Bains 2003; y Benítez 2004).

## **1.2. METODOLOGÍAS MOLECULARES**

Las metodologías moleculares han revolucionado todo el campo de la genética, el polimorfismo basado en el DNA, se ha usado para la construcción de mapas de ligamientos, estrategias de selección asistida por marcadores, identificación de especies, estudios de genéticas de poblaciones y pruebas de parentescos (Araneda C 1999). El uso de marcadores moleculares en la genética ha permitido solucionar un sin número de problemas en el campo; unos de estos es el conocer el parentescos de un número de organismos de una población determinada, es decir cuantas posibles familias existen en una población, de las cuales se desconoce el pedigrí.

Los primeros marcadores desarrollados a finales de la década de los 70, se basaron en la identificación de proteínas e isoenzimas por electroforesis en geles de almidón o poliacrilamida. Con ellos se abrió el conocimiento de la estructura y heterogeneidad genética entre diferentes especies, variedades, y poblaciones de distinto origen geográfico. Pero esta técnica tenía una limitación muy importante: no era capaz de detectar suficiente polimorfismo entre variedades o especies próximas debido a que las proteínas son el resultado de la expresión génica, que puede ser distinta de unos

tejidos a otros, de una etapa de desarrollo a otra, de un medio ambiente a otro, y de una época del año a otra (Claros G 2003). Actualmente, los avances en biología molecular han incorporado nuevos marcadores, de naturaleza molecular y de mayor sensibilidad para detectar cambios en el genotipo de los individuos, situación que ha permitido grandes avances en este tipo de estudios (Becerra V. Paredes M, 2000). Los marcadores genéticos son una importante herramienta con la cual se obtiene información genética disponible en un organismo (Ranamukhaarachchi et al., 2000).

Las técnicas moleculares permiten, en general, sondear la complejidad y variabilidad del contenido genético de los organismos. Este tipo de información puede servir para múltiples objetivos que cubren un amplio rango desde el individuo hasta las categorías taxonómicas más amplias. Las principales aplicaciones a las que se les puede dar a las técnicas moleculares son: identificación individual, sexo, paternidad, parentesco, filogenia intraespecífica, especiación, hibridación, introgestión, filogenia de especies, macroevolución y aplicaciones en biología de la conservación.

Aunque el uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética es limitado por el costo de los reactivos, y en algunos casos por el elevado costo de los equipos, los avances técnicos que estas tecnologías han alcanzado en los últimos años, los hacen más accesibles a los genetistas y a los programas de mejoramiento. Ambos tipos de análisis son complementarios en la caracterización morfológica y agronómica del germoplasma y en el entendimiento de la diversidad y

estructura genética de las poblaciones, especies y taxas (Becerra V. Paredes M, 2000).

Existen diferentes tipos de marcadores moleculares, la mayoría de ellos son derivados de la aplicación de la Reacción en cadena de la polimeraza o PCR. Un buen marcador molecular debe reunir una serie de características para maximizar su utilidad: una buena distribución a lo largo del genoma, alto grado de polimorfismo, la técnica para utilizar el marcador debe ser rápida y práctica y debe poder repetirse con fiabilidad en otros laboratorios (Arenguren y Jordana 2002).

Todas las tecnologías que engloban a los marcadores moleculares para la identificación de genotipos de interés mediante análisis de fragmentos (microsatélites, AFLP's, SNP's, etc....) son susceptibles de ser analizadas a través de la instrumentación existente en la Unidad de Secuenciación (Cousinou y Pérez 2004).

En familias obtenidas por cruzamiento entre especies muy distantes filogenéticamente, cualquier marcador codominante suele ser útil, sin embargo, cuando los parentales están genéticamente más relacionados, es más difícil encontrar variabilidad en cada locus. Por esto, la eficiencia de los microsatélites aumenta respecto a la de isoenzimas, debido a que presentan mayor grado de polimorfismos (Ruiz C 2002).

### 1.3. MARCADORES MOLECULARES

Desde la prehistoria, el hombre ha seleccionado y mejorado especies vegetales, animales y microbianas basándose en el fenotipo. Las mejoras genéticas eran posible gracias a la variabilidad genética, a la heredabilidad del carácter que se quería aislar, a la eficacia e intensidad de la selección aplicada, y al tiempo necesario para realizar un ciclo de selección. Sin embargo, quedan muchos aspectos desconocidos, como son el número y efecto de los genes implicados en la expresión de un carácter, la localización de estos genes, y su función fisiológica. Por otra parte, la taxonomía siempre ha estudiado características morfológicas, lo cual requiere observaciones muy exhaustivas de los organismos en diferentes estadios de desarrollo. Los criterios utilizados carecen muy a menudo de definición y objetividad y, en cualquier caso, son marcadores ambiguos debido a las influencias ambientales (Claros G 2003).

Afortunadamente la aparición de los marcadores moleculares está ayudando a eliminar tanto los inconvenientes de una selección basada en el análisis exclusivo del fenotipo, como la identificación de especies y variedades de una forma más rigurosa y repetitiva (Claros G 2003).

De forma metafórica, un marcador es como una señal de humo dentro de la información hereditaria (el ADN). Nos permite identificar la presencia de un gen a gran distancia y de forma sencilla. Dependiendo del carácter, nos serán útiles unos u otros marcadores. Actualmente, existe un gran número de marcadores de ADN. Basta

decir aquí que los más utilizados son los llamados "microsatélites". El análisis de qué marcadores están asociados a caracteres de interés económico se facilita enormemente si se dispone de un mapa genético (Pérez-Enciso M, 1998).

#### **1.4. MARCADORES GENÉTICOS**

Existen varias herramientas para evaluar el estado actual de la diversidad genética en las poblaciones naturales producto de los avances en biología molecular (Silva y Ruso, 2000). Los marcadores genéticos se basan en la información contenida en las proteínas o en el DNA de cada individuo, y han aparecidos en una gran variedad de formatos. Marcadores basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han sido diseñados para detectar diferencias en la secuencia de DNA. Sin embargo la elección entre una técnica y otra depende de la disponibilidad de equipos, factibilidad económica y cantidad de variación detectada (Silva y Ruso 2000).

El desarrollo de los marcadores genéticos de DNA ha marcado una revolución en la genética en general. La aplicación de marcadores genéticos ha permitido el rápido progreso en investigaciones de variabilidad genética en acuicultura, reproducción, asignación de parentales, identificación de especies, y construcción de mapas genéticos de alta resolución. Los requerimientos, ventajas y desventajas de los varios tipos de marcadores son discutidos, junto con sus aplicaciones en una variedad de estudios, así como la manera de explotar de forma eficiente sus potenciales en la acuicultura genética (Liu y Cordes 2004). La utilización del ADN como método de



identificación individual tiene una serie de aplicaciones. Sin embargo, también existen una serie de limitaciones que es conveniente tener en cuenta con el fin de establecer el marco operativo. Dos de esas limitaciones son el costo inicial de implementación y la variabilidad detectada con esos marcadores (Cañón et al., 2002). En el caso de *Litopenaeus vannamei* y debido al trabajo base realizado localmente por CENAIM, esas limitaciones han sido superadas.

A nivel de programas de mejoramiento genético en camarones se ha demostrado el potencial uso de marcadores específicos para familias considerando su variabilidad, utilizando diferentes técnicas como: RAPDs (Randomly Amplified Polymorphic DNA) (García et al., 1994), DNA mitocondrial (García-Machado et al., 2001), microsatélites o SSRs (Short Sequence Repeats) (García et al., 1996) y RFLPs (García y Benzie, 1995). Una nueva fuente de marcador genético, los ISSRs (Inter-Simple Sequence Repeat) sobrepasan algunas de las limitaciones encontradas con las técnicas de isoenzimas, RAPDs y RFLPs (Ratnapark et al., 1998).

### **1.5. MARCADORES MOLECULARES TIPOS MICROSATÉLITES**

Los marcadores moleculares tipo microsatélites constituyen unos de los métodos recientes para evaluar poblaciones cultivadas y silvestres. Se caracterizan por ser secuencias simples repetitivas compuestas de uno a seis bases nucleotídicas, que se repiten en tándem a lo largo del DNA, en organismos eucariotas. Son excelentes marcadores genéticos moleculares porque son codominantes, es decir se puede

diferenciar ambos alelos presentes en un individuo. Además son altamente polimórficos, exhibiendo un gran número de bandas variables y se ajustan a los modelos de segregación mendeliana (Goldstien y Schlötterer, 1999).

Los microsatélites son fáciles de separar y medir mediante electroforesis (Rahman, 2000) y por ello han sido aplicados para analizar diversidad genética y diferenciación en poblaciones silvestres de camarón. Frente a otras técnicas de marcadores codominantes como RFLPs tienen la ventaja de que se los puede amplificar mediante PCR a partir de pequeñas cantidades de DNA. A este se suma, que su detección es más rápida y económica porque puede ser hecha con métodos de tinción de plata. Este punto es fundamental ya que facilita su implantación en laboratorios con bajos nivel de equipamientos.

En la década de los 50 la electroforesis comenzó a ser utilizada en estudios de diversidad genética. Básicamente la electroforesis es una técnica que separa moléculas por su movilidad diferencial a través de un solvente en un campo eléctrico (Becerra V. Paredes M, 2000).

Cuando los microsatélites son amplificados por medio del PCR, utilizando un par de oligonucleótidos flanqueantes como iniciadores, muestran un alto polimorfismo debido a diferencias en longitud de fragmento. El alto polimorfismo se debe fundamentalmente a errores de copias del microsatélite mediante deslizamientos

accidentales de la polimeraza (slippage) durante la copia in vitro del DNA. Además por ser altamente polimórficos se los encuentra distribuidos aleatoriamente en el genoma, a diferencia de los VNTR (variable numbers of tandem repeats) (Fries, 1993) los productos amplificados por PCR y los tamaños de las bandas pueden ser determinados exactamente en geles de alta resolución (Herbinger *et al.*, 1995). Los microsatélites permiten determinar los pedigrís (Herbinger *et al.*, 1995) y conocer el grado de parentescos de los animales en base a datos obtenidos.

Los microsatélites son muy atractivos para los genetistas pues combinan varias ventajas como son su codominancia, multiallelismo y su alta heterocigocidad. El alto nivel de polimorfismo que detecta permite una discriminación precisa entre individuos altamente emparentados. Además de ser altamente polimórficos, los microsatélites usan cantidades mínimas de ADN, equivalentes a las que se usan en RAPD. Las condiciones de amplificación y de reacción son especie-específicos y la variación en el largo de los productos amplificados mediante PCR es función del número de unidades repetidas (Becerra V. Paredes M, 2000).

En general, la amplificación de microsatélites ha demostrado que éstos son más variables que isoenzimas, RFLP, AFLP y RAPD. Por ejemplo, en *Cucumis* 29 isoenzimas no mostraron polimorfismo entre dos genotipos comerciales. Dentro del mismo género RAPD detectó un 38% de polimorfismo, mientras que los microsatélites detectaron un 71%, e incluso detectaron diferencias genéticas entre

cultivares altamente emparentados que mediante otras técnicas no habían podido ser distinguidos. Es así como se ha comprobado, en diversas especies, la complementariedad de todas las técnicas mencionadas anteriormente en el estudio global de la organización genética del germoplasma (Senior, M.M., *et al* 1995).

Los microsatélites SSRs son secuencias de bases nucleótidas que se presentan en el genoma de forma repetitiva, sus repeticiones van de dos a seis pares de bases, es decir pueden ser dinucleótidas, trinucleótidas, tretranucleótidas, pentanucleótidas, sextanucleótidas (Glick y Pasternak, 1998), etc, y su extensión comprende de 20 a 100 pares de bases (Goldstein Schlotterer, 1999), pueden estar ubicados en zonas codificantes como los genes, en áreas no codificantes en las cuales no ejercen función alguna.

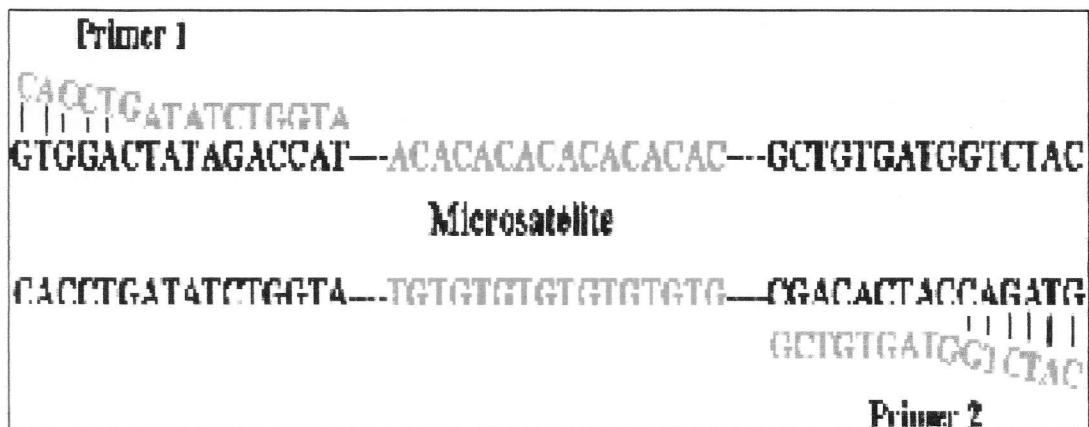


Figura 1. Ejemplo de un microsatélite dinucleótido (Tomado de: [http://www.avpa.ula.ve/articulos\\_libres/AVPAconservacion.pdf](http://www.avpa.ula.ve/articulos_libres/AVPAconservacion.pdf).)

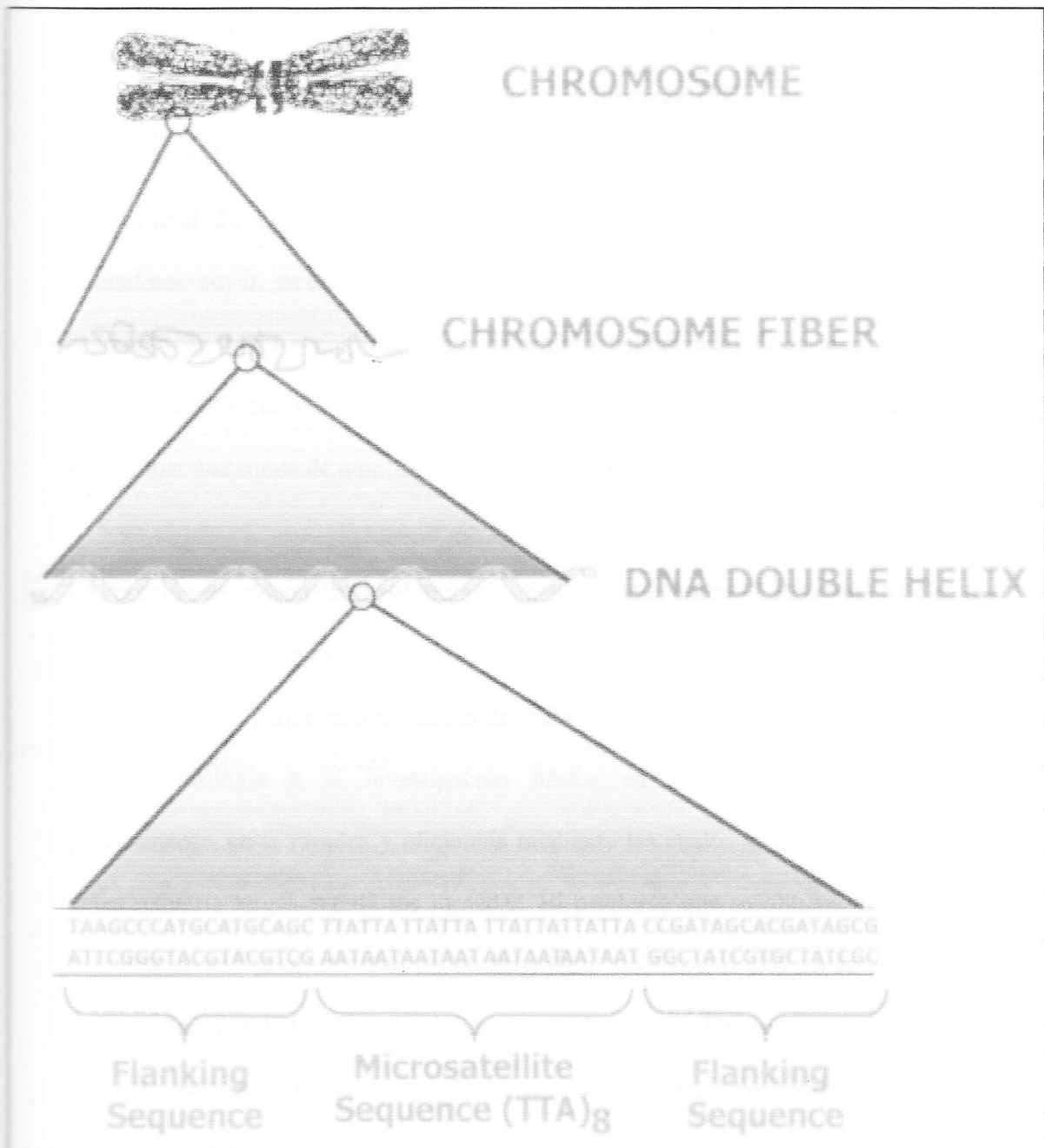


Figura 2. Anatomía de un microsatélite (Tomado de: [http://asicoaquaticmarkers .com /AnatomyofaMicrosatellite.htm](http://asicoaquaticmarkers.com/AnatomyofaMicrosatellite.htm))

## **1.6. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERAZA**

El desarrollo la Reacción en Cadena de la Polimeraza (PCR) ha revolucionado el campo de la Biología Molecular. El principio básico de la PCR es la amplificación exponencial de la secuencia ADN molde, utilizando oligonucleóticos sintéticos iniciadores cuyas secuencias corresponden con la secuencia blanco y delimitan el segmento de ADN a amplificar. La naturaleza exponencial de la amplificación se logra mediante ciclos repetidos de desnaturalización, hibridación y extensión, que conforman una ronda de amplificación. (Jhan A, Michaud A 2005).

La reacción en cadena de la polimeraza, más conocida como PCR, es una técnica que permite replicar entre cientos de miles y millones de veces, en el transcurrir de pocas horas e in vitro, pequeñas cantidades de ADN. Uno de los aportes fundamentales de esta metodología a la investigación básica en biología molecular consiste, precisamente, en la rapidez y eficiencia mediante las cuales se realiza una tarea que antes requería largas y tediosas jornadas. El producto que se obtiene al finalizar la reacción es una gran cantidad de un fragmento génico con alto grado de pureza y favorece la tarea de los investigadores empeñados en ampliar nuestros conocimientos sobre la estructura y función de los genes. Por su alta sensibilidad, esta técnica permite identificar un gen a partir de un solo cabello, una célula somática o un espermatozoide (Satz, L y Kornblihtl, R. 993).

Partiendo de este principio, la reacción en Cadena de la Polimeraza se basa en la repetición de un ciclo formado por tres etapas: La primera es la desnaturalización del ADN doble cadena, la segunda la hibridación de los iniciadores a la zona 3' específica de cada una de las hebras y la tercera la extensión del cebador por actuación de la DNA polimeraza.

En la primera etapa (desnaturalización) la doble hélice de ADN se separa en dos hebras. Para ello se realiza una incubación de la muestra a altas temperaturas (93-97°C). La renaturalización se producirá cuando la temperatura disminuya. En el segundo paso (hibridación) los cebadores se unen a las zonas 3' complementarias que flanquean el fragmento que queremos amplificar. Se realiza gracias a la bajada de la temperatura (50-65° C). En la tercera etapa (elongación) se produce la síntesis de una cadena sencilla (produciéndose un fragmento de doble cadena por la complementariedad) en la dirección 5'→ 3' mediante la enzima DNA polimeraza, la cual incorpora los desoxinucleótidos fosfato presentes en el medio siguiendo la cadena molde. Todos estos pasos se pueden apreciar en la siguiente gráfica.

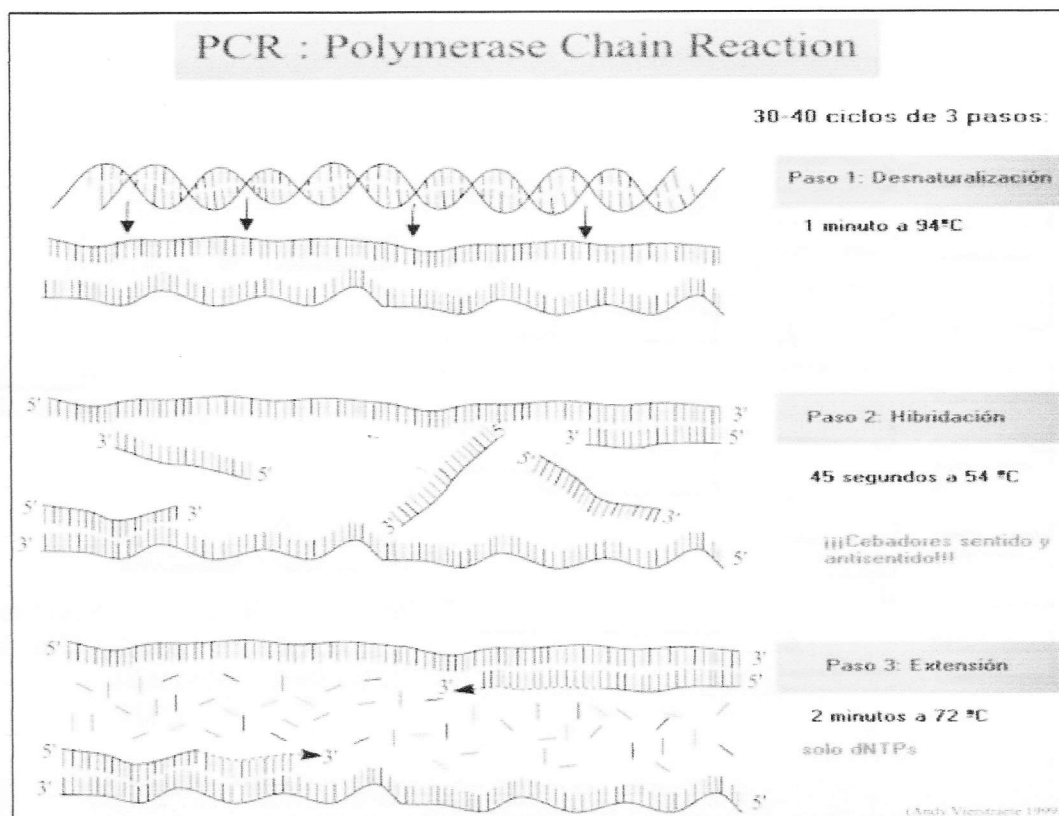


Figura 3. Pasos básicos del PCR (Tomado de: Andy Vierstracte 1999).

Observemos ahora en la figura siguiente que una vez completado el primer ciclo, disponemos de 2 copias de la muestra original, al final del segundo ciclo tenemos 4, al final del tercero 8...Si los ciclos se producen un número "n" de veces y suponiendo que el número de copias de ADN se duplica en cada ciclo, obtenemos una cantidad de ADN de  $2^n$ , por lo que la amplificación se realiza en forma de progresión geométrica (Prescott M y Harley M, 1999).



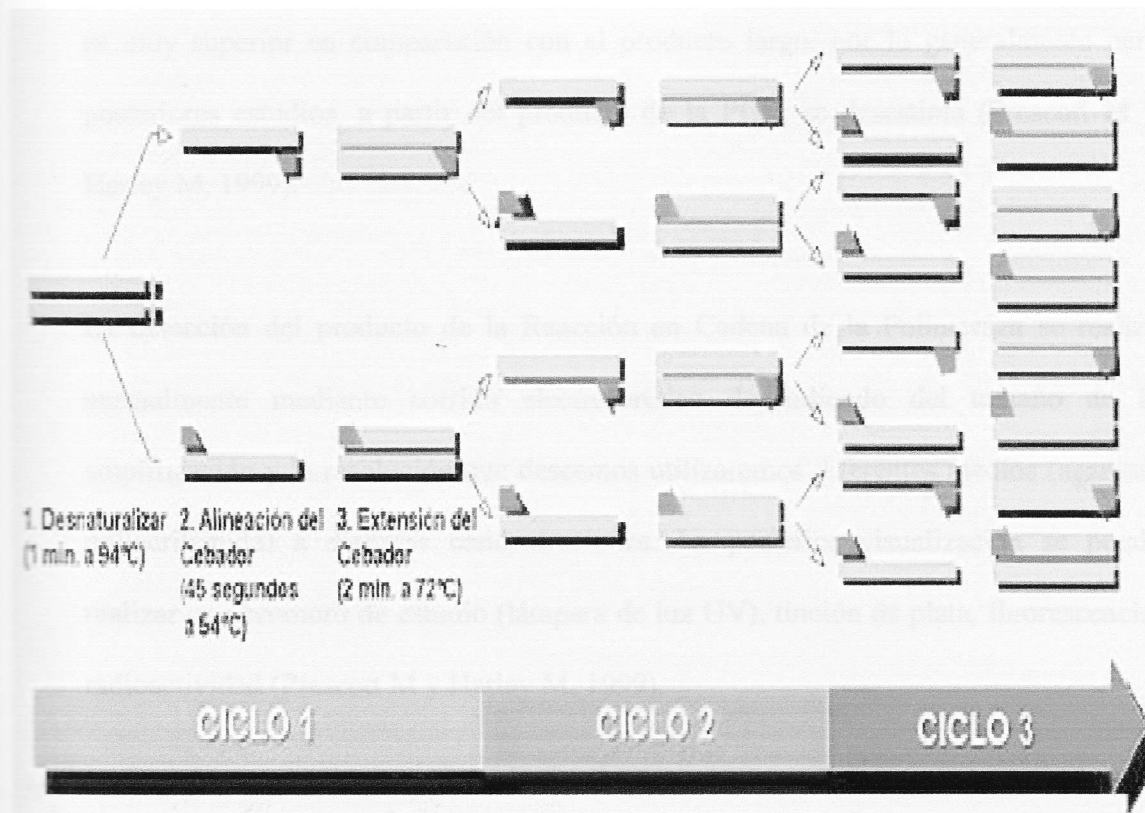


Figura 4. Amplificación exponencial del PCR (Tomado de: [http://biotec.amgen.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/amgen/pak\\_biotec.muestradoc](http://biotec.amgen.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/amgen/pak_biotec.muestradoc)).

Es importante recalcar que los productos obtenidos tras la tercera etapa son de dos tipos: "producto corto" y "producto largo". El producto corto tiene una longitud perfectamente definida por los extremos 5' de los cebadores y contiene exactamente la secuencia que se desea amplificar. Es el fragmento que se almacena de manera exponencial durante la reacción. El producto largo es el que incorpora las cadenas de ADN originales de la muestra y cuyos extremos 3' no están definidos. Sin embargo,

es importante aclarar que al final de la PCR, la cantidad del producto corto sintetizado es muy superior en comparación con el producto largo, por lo generalmente para posteriores estudios, a partir del producto de la PCR, se desestima (Prescott M y Harley M, 1999).

La detección del producto de la Reacción en Cadena de la Polimeraza se realiza normalmente mediante corrido electroforético dependiendo del tamaño de la amplificación y la resolución que deseemos utilizaremos diferentes medios (agarosa, poliacrilamida) a distintas concentraciones. La posterior visualización se puede realizar con bromuro de estudio (lámpara de luz UV), tinción de plata, fluorescencia, radioactividad (Prescott M y Harley M, 1999).

En la actualidad se desarrollan métodos para poder cuantificar el producto de la PCR, visualizando in situ sobre tejidos (Cao, Y. y cols, 2000). Lo que hace prever un crecimiento, si cabe mayor, del uso de la técnica de la PCR.

### **1.7. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS DE DNA**

Una vez que un fragmento interesante de ADN se ha aislado o identificado, los científicos necesitan determinar si la secuencia de nucleótidos de dicho fragmento es un gen conocido o qué clase de proteína puede estar produciendo. Esta técnica permite determinar la secuencia específica (el orden preciso de bases nucleótidas) de un fragmento de ADN. La mayoría de los tipos de secuenciación utilizan la técnica de

extensión de oligonucleótido ideada por el británico Frederick Sanger. Esta técnica se puede utilizar por ejemplo para detectar mutaciones relacionadas con enfermedades tales como la fibrosis quística, o bien para alterar la secuencia de un gen y estudiar la función de la proteína resultante.

Los analizadores genéticos que se encuentran en la unidad, se basan en electroforesis capilar y detección inducida por láser. Estos equipos permiten además de la secuenciación automática de DNA, realizar análisis genético utilizando fluorescencia para detectar los fragmentos generados. Esta metodología utiliza cebadores marcados fluorescentemente con los mismos fluorocromos que se emplean para la secuenciación.

Mediante un programa de análisis se detectan los diferentes fragmentos que se ha generado. Este software ofrece un análisis sencillo y rápido ya que en una misma inyección se pueden correr hasta 3 muestras distintas puesto que al ir marcadas con fluorocromos distintos en el análisis se discrimina por colores (Díaz y Gascó 2004).

El análisis del tamaño de los fragmentos de DNA permite numerosas aplicaciones como es el estudio de microsatélites en una población, estudios de DNA fingerprinting mediante técnicas AFLPs, pruebas de paternidad, pruebas forenses, etc.

Se pueden utilizar hasta 4 marcadores fluorescentes simultáneamente (uno de ellos reservado para el marcador de tamaños moleculares) y combinar diferentes tamaños alélicos en la misma muestra por lo que por cada capilar en una misma electroforesis se pueden analizar multitud de fragmentos.

Debe evitarse el uso de aceite mineral en las reacciones de PCR. En algunos casos puede ser necesario un paso de purificación de los fragmentos (precipitación con etanol o purificación con "kits" específicos) antes del proceso de electroforesis.

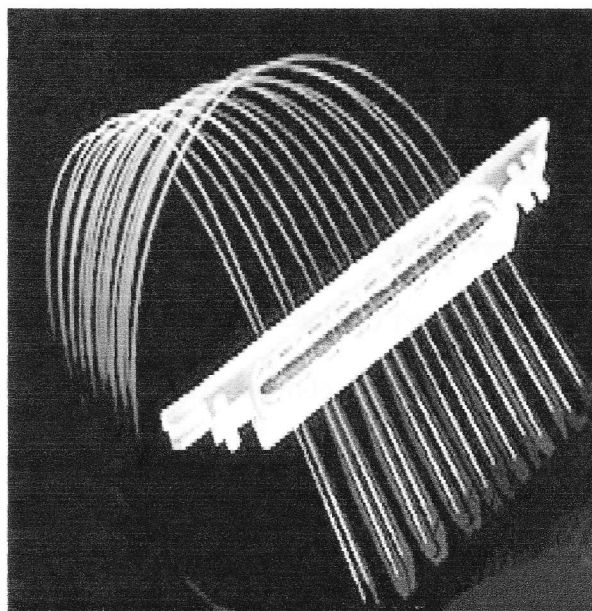


Figura 5. Análisis de fragmento de DNA (Tomado de <http://www.unileon.es/investigacion/ltiir/saan.htm#fragmentos>).

## 1.8. VENTAJAS DEL ANÁLISIS DE DNA UTILIZANDO MICROSATÉLITES

Es muy importante y fundamental la utilización de los microsatélites, pero el tiempo y costo involucrado en el proceso del diseño de cada partidador es alto, sin embargo existe la posibilidad de usar los mismos partidadores en más de una especie. Esto es debido, a que existe un grado de conservación de los microsatélites entre genomas de especies tan distantes como son algunos mamíferos, plantas anuales y perennes (Wang, Z.Y., *et al* 1992).

La identificación y verificación de parentesco basados en el ADN aumentan significativamente el valor del registro animal y constituyen la base para una mejora genética continuada. El análisis del ADN microsatélite realizado en miles de animales con la finalidad de establecer su identificación y parentesco ha sido reconocido en los registros de animales de pura raza en todo el mundo. Las ventajas que ofrece este procedimiento consisten en que:

- Determinan la identidad y el parentesco con gran precisión.
- Establecen un registro permanente de identidad.
- Certifican el parentesco asegurando una carta genealógica correcta y la fiabilidad del registro de sementales.

- Proporcionan una verificación independientemente de los apareamientos y de la inseminación artificial.
- Facilitan la creación y mantenimiento de una base genética para futuros exámenes diagnósticos relacionados con productividad, reproducción y enfermedades.

### **1.9. PRUEBAS DE PARENTESCOS CON MICROSATÉLITES.**

Las pruebas de parentesco mediante marcadores de ADN (microsatélites, SSCP's, SNP's) precisan el conocimiento de sus frecuencias alélicas en la población originaria (Jamieson, 1994). La proporción de bandas compartidas entre dos individuos estima la semejanza de sus patrones de bandas y, por tanto, sus relaciones genéticas, por lo que permite descartar la existencia de relaciones genéticas entre individuos (Grunder et al., 1994),

Con las pruebas de parentescos, se pretende incrementar la variabilidad genética en camarón *Litopenaeus vannamei*, evitando la consanguinidad en la línea mejorada. Se ha reportado el cálculo de las estimaciones de parentescos entre y dentro de poblaciones a partir de marcadores genéticos, mostrando una alta correlación entre las asignaciones de parentescos a través de pedigrí y las asignaciones por el método de los alelos compartidos (Bjornstad y Roed, 2001; Eding y Meuwissen, 2001).

El principio de las pruebas de parentescos utilizando marcadores microsatélites, es comparar su genotipo y/o su fenotipo de una población determinada. Según el principio mendeliano de los dos alelos que presenta un individuo, uno proviene de la madre y otro del padre, en el análisis de parentesco, los organismos presentarán bandas homocigóticas como heterocigóticas y se sabrá a cuantas posibles familias pertenece esta población (Arenguren J 2002).

Las pruebas de parentescos han permitido determinar la relación genética que existe entre poblaciones diferentes de individuos o grupos de individuos de una misma población y saber también el grado de consanguinidad de estos. Con datos como estos ha sido posible seleccionar poblaciones silvestres de organismos y someterlos a las evaluaciones y al análisis respectivo, de esta manera se ha podido cruzar a los individuos no emparentados genéticamente y obtener descendientes mejorados genotípicamente y con un mayor volumen en cuanto a peso y tamaño que sus propios progenitores.

#### **1.10. MEJORAMIENTO GENÉTICO**

La utilidad de los microsatélites para la efectividad de un programa de mejoramiento genético en familias de *Litopenaeus vannamei* ha sido demostrado mediante análisis de la variabilidad genética, segregación mendeliana y agrupamiento del lineage, determinando previamente la existencia de alelos nulos en las familias (Vivanco 2004).

Conocer la similitud entre los individuos y las poblaciones es de gran utilidad en los programas de mejoramiento genético, pues permite, además de la organización del material la selección adecuada de los genotipos superiores y la complementación con datos fenotípicos y para el desarrollo de una población mejorada (Becerra V. Paredes M, 2000).

Los programas de mejoramientos genéticos especialmente en camarones se están realizando en base a metodologías de selección siguiendo el esquema de producción normal; con esto se pretende obtener individuos mejorados genéticamente cuyo peso y tamaño sea superior al de sus progenitores. Los programas de mejoramientos genéticos implican un proceso a mediano plazo, ya que por cada ciclo de selección se obtiene una ganancia de un 10% en peso y tamaño, esto quiere decir que por diez ciclos de selección habremos doblados a la mitad en cuanto a crecimiento y en producción, y obtenido ganancias económicas sumamente representativas para el sector camaronero en general. Ganancias más altas podrían ser posibles con el uso de poblaciones base de mayor variabilidad genética acoplado al uso de marcadores moleculares (Pérez F, 2004).

#### **1.11. ESTUDIOS REALIZADOS CON MICROSATÉLITES**

Los programas de mejoramientos utilizados en camarones que han resistido a enfermedades y con altas tasas de crecimiento, esta constituyendo sin duda alguna como unos de los pasos más importantes dentro de un proceso de selección genética.



Se ha realizado la optimización y aislamiento de microsatélites en camarón (Vivanco, 2004), y unas de las ventajas de trabajar con microsatélites con repeticiones grandes es justamente su facilidad de lectura en las bandas porque no hay repeticiones erróneas.

Los trabajos realizados en identificación de camarones evaluando también poblaciones naturales y cultivadas de camarón Tigre (*Penaeus monodon*) en Filipinas utilizando siete microsatélites han demostrado han demostrado diferencias genéticas significativas en poblaciones de camarones silvestres (Xu *et al.*, 2001).

Los trabajos de parentescos realizados en otros organismos acuícolas como por ejemplo la crianza en truchas utilizando microsatélites ha permitido seguir con un programa de mejoramiento genético y evitar cruzamientos entre organismos emparentados (consanguinidad). Con esto también se puede llegar a identificar a grupos de organismos de diferentes familias a partir de las características genéticas de los padres (Herbinger *et al.*, 1995).

Así mismo en México, se esta desarrollando tecnologías para el cultivo de crustáceos utilizando marcadores moleculares tipo microsatélites ([//www.cibnor.mx/](http://www.cibnor.mx/)), con esto de pretende optimizar los recursos y producción y hacer frente a nuevos retos y problemáticas en la acuicultura en ese país.

En Colombia unos de los objetivos de la acuicultura es producir animales que serían utilizados como una población, que sería utilizada en prácticas comunes de conservación como es la introducción, la reintroducción y el reforzamiento de poblaciones naturales. Teniendo en cuenta todo esto se hace necesario estudiar la estructura genética de las poblaciones silvestres. Para esto se utilizó muestras musculares de organismos y algunos microsatélites para evaluar la pérdida de la variabilidad genética (Santacruz D, et al. 2001).

#### **1.12. SELECCIÓN MASAL PARA CRECIMIENTO Y RESISTENCIA**

La necesidad de animales seleccionados para la producción comercial extensamente ha sido reconocida por la industria de camarón. El empleo de animales mejorados genéticamente mejorará la productividad y aumentará el mantenimiento de la industria a largo plazo. Los resultados de selección para el crecimiento y la resistencia de enfermedad en la especie de camarón son alentadores. Argue et al., (2002) relatan un beneficio del 21 % para el crecimiento y un aumento del 18.4 % en la resistencia TSV que usa un esquema de selección de familia en *Penaeus vannamei*.

Sin embargo la selección de familia es un gran esfuerzo, que no podrían estar disponibles para la mayor parte de países de producción. Por otra parte, la selección masal es un proceso mucho más simple que puede ser llevado en condiciones comerciales con instalaciones producción, maduración y charcas.

La selección masal también ha mostrado el potencial interés para el crecimiento. En *P. stylirostris*, presiones de selección variables (del 4 a 18 %) han dado un beneficio total del 21 % en cinco generaciones (Goyard et al., 2002). En Venezuela se trabajó con selección masal con presión de selección del 50 % y mostró un aumento del 14.5 % en el índice de crecimiento semanal y el 17 % sobre la supervivencia general en 11 ciclos de selección. El efecto combinado del índice de crecimiento y supervivencia probablemente mejorará la dirección condicionada a la producción y aumentará de 1.2 a 2.1 ton/Ha durante el período de selección (de Donato et al., 2005).

Heredabilidades para el crecimiento en la especie de camarones diferentes han sido descritos antes, mostrando a una amplia gama de valores (Argue et al., 2002),  $0.42 \pm 0.15$  (Carr et al., 1997),  $0.17 \pm 0.06$  y  $0.340 \pm 0.18$  (Pérez-Rostro y Ibarra, 2003 a, b), 0.16 a 0.31 (Hetzl et al., 2000), 0.10 y 0.39 (Benzie et al., 1997), 0.47 (Goyard et al., 2002) y  $0.24 \pm 0.05$  y  $0.17 \pm 0.04$  (Gitterle et al., 2005). La mayor parte de los datos relatados muestran que el crecimiento es un carácter con el moderado a alta heredabilidad; de ahí, un programa de selección masal debería generar el beneficio genético. El potencial de selección masal está relacionado directamente con la presión de selección en una población criadora donde la variación fenotípica, expresado como la desviación estándar y la heredabilidad son fijados. Una presión de selección del 10 % dará el beneficio genético a casi la mitad comparado con una presión de selección del 1 %.

Teóricamente la principal obligación para un proceso de selección masal es la pérdida de variabilidad genética cuando altas presiones de selección son aplicadas. La disminución de variabilidad microsatélite debido a la selección o domesticación ha sido demostrada usando a los individuos de generaciones diferentes en varias especies (Romana-Eguia et al., 2005, Norris et al., 1999, Skaala et al., 2004, Liu et al., 2005).

Aquellos estudios fueron desarrollados usando el material biológico sacado de criar programas donde el número eficaz de antepasados era bajo. La pérdida de variabilidad genética y carencia de información de pedigrí en un proceso de selección masal que conduce al aumento de niveles de inbreeding. En *P. japonicus* una disminución del 6.23 % de variabilidad genética fue encontrada por cada 10 % de inbreeding (Key et al., 2004).

La producción comercial de larvas es diferente en los programas de cría establecidos. En Ecuador, un criadero genera más de 100 cruces por noche para la producción comercial de nauplios y larvas. Este número permitiría la variabilidad genética en niveles buenos y reduciendo al mínimo inbreeding de ser acoplado con una dirección sana genética. El enganche de la producción comercial con un programa de selección masal permitirá a la transferencia del beneficio genético sin retrasos la realización de un programa de cría con precios bajo. Este enganche sería posible debido a los números de parte de la progenie producida en el camarón, el alto número de los individuos que son levantados durante el crecimiento hacia y el período en charcas de

producción y las altas presiones de selección que pueden ser aplicadas. Las publicaciones de enfermedades como WSSV, TSV, IHNV y NHP tendrían que ser más dirigidas. Sin embargo, la presencia de estas enfermedades será similar a los niveles reales ya que la mayor parte de la producción mundial usa unos individuos seleccionados como antepasados. La evaluación inicial de enfermedad libera a antepasados por PCR para su empleo en el criadero y en el programa de cría podría ser posible, añadiendo un nuevo nivel de seguridad (Motte et al., 2003).

Con este trabajo apuntamos a la evaluación de la pérdida de variabilidad genética debido a un alto proceso de selección masal de presión en el camarón blanco, *P. vannamei* en la producción comercial que usa la información de microsatélites. Información de microsatélite también fueron usados para evaluar el nivel de diferenciación genética inducida por la selección, midiendo distancias genéticas entre el seleccionado y control de individuos.

## **2. METODOLOGÍA EMPLEADA PARA LA EJECUCIÓN DE LAS PRUEBAS DE PARENTESCOS**

La fundación CENAIM-ESPOL esta destinada a al investigación científica, desarrollo y difusión de la tecnología en el área de acuicultura y afines. El Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM) “Edgar Arellano M” esta ubicado en el recinto San Pedro, parroquia Manglaralto del Cantón Santa Elena en la provincia del Guayas. Esta fundación ofrece oportunidades para realizar tesis de grado en sus instalaciones. Cuenta con muchas áreas de trabajos dedicadas a la investigación científica, entre ellas se encuentra el área de genética que fue en donde se realizó el trabajo de investigación previo a la obtención del titulo de Biología Marina. El departamento de genética cuenta con todos los equipos necesario para realizar investigaciones de todo tipo como la utilización de marcadores moleculares, construcciones de mapas genéticos, pruebas de parentescos entre otros.

### **2.1. Obtención de muestras**

Para la obtención de las muestras, fueron considerados 100 organismos reproductores controles y 208 reproductores seleccionados provenientes de una selección (familiar o masal), realizada en el CENAIM. Los organismos control se diferenciaban por tener un elastómero de color rojo, y los seleccionados de color verde y amarillo.

Los reproductores fueron colocados en tanques diferentes tanto controles como seleccionados para tenerlos separados por tratamiento y tener un mejor control de ellos. Los datos de extracción, codificación de anillos, peso en gramos y sexo fueron apuntados en una planilla de control, para luego ser ingresados a una base de datos.

## **2.2. MANEJO DEL EXPERIMENTO**

Los individuos fueron pescados de los tanques de maduración con un challo, se procedió a tomar el peso respectivo de cada uno de ellos en una gramera. Con la ayuda de una pinza y una tijera, se extrajo un pleópodo de cada individuo, luego se los marcó con anillos de plástico y un código para facilitar su identificación. Las muestras fueron depositadas en ependorf con 1,5 ml de etanol al 100 %, con su identificación respectiva.

### **2.2.1. Extracción de DNA**

De las muestras obtenidas (pleópodos) se extrajo una porción de tejido, se las enjuagó en agua destilada (para liberar el alcohol) y se los colocó en ependorf de 1,5 ml, para posteriormente realizar la extracción de DNA utilizando el método de *Chelex* (anexo 1). Esta extracción empieza colocando la proteinasa K que rompe las proteínas del tejido, y adicionándole una cantidad determinada de *Chelex*, luego es sometido a altas temperaturas para liberar las moléculas de DNA. La parte final de la extracción es la centrifugación de la muestra para precipitar de esta manera lo que no se va a utilizar y recuperar únicamente el sobrenadante (ver anexo 1). Siguiendo un protocolo de

extracción muy minucioso se obtuvieron concentraciones de DNA considerables los cuales servirán para la amplificación respectiva; las muestras reposan en ependorf de 1,5 ml colocados en gradillas plásticas.

Las muestras son guardadas en frío a una temperatura de -20 °C hasta su inmediata utilización. Cuando se las va a amplificar se las descongela y se vuelve a centrifugar y de esta manera utilizar solamente las partículas de DNA disueltas en la muestra.

### **2.3. PRUEBAS DE INICIADORES (PRIMERS)**

Para saber el grado de amplificación y el polimorfismo de los iniciadores, se realizaron extracciones de DNA tanto con el método de *Chelex* como el método de CTAB (anexo 2). Para esto se utilizaron 5 de las muestras obtenidas, probando una serie de iniciadores trinucleótidos, tetranucleótidos y pentanucleótidos (Ortiz, J 2004), de los cuales se consideró el grado de amplificación y el polimorfismo presentado.

Se siguió con los procedimientos indicados de PCR, amplificación, electroforesis, análisis de geles, para conocer los resultados de la prueba. Al final se evaluó el mejor método de extracción y los iniciadores a utilizar en el experimento, los cuales resultaron ser 14 de un número de 63 primers, con un método de extracción de *Chelex* que resultó ser el más indicado y el que mejor resultado presentó en el ensayo.



#### **2.4. AMPLIFICACIÓN DE MUESTRAS (PCR)**

La reacción en cadena de la polimerasa, ya más conocida como PCR, es una técnica que permite replicar entre cientos de miles y millones de veces, en el transcurrir de pocas horas in Vitro, pequeñas cantidades de ADN. El tramo destinado a reproducirse puede tener desde cincuenta hasta más de dos mil nucleótidos de longitud. El método se basa, en su forma más simple en la realización de tres reacciones sucesivas llevadas a cabo a distintas temperaturas. Estas reacciones se repiten cíclicamente entre veinte y cuarenta veces (Satz L y Kornblihtt A 1993).

Las muestras son amplificadas y para esto se utilizan unos equipos llamados termocicladores, este aparato realiza los ciclos en los tiempos y temperaturas programadas; una vez completados los ciclos hemos tenido millones de millones de moléculas de DNA a partir de una pequeña muestra de tejido. Las muestras estarán listas para ser sometidas a electroforesis.

#### **2.5. INICIADORES UTILIZADOS**

De la prueba de primers realizados inicialmente se seleccionaron un total de 14 primers (trinucleótidos, tetranucleótidos y nucleótidos), los cuales fueron utilizados para la prueba de parentescos en un grupo de reproductores seleccionados y controles procedentes de una selección masal, realizada por el programa de selección llevada a cabo por el CENAIM.

Estos iniciadores fueron evaluados según el grado de amplificación y el polimorfismo presentado, todas las muestras extraídas de los organismos tanto seleccionados como controles fueron amplificadas con estos 14 iniciadores.

## **2.6. ELECTROFORESIS**

### **2.6.1. Armado de placas**

Para empezar el proceso de electroforesis se utilizan placas de vidrios de 3 mm de espesor, con 35 cm de ancho y 45 cm de largo (las pequeñas), y 38 cm de la ancho y 53 cm de largo (las grandes). Estas son lavadas con jabón líquido, desinfectadas con alcohol al 100% y secadas con papel toallas antes de su utilización.

Las dos placas son juntadas en forma paralela a manera de dos tapas; en los bordes de unas de las placas se coloca 120  $\mu$ l de una solución (APS y Glassbond) que actúa como pegante y permite que el gel de poliacrilamida se pegue a la placa, y en la otra placa se le adiciona un antiadherente para que el gel no quede sujeto a esta si no a la otra. La solución pegante es una mezcla de ácido acético y *glassbond* en iguales concentraciones. Una vez unidas las placas son selladas para evitar así que queden espacios por donde pueda regarse la solución de acrilamida cuando estas sean llenadas.

### 2.6.2. Geles de poliacrilamida

Los geles de poliacrilamida pueden ser preparados a diferentes concentraciones y porcentajes, los volúmenes requeridos depende del tamaño de la placa a utilizar, y la concentración de la densidad del gel con la que se desee trabajar. Los reactivos empleados en la preparación de los geles son: agua, TBE, PAA, APS y TEMED; todos estos en concentraciones diferentes. Las soluciones son mezcladas y su utilización debe ser inmediata, ya que las reacciones de estas soluciones producen rápidamente la polimerización de la mezcla. Para la mezcla de las soluciones es importante utilizar un agitador, el cual mantiene en constante movimiento a los reactivos en el momento en que se esta preparando la solución.

Una vez preparada la solución de acrilamida, se coloca de manera cuidadosa en las placas realizando de esta manera el llenado respectivo, aquí se produce la polimerización del gel, y el tiempo requerido para la misma depende de la concentración a la que se haya preparado.

La concentración del gel de poliacrilamida que se utilizó fue del 6 %, y con este las bandas de DNA fueron separadas. El gel debe estar inmerso en una solución de TBE al 0,5X en la parte superior y 1X en la parte superior.

### 2.6.3. Cargado de muestras

Las placas con los geles ya polimerizados son puestos en cámaras verticales de electroforesis, que conectados a una fuente de poder permitirán que funcionen a base de energía eléctrica. Estas placas son puestas en las cámaras y en un lapso de 15 minutos estarán listas para ser utilizadas (Período de precorrida). Las muestras son cargadas en los geles de poliacrilamida con la ayuda de una pipeta y son depositadas en los pozos ubicados en la parte superior del gel polimerizado. Cabe indicar que antes de que las muestras sean cargadas se le coloca una solución tampón (*loading dye*) la cual ayudará a la migración. La cantidad de muestras utilizada para cada cargada es de 2  $\mu$ l, y por una cantidad determinada de muestras se coloca 0,5  $\mu$ l del marcador a utilizar. Mientras más seguido esta el marcador genético, más fácil resulta el análisis del gel.

Las muestras migrarán en la medida que transcurra el tiempo, la velocidad de migración en las cámaras debe ser tal, ya que si se exagera la migración de las muestras no va a ser correcta y el análisis respectivo no va a ser exacto. Generalmente se “corre” las muestras a 400 voltios por un tiempo de 5 horas. Se debe tener muy en cuenta la migración, porque si migran demasiado se perderán y no amplificarán.

Cuando se haya logrado la migración esperada, las placas son retiradas de las cámaras verticales y quedarán listos para la tinción y el revelado que son los pasos finales de la electroforesis.

#### **2.6.4. Tinción de geles**

Para la tinción y el revelado respectivo de los geles se siguió el protocolo de tinción de plata (Dinesh *et al.*, 1995). Este protocolo implica cinco pasos que son: Fijación, Impregnación, Enjuague, Revelado y Stop; se utilizó una gaveta plástica por cada paso. La fijación consiste en una mezcla de etanol al 100 % y ácido acético, la impregnación en nitrato de plata con agua desionizada, El enjuague es solamente agua desionizada, el revelado es una mezcla de hidróxido de sodio, formaldehído y agua desionizada, y por ultimo el stop esta compuesto de carbonato de sodio con agua desionizada. Cada gel de poliacrilamida pasa por una de las gavetas en donde se encuentran las soluciones, y el tiempo de exposición a estas es diferente en cada paso. En el primero se deja por un tiempo de 15 minutos, en el segundo 25 minutos, en el tercero 1 minuto, en el cuarto paso se deja 10 minutos y en el último que es la solución stop el tiempo de exposición es de 3 minutos.

Despues de todo este proceso las bandas de DNA de los geles de poliacrilamida pueden ser visualizadas a simple vista, y quedarán listas para el análisis respectivo. Son puesta en una cámara de luz transiluminador para que su visualización sea la más clara posible.

#### **2.7. BASE DE FOTOS**

Los geles puestos en la transiluminador son fotografiados con la cámara digital utilizando el formato TIFF. Las fotos deben de estar lo más claras posibles para

facilitar el respectivo análisis; estas fotos son almacenadas y bajadas en la computadora para posteriormente ser analizadas mediante un programa software propicio para obtener los resultados que se desea.

## **2.8. ANÁLISIS DE GELES**

Con las fotos guardadas, se empieza a realizar el respectivo análisis de los geles. Para esto se utiliza el programa Gene Profiler, este software permite medir el tamaño de las bandas de los geles amplificados, las bandas a considerarse y los diferentes tipos de alelos presentados. También nos permite conocer cual es la frecuencia alélica y el perfil genético de un grupo de individuos o en una población determinada. Con todos los datos obtenidos en el análisis Gene Profiler podremos conocer el perfil genético de los organismos, el polimorfismo presentado y si las bandas son homocigóticas o heterocigóticas.

## **2.9. DETERMINACIÓN DE PARENTESCO**

Para esto se utilizó otro software que es el *Kinship* 1.2, este programa permite determinar el parentesco de los organismos a analizar. Con el perfil genético de los individuos realizados con *Gene Profiler*, es fácil determinar parentesco, ya que los datos son ingresados a *Kinship* y conoce de esta manera el grado de consanguinidad y parentescos de los organismos.

Kinship permite conocer el grado de parentesco en probabilidades diferentes, con un 90, 99 y 99.9 % lo cual nos indica que basta con que tenga una probabilidad del 90 % para que los organismos sean posiblemente hermanos.

Para la reconstrucción de relaciones de pedigrí y la asignación de grupo de familias y de parentescos fue realizada usando el software *Kingroup* (Konovalov et al., 2004). *Kingroup* calcula relaciones de pedigrí basadas en las frecuencias de alelos de la población entera y nuestros datos demostraron que el grupo de control era una población diferente de los individuos seleccionados.

Con esto se pudo conocer a los organismos que presentan consanguinidad y escoger a los individuos aptos e idóneos (organismos no emparentados) para realizar el respectivo cruce. Los datos proporcionados sirvieron para escoger a los padres de las futuras generaciones de camarones seleccionados en el CENAIM.

## **2.10. MADURACIÓN**

### **2.10.1. Cruces dirigidos**

Los organismos no emparentados fueron electos para realizar los cruces en el departamento de maduración. Tanto machos y la hembras fueron escogidos y se realizaron cruces con reproductores seleccionados como con reproductores controles, esto se lo hizo mediante copula natural y por inseminación artificial. Se trabajó tres días en las copulas e inseminaciones, tanto hembras (completamente maduras) y

machos eran puestos en tanques ovalados de 1 tn para que se realizara la copula, los que no copulaban eran sometidos a inseminación artificial.

#### **2.10.1.1. Copula Natural**

Durante los tres días de trabajo, las hembras completamente maduras fueron colocadas en tanques de 8 tn en los cuales se encontraban los machos, para que fueran copuladas, después del tiempo prudencial de espera (para que sean copuladas) se pescó a las hembras que habían sido copuladas por el macho. Las hembras eran puestas en tanque de desove de 1 tn; se colocó 3 hembras por tanque. La copula natural solamente se hizo entre organismos seleccionados vs control (S-S) y control vs control (C-C).

#### **2.10.1.2. Inseminación artificial**

La inseminación artificial se realizó entre organismos: Seleccionados vs seleccionados (S-S), seleccionados vs control (S-C) y control con control (C-C). Las hembras no copuladas por el macho y en completa madurez fueron sometidas a inseminación artificial. Para esto primeramente se extrajo el esperma del macho y con una pinza se le colocó en el télico de la hembra. Las hembras eran puestas en tanques de 1 tn, se colocó 3 hembras por tanques. Las 7 hembras seleccionadas que fueron inseminadas se las pusieron en tanques por separados, es decir una en cada tanque de 1 tn para obtener 7 familias de 7 cruces diferentes.



Los datos de identificación de los reproductores (código y número del anillo), y números de los tanques en los cuales eran colocados fueron apuntados en una hoja de control para saber cuales eran los organismos cruzados y tener un mejor control de ellos para análisis posteriores. Allí permanecieron hasta que todas las hembras hayan alcanzado el desove total de los huevos.

#### **2.10.2. Obtención de huevos**

A la hora indicada, fueron revisados todos los tanques en donde se encontraban las hembras para observar si el desove era parcial o total. Las hembras desovadas y no desovadas eran retiradas de los tanques de 1 tn y se dejó solamente los huevos, estos fueron desinfectados para ser cosechados al día siguiente. Se chequeó fertilidad de los huevos, y estos datos juntos con los de desoves tanto parciales como totales, fueron apuntados en una hoja de registro.

#### **2.10.3. Obtención de nauplios**

Al día siguiente del desove, la mayoría de los huevos habían ya eclosionado en los mismos tanques de desove, enseguida se procedió con la cosecha de los nauplios. En todos los tanques de desove hubo eclosión de nauplios, estos fueron cosechados y colocados en cascos cosechadores con aireación suficiente. Se colocó los nauplios por tratamientos (S-S, S-C y C-C) de manera independiente y sin mezclarlos. Se observó el porcentaje de eclosión de los huevos y deformidad de los nauplios obtenidos. Así

mismo se contabilizó la cantidad de nauplios obtenidos por litros en cada uno de los cruces realizados por tratamientos y se llevó el registro respectivo.

## **2.11. LARVICULTURA**

### **2.11.1. Siembra de nauplios (estadios tempranos, hasta postlarva 15)**

Los Nauplios fueron llevados al set número 10 de larvas, se los sembró de manera separada por tratamientos en tanques plásticos transparentes de 500 l. La distribución de los tanques para la siembra fue aleatoria. Se utilizó 11 tanques, de los cuales tres correspondieron a los seleccionados-seleccionados (S-S), tres a los seleccionados-control (S-C), y tres a los control-control (C-C), y los dos más correspondieron a dos familias seleccionadas que se sembraron de forma separada. La cantidad de organismos que se sembró fue de 75.000 nauplios por tanque. El alimento que se les dio en estos estadios fue balanceado Molino 55 Plus, rotíferos y artemia, la cantidad de alimento varió de acuerdo con el estadio del organismo. Estos organismos permanecieron aquí desde nauplios hasta postlarva 15.

### **2.11.2. Estadios Posteriores**

Debido a la densidad de la población y al estadio, los organismos fueron trasladados a tanques rectangulares de 1 tn; se utilizó 24 tanques en los cuales se sembró a los organismos por tratamientos; la distribución de los tanques se lo hizo de manera aleatoria. En todos los tanques se colocó aquamats para crear un bloom natural de organismos fitoplanctónicos. Se sembró 1.500 individuos por cada tanque los cuales

fueron contados uno por uno; para la respectiva siembra se colocó a los tratamientos por separados, se utilizó 8 tanques para los seleccionados-seleccionados (S-S), 8 para los seleccionados-control (S-C), y 8 para los control-control (C-C). Se rotuló los tanques para de esta manera tener mejor manejo en ellos. Los tanques fueron forrados con plásticos transparentes para incrementar la temperatura e inhibir el desarrollo del virus de white spot. La alimentación se realiza a base de puro balanceado “Molino 55 plus” y se la hace cada 8 horas, es decir tres dosis al días.

## **2.12. EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE LOS ORGANISMOS**

### **2.12.1. Evaluación de nauplios hasta postlarva 15**

Para evaluar el crecimiento de los organismos, en los primeros estadíos se realizaron mediciones en un perfilador. Los animales son pescados con una malla y colocados en una tarrina, se tomaron muestras de todos los tanques para luego ser puestos en una placa porta objetos y ser vistas en el perfilador. Las mediciones están dadas en mm y se toma medidas solamente de longitud. Los animales medidos son sacrificados para que su medición sea lo más exacta posible. Los datos de medición son apuntados en una hoja de control para despues ser ingresadas a una base de datos. Esta medición de los organismos se realizó solamente hasta estadíos postlarvas 15.

### **2.12.2. Evaluación en prejuveniles**

En los estadíos posteriores, resulta difícil medir a los individuos debido al tamaño que presentan. Para esto se procedió a pesarlos en una balanza analítica. Los organismos

de cada tanque eran pescados con un challo y puestos en tarrinas de manera separada, luego secados con papel servilleta eliminando toda el agua posible para finalmente ser pesadas en la balanza. De 15 a 30 organismos por tanque eran sacrificados para el pesaje, los datos de peso por grupos de individuos se anotaron en una hoja control y se sacó el peso promedio por individuo. Al final los datos eran ingresados a una base de datos. El peso de los individuos se realizó hasta que estos alcanzaron un peso promedio de 1 g en los tres tratamientos (S-S, S-C, y C-C). Al final del peso de los organismos es decir cuando alcanzaron 1 g, los individuos sacrificados (S-S, S-C, y C-C) fueron almacenados en etanol al 100 % y rotulados para realizar futuros análisis de parentescos.

### **2.12.3. Método de selección de muestras**

Para buscar un método de muestreo apropiado y que todos y cada uno de los miembros de la muestra tengan la oportunidad de ser integrados a ella, tanto en la evaluación de nauplios hasta postlarva 15, como en la evaluación en prejuveniles (etapa postsiembra) el método de selección de muestras empleados en este experimento fue realizado de acuerdo a la manera usada en seleccionar los elementos incluidos en la muestra, básicamente un muestreo aleatorio (al azar) simple. Una muestra es extraída al azar cuando la manera de selección es de tal manera, que cada elemento de la población tiene igual oportunidad o probabilidad de ser seleccionado. Una muestra aleatoria es también llamada una muestra probabilística son generalmente preferidas por los estadísticos porque la selección de las muestras es

objetiva y el error muestral puede ser medido en términos de probabilidad bajo la curva normal.

#### **2.12.4. Análisis estadístico**

Los datos obtenidos de la variable estudiada en el experimento fueron evaluados por un análisis de varianza de anova simple para establecer probabilidad de las líneas en general. Una vez que se establecieron y se verificaron las diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ) los datos fueron analizados mediante la prueba de Scheffe para determinar diferencias mínimas entre líneas seleccionadas y cual fue la mejor. El software utilizado para realizar el análisis de todos los datos fue el programa estadístico DataDesk.

### **3. PRUEBAS DE PARENTESCOS EN**

#### ***Litopenaeus vannamei***

##### **3.1. EXTRACCIÓN EMPLEADA**

Al inicio del experimento se emplearon dos métodos de extracción para las respectivas muestras, uno es la extracción de CTAB y el otro es el método de Chelex. 100 muestras de pleópodos fueron evaluaron con los dos métodos y los resultados obtenidos en cuanto a cantidad de DNA en los dos, fueron totalmente diferentes. Fue muy poca la cantidad de DNA extraída del método de CTAB, y estas no abastecían los requerimientos necesarios para las amplificaciones respectivas. En tanto que el método de Chelex fue más efectivo, aunque no es precisamente DNA puro lo que se obtiene al final, sin embargo se hizo amplificaciones con las muestras extraídas con este método y los resultados fueron favorables. Al final todas las muestras a utilizar (Pleópodos) en el experimento fueron sujetas a extracciones de DNA utilizando el método de Chelex.

##### **3.2. INICIADORES UTILIZADOS**

Para determinar el grado de amplificación de los iniciadores, un número de 64 primers fueron puestos a pruebas. Entre ellos 2 primers dinucleótidos, 31 primers trinucleótidos, 16 tetranucleótidos y 16 pentanucleótidos. El grado de amplificación, el tamaño de las bandas y el polimorfismo presentado fue lo que determinó cuales

eran los iniciadores a emplear de todos los utilizados en la prueba. Al final fueron 14 los iniciadores que presentaron los perfiles idóneos y con estos se amplificó todas las muestras a analizar, es decir tanto muestras de organismos controles como seleccionados fueron amplificadas con estos microsatélites.

Tabla 1. Lista de Primers utilizados en la amplificación de todas las muestras

<b>PRIMERS UTILIZADOS</b>				
<b>DINUCLEÓTIDOS</b>				
PRIMERS	CÓDIGO		MICROSATÉLITE	AMPLIFICACIÓN
	FORWARD	REVERSE		
67	AF360007-F1	AF360008-R1	Dinucleotidos	Buena
84	AF360114-F1	AF360115-R1	Dinucleotidos	Buena
<b>TRINUCLEOTIDOS</b>				
PRIMERS	CÓDIGO		MICROSATÉLITE	AMPLIFICACIÓN
	FORWARD	REVERSE		
380	>5602-F1	>5603-R1	Trinucleótidos	Buena
416	>6631-F1	>6632-R1	Trinucleótidos	Buena
431	>5616-F1	>5617-R1	Trinucleótidos	Buena
444	>2501-B-F1	>2501-B-R1	Trinucleótidos	Buena
465	>6596-F1	>6597-R1	Trinucleótidos	Buena
487	>3977-F1	>3978-R1	Trinucleótidos	Buena
<b>TETRANUCLEOTIDOS</b>				
PRIMERS	CÓDIGO		MICROSATÉLITE	AMPLIFICACIÓN
	FORWARD	REVERSE		
387	>6636-F1	>6637-R1	Tetranucleótidos	Buena
435	>7525-F1	>7526-R1	Tetranucleótidos	Buena
548	>5851-F1	>5852-R1	Tetranucleótidos	Buena
<b>PENTANUCLEOTIDOS</b>				
PRIMERS	CÓDIGO		MICROSATÉLITE	AMPLIFICACIÓN
	FORWARD	REVERSE		
339	>6023-F1	>6024-R1	Pentanucleótidos	Buena
362	>2630-B-F1	>2630-B-R1	Pentanucleótidos	Buena
367	>6328-F1	>6329-R1	Pentanucleótidos	Buena
455	>7414-F1	>7415-R1	Pentanucleótidos	Buena

### 3.3. PERFIL GENÉTICO DE LOS ORGANISMOS

El número total de alelos diferentes presentados en este análisis es de 4 a 33 alelos. Esto hace que el número de promedios sea más alto para hembras seleccionadas (6.0) que para las hembras Control (5.1) y machos seleccionados (4.6). El promedio observado en heterocigocidad es más alto para las hembras seleccionadas y machos (0.60 y 0.67 respectivamente) que para el grupo de control (0.58). Los alelos de mayor riqueza desde todos los puntos de vista eran más altos para las hembras seleccionadas (7.1) que para los controles (6.9) y los machos de grupos seleccionados (6.5).

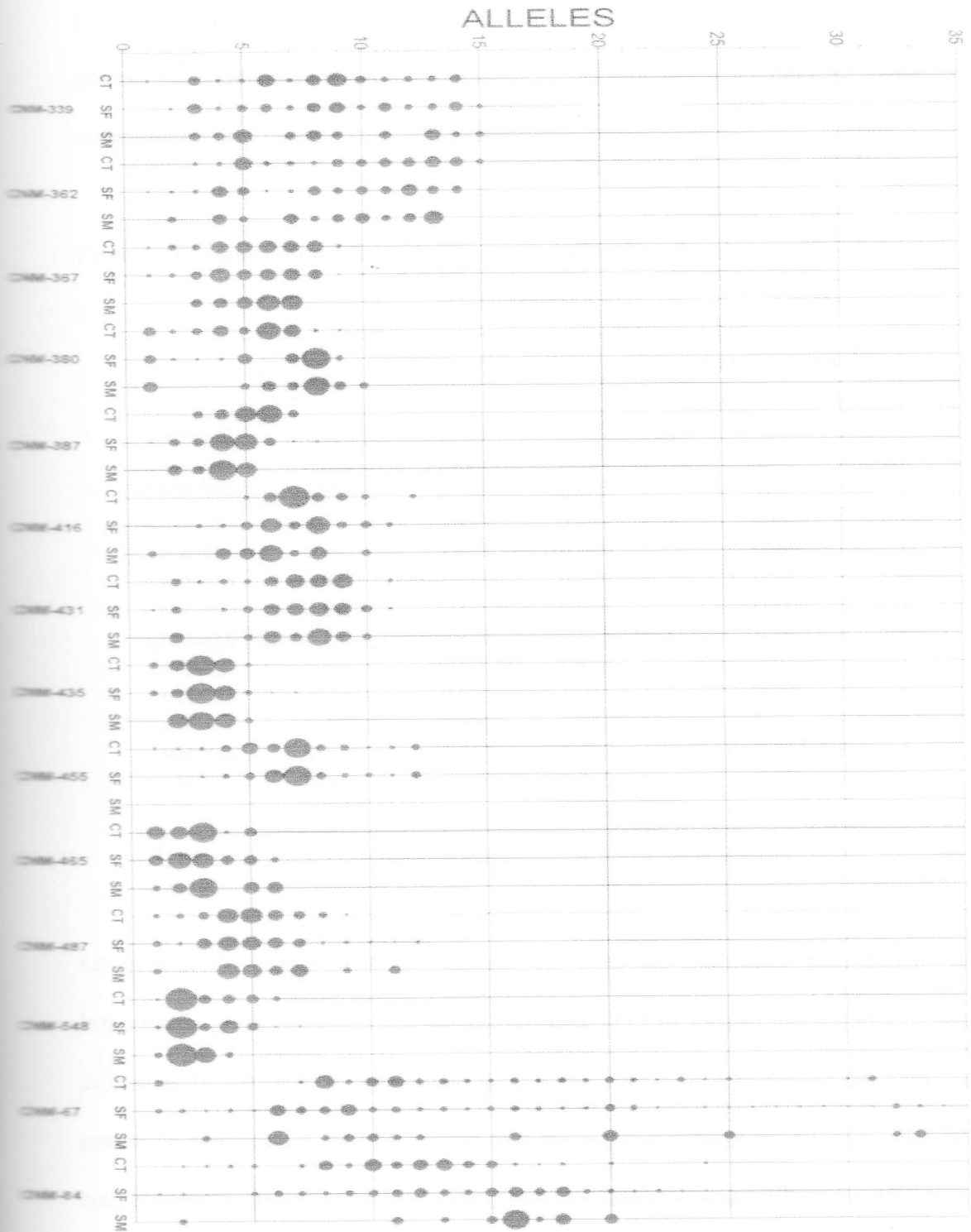
De los 14 microsatélites evaluados, cuatro mostraron la conformación al equilibrio HardyWeinberg en el grupo de control. En el grupo de hembras seleccionadas ningún lugar se conformó al equilibrio HardyWeinberg. En el grupo de machos seleccionados, diez lugares se conformaron al equilibrio HardyWeinberg. Este grupo fue formado por 14 individuos que podrían ser un pequeño tamaño de la muestra para probar el equilibrio HardyWeinberg. Los resultados totales mostraron que los tres grupos no se conforman al equilibrio HardyWeinberg. Los índices de variaciones Genéticas Básicas son presentados a continuación para los 14 microsatélites evaluados y utilizados en *Litopenaeus vannamei*. A continuación se presenta una tabla de las frecuencias alélicas de los diferentes microsatélites (14 microsatélites) analizados en el experimento.



Tabla 2.- Frecuencia de alelos presentados en los catorce microsátélites evaluados

LOCUS	GROUP	n	Na	eN	Ho	He	F	H-W P value	Allele richness
CNM-67	C	85	22	9,3	0,84	0,89	0,06	0,01	10,6
	SF	180	33	12,6	0,91	0,92	0,02	0,00	11,8
	SM	13	12	7,5	0,92	0,87	-0,06	0,59	10,6
CNM-84	C	78	18	8,4	0,40	0,88	0,55	0,00	9,0
	SF	167	24	13,3	0,57	0,92	0,38	0,00	11,3
	SM	13	8	3,8	0,31	0,73	0,58	0,00	7,2
CNM-339	C	84	13	7,2	0,62	0,86	0,28	0,00	8,2
	SF	158	14	9,7	0,73	0,90	0,18	0,00	9,4
	SM	13	10	7,5	0,46	0,87	0,47	0,00	9,3
CNM-362	C	65	13	8,3	0,68	0,88	0,23	0,00	8,9
	SF	148	14	8,7	0,70	0,89	0,21	0,00	8,8
	SM	11	10	7,6	0,73	0,87	0,16	0,10	9,6
CNM-367	C	82	9	6,1	0,89	0,84	-0,07	0,22	6,5
	SF	165	10	5,8	0,73	0,83	0,11	0,00	6,4
	SM	12	5	4,1	0,58	0,75	0,23	0,01	5,0
CNM-380	C	83	9	4,5	0,42	0,78	0,46	0,00	6,2
	SF	94	8	2,8	0,38	0,64	0,40	0,00	5,0
	SM	11	7	3,8	0,55	0,74	0,26	0,05	6,8
CNM-387	C	82	5	3,4	0,30	0,70	0,57	0,00	4,5
	SF	169	8	3,4	0,38	0,71	0,46	0,00	4,8
	SM	11	4	2,8	0,55	0,65	0,16	0,11	4,0
CNM-416	C	70	7	2,4	0,54	0,58	0,07	0,27	5,0
	SF	140	10	4,3	0,64	0,77	0,16	0,00	6,3
	SM	10	7	4,7	0,90	0,79	-0,15	0,13	7,0
CNM-431	C	84	9	5,2	0,60	0,81	0,26	0,00	6,3
	SF	135	10	6,0	0,54	0,83	0,35	0,00	6,8
	SM	11	7	4,7	0,64	0,79	0,19	0,06	6,8
CNM-435	C	85	5	2,7	0,60	0,63	0,05	0,04	3,9
	SF	168	7	2,6	0,62	0,62	0,00	0,01	4,0
	SM	13	4	3,1	0,62	0,67	0,09	0,65	3,8
CNM-455	C	65	12	3,8	0,29	0,74	0,60	0,00	12,0
	SF	105	10	3,3	0,30	0,69	0,58	0,00	9,7
	SM	0							
CNM-465	C	71	5	3,0	0,76	0,67	-0,14	0,26	4,1
	SF	133	6	4,2	0,61	0,76	0,20	0,00	5,3
	SM	12	5	3,1	0,83	0,68	-0,23	0,61	4,8
CNM-487	C	85	9	4,7	0,62	0,79	0,21	0,05	6,3
	SF	181	12	5,5	0,71	0,82	0,13	0,00	6,6
	SM	13	7	4,8	1,00	0,79	-0,26	0,63	6,5
CNM-548	C	81	6	2,0	0,58	0,51	-0,14	0,20	4,3
	SF	162	7	2,3	0,60	0,56	-0,08	0,00	4,0
	SM	12	4	2,1	0,67	0,52	-0,28	0,33	3,7
AVERAGE	C	78,6	10,1	5,1	0,6	0,8			6,9
	SF	150,4	12,4	6,0	0,6	0,8			7,1
	SM	11,1	6,9	4,6	0,7	0,7			6,5

Tabla 3.- Frecuencias alélicas de los diferentes microsatélites evaluados durante el



Casi todos los microsatélites a excepción de dos (CNM-367 y CNM-435) de los 14 probados mostraron la diferenciación estadística en la frecuencia alélica entre los tres grupos. La estadística de F y los resultados de diferenciación demográfica para cada microsatélite es presentado a continuación.

Tabla 4.- F estadístico y diferenciación demográfica de cada microsatélite evaluado

LOCUS	F STATISTICS			POPULATION DIFFERENTIATION
	Fis	Fit	Fst	EXACT TEST P-value
CNM-339	0,308	0,329	0,029	0,00
CNM-362	0,202	0,222	0,025	0,00
CNM-367	0,086	0,105	0,020	0,08
CNM-380	0,373	0,443	0,111	0,00
CNM-387	0,401	0,449	0,080	0,00
CNM-416	0,022	0,143	0,124	0,00
CNM-431	0,269	0,281	0,017	0,00
CNM-435	0,047	0,059	0,012	0,56
CNM-455	0,589	0,776	0,456	0,01
CNM-465	-0,044	-0,001	0,041	0,00
CNM-487	0,026	0,038	0,012	0,01
CNM-548	-0,164	-0,127	0,032	0,00
CNM-67	0,006	0,043	0,038	0,00
CNM-84	0,496	0,530	0,068	0,00
Mean	0,187	0,235	0,076	0,00*

La prueba de probabilidad combinada del Pescador empleada para probar la importancia global de estructura demográfica en TFDGA mostró que los grupos son diferentes ( $P < 0.000$ ). El porcentaje de prueba para la diferenciación demográfica puesta en práctica en FSTAT mostró que los machos y hembras seleccionados no eran diferentes, mientras ambos grupos eran considerablemente diferentes del grupo

de control ( $P < 0.05$ ). Nei (1972). Las distancias Genéticas eran más altas entre el grupo control y los machos seleccionados (0.38) que entre el control y el grupo seleccionado de hembras (0.24). La distancia entre los machos seleccionados y hembras seleccionadas era más corta (0.14).

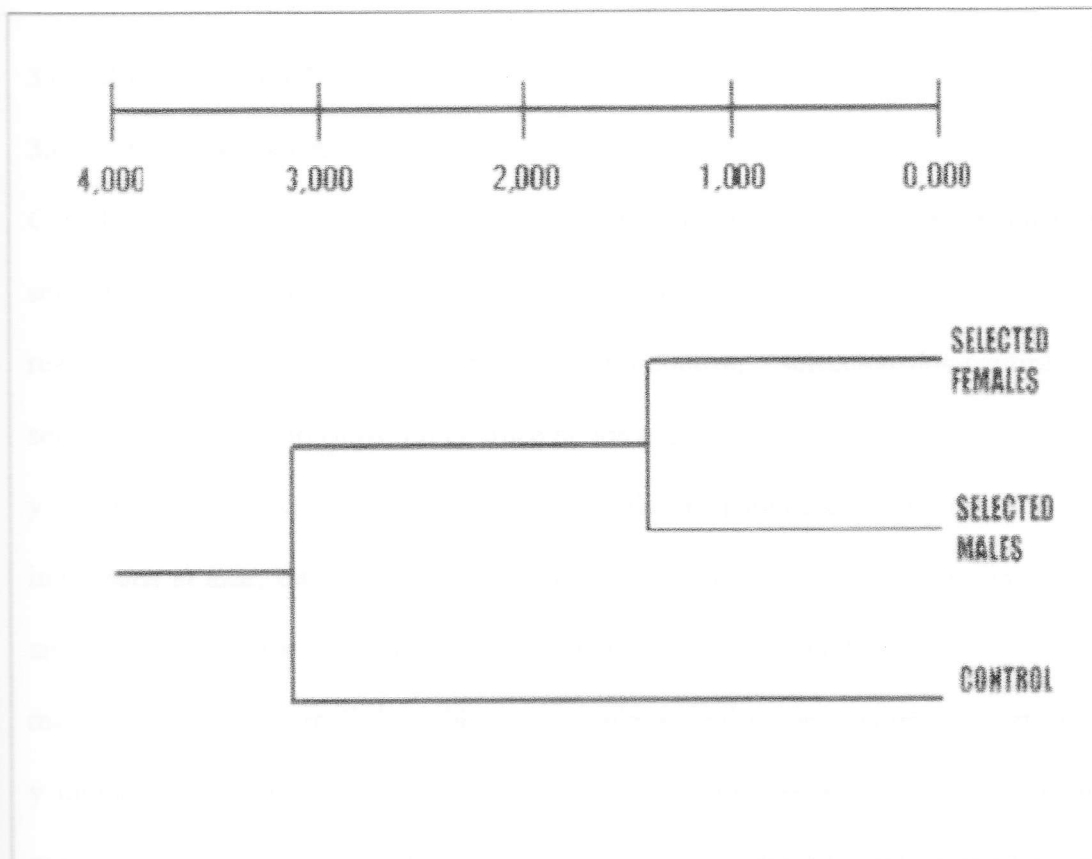
### **3.4. DETERMINACIÓN DE PARENTESCOS**

La reconstrucción de relaciones de pedigrí para la asignación de grupo de familias y de parentescos fue realizada usando el software Kingroup (Konovalov et al., 2004). Kingroup calcula relaciones de pedigrí basadas en las frecuencias de alelos de la población entera y nuestros datos demostraron que el grupo de control era una población diferente de los individuos seleccionados. De ahí, parentesco para los grupos controles y seleccionados (machos y hembras juntos) fueron calculados separadamente. Dos niveles de división de grupo fueron evaluados: Parentescos Llenos FS y Parentescos Llenos más Primos FS+C contra la hipótesis alternativa de individuos no relacionados.

Coefficientes de F para cada lugar (Tabla 5) no mostraron diferencias significativas entre las tres poblaciones por la prueba de Kruskal-Wallis. Coeficientes globales inbreeding eran similares para ambos, es decir grupo control y grupo de hembras seleccionadas (0.23 y 0.22). Sin embargo el grupo seleccionado de machos mostró un coeficiente inferior inbreeding (0.15).

El parentesco fue probado para ambos, la hipótesis nula (el parentesco grupo de hermanos completos FS) y la hipótesis compleja (parentescos de hermanos completos más primos FS+C). Un total de 41 y 59 grupos llenos de parentesco fue determinado para el control e individuos seleccionados respectivamente.

Tabla 5.-. Relaciones filogenéticas por dendrograma UPGMA para grupo seleccionados y controles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* utilizando un proceso de selección masal.



### **3.5. TOTAL DE ORGANISMOS ANALIZADOS**

Un total de 308 organismos fueron analizados para determinar su parentesco. De estos 100 reproductores eran controles y los 208 organismos más pertenecían a la línea seleccionada que lleva el CENAIM. En cuanto a los organismos controles se extrajo el pleópodo a 50 hembras y 50 machos; mientras que en los seleccionados se trabajó con 194 hembra y 14 machos. Al finalizar la prueba de parentescos 33 organismos tanto controles como seleccionados murieron de los cuales se llevó un control.

### **3.6. MADURACIÓN**

#### **3.6.1. Dirección de cruces**

Con los datos obtenidos de las pruebas de parentescos tanto de organismos seleccionados y controles (ver tabla) se realizaron los cruces respectivos. Se realizaron cruces de organismos control-control, seleccionados-control y seleccionados-seleccionados. En el cruce de los organismos control-control (hembras y machos controles) no se consideró el grado de parentesco y se cruzó a los individuos al azar, estos cruces se realizaron por copula natural y por inseminación artificial. En el cruce de organismos seleccionados-control (hembras seleccionadas y machos controles) se realizó también por copula natural y por inseminación artificial y tampoco se tomó en cuenta el parentesco. En tanto que para los cruces de los organismos seleccionados-seleccionados (hembras y machos seleccionados) se tomaron en cuenta a todos los organismos que no tenían ningún grado de parentesco

común para ser considerados en el cruce; se escogieron hembras seleccionadas para los 7 machos que sobrevivieron, estos cruces fueron únicamente por inseminación artificial.

Tabla 6. Cruces dirigidos en organismos seleccionados-seleccionados (machos y hembras).

<b>Cruces dirigidos</b>	
<b>Códigos de S-S</b>	
<b>Machos</b>	<b>Hembras</b>
181	767
794	880
422	556
4J7	524
36J	763
358	821
991	784

### 3.6.2. Inseminaciones realizadas

Las inseminaciones artificiales se realizaron durante tres días de trabajo. En el primer día, los organismos que en primera instancia fueron sometidos a inseminación son los 7 machos seleccionados a los cuales se les buscó 7 hembras selectas para el cruce, es decir cruces entre seleccionados-seleccionados. Hubo solo tres hembras seleccionadas a las cuales se los cruzó con machos controles por inseminación (seleccionado-control). Se realizaron un total de diez inseminaciones artificiales en el primer día y

todas estas fueron realizadas en la noche (8 de la noche). En el segundo día de trabajo se realizaron 8 inseminaciones, de las cuales 3 fueron seleccionadas-control (hembra seleccionada y macho control) y 5 inseminaciones de cruces control-control (hembra y macho control). En el tercer y último día de trabajo se hicieron 12 inseminaciones artificiales, todas estas fueron de cruces entre organismos seleccionados-control (hembra seleccionada y macho control). Fueron las últimas inseminaciones realizadas en el experimento.

Tabla 7. Cuadro de organismos inseminados (7 machos y 10 hembras seleccionadas, y 3 machos controles) durante la primera noche de trabajo.

Tratamiento	Hembras	Machos		Tipo de cruce
	Seleccionadas	Seleccionadas	Controles	
S-S	767 S	181 S		Insem. artificial
S-S	880 S	794 S		Insem. artificial
S-S	556 S	422 S		Insem. artificial
S-S	524 S	417 S		Insem. artificial
S-S	763 S	361 S		Insem. artificial
S-S	821 S	358 S		Insem. artificial
S-S	784 S	991 S		Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial



Tabla 8. Cuadro de organismos inseminados (3 hembras seleccionadas, 5 hembras controles cruzadas con 8 machos seleccionados) durante la segunda noche de trabajo.

Tratamiento	Hembras		Machos	Tipo de cruce
	Seleccionadas	Controles	Controles	
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
C-C		Sin código	Sin código	Insem. artificial
C-C		Sin código	Sin código	Insem. artificial
C-C		Sin código	Sin código	Insem. artificial
C-C		Sin código	Sin código	Insem. artificial
C-C		Sin código	Sin código	Insem. artificial

Tabla 9. Cuadro de organismos inseminados (12 hembras seleccionadas con 12 machos controles) durante la tercera noche de trabajo.

Tratamiento	Hembras		Machos	Tipo de cruce
	Seleccionadas	Controles	Controles	
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial
S-C	Sin código		Sin código	Insem. artificial

### 3.6.3. Cópulas naturales

Las cópulas naturales fueron realizadas en los cruces de organismos seleccionados-control y control-control. Hubo cópula durante los tres días de trabajo. En el primer día se realizaron 6 cópulas y todas fueron cruces de organismos seleccionados-control (hembra seleccionado y macho control). En el segundo día se realizaron 12 cópulas naturales, 8 de cruces seleccionados-control (hembras seleccionadas y machos controles) y 4 de cruces de organismos control-control (hembras y machos controles).

En tanto que en el último día se realizaron 9 cópulas naturales y todas fueron de cruces de organismos seleccionados-control (hembras seleccionadas y machos controles). En total se realizaron 27 cópulas naturales durante los tres días de trabajo.

Tabla 10. Cuadro de organismos copulados (6 hembras seleccionadas con 6 machos controles) durante la primera noche de trabajo.

Tratamiento	Hembra	Macho	Tipo de cruce
S-C	Seleccionada	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionada	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionada	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionada	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionada	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionada	Control	Cópula natural

Tabla 11. Cuadro de organismos copulados (8 hembras seleccionadas y 4 hembras controles cruzados con 12 machos controles) durante la segunda noche de trabajo.

Tratamiento	Hembra	Macho	Tipo de cruce
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
C-C	Control	Control	Cópula natural
C-C	Control	Control	Cópula natural
C-C	Control	Control	Cópula natural
C-C	Control	Control	Cópula natural

Tabla 12. Cuadro de organismos copulados (9 hembras seleccionadas cruzadas con 9 machos controles) durante la tercera noche de trabajo.

Tratamiento	Hembra	Macho	Tipo de cruce
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural
S-C	Seleccionadas	Control	Cópula natural

#### **3.6.4. Número de hembras desovadas**

Todas las hembras fueron pescadas a las 24h: 00 para ver si había o no desoves en los tanques. No todas las hembras tuvieron un desove normal, tanto en las inseminadas artificialmente como en las que se cruzaron por cópula natural. Algunas presentaron un desove parcial de los huevos e incluso otras simplemente no desovaron. Durante el primer día hubo un total de once hembras que desovaron normalmente y en su totalidad (6 hembras de cruces S-S y 5 de cruces S-C), tres hembras que presentaron un desove parcial (1 hembra de cruce S-S y 2 de cruces S-C) y dos hembras más que no desovaron para nada (hembras de cruces S-C); es decir la mayoría de las hembras desovaron. Este día se trabajó con 16 hembras en dos de los cruces dirigidos (S-S y C-C).

En el segundo día se registraron trece desoves totales (10 fueron de cruces S-C y 3 de cruces C-C), dos desoves parciales (hembras de cruces C-C) y cinco hembras no desovadas. Fueron empleadas 20 hembras en este día en dos cruces dirigidos (S-C y C-C).

En el último y tercer día hubo un total de 21 hembras utilizadas en este día en el cruce S-C. De estas quince correspondieron a desoves totales, se reportaron cinco desoves parciales y solamente una hembra no desovó.

Durante los cruces, es decir en los tres días de trabajo hubo un total de 57 hembras con las que se trabajó tanto con inseminación artificial y cópulas naturales; de estas 39 presentaron un desove total, 10 con un desove parcial y 8 hembras no desovaron para nada.

Tabla 13. Cantidad de organismos utilizados en los cruces y número de hembras desovadas por día de trabajo

Días de trabajo	Desoves			Total de organismos
	Desove total	Desove parcial	Desove negativo	
Primer día	11	3	2	16
Segundo día	13	2	5	20
Tercer día	15	5	1	21
<b>Total de organismos</b>	39	10	8	57

### 3.6.5. Nauplios obtenidos por tratamientos

#### 3.6.5.1. *Seleccionados-seleccionados*

De los 7 cruces que se realizaron entre organismos seleccionados-seleccionados se obtuvieron cantidades diferentes de nauplios en las tres líneas. Los nauplios fueron contados en baldes con 15 litros de agua, es decir la cantidad de nauplios contados en un volumen de 15 l. Solamente una de las líneas seleccionadas no presentó ningún individuo, las 6 restantes presentaron todas organismos en diferentes cantidades. En estos cruces de organismos S-S hubo un total de 750.000 nauplios en 15 l de agua.

Tabla 14. Cantidad de nauplios obtenidos en los cruces seleccionados-seleccionados

Línea	Parentales		Tratamiento	Naup en 1 ml	Total en 15 litros
	Hembra	Macho			
1	767 S	181 S	S-S	10	150000
2	880 S	794 S	S-S	12	180000
3	556 S	422 S	S-S	9	135000
4	524 S	4J7 S	S-S	0	0
5	763 S	36J S	S-S	4	60000
6	821 S	358 S	S-S	9	135000
7	784 S	991 S	S-S	6	90000
TOTAL					750000

### 3.6.5.2. Seleccionados-control

Los nauplios que se obtuvieron del cruce seleccionados-control durante los tres días de trabajo fueron en cantidades diferentes. En el primer día se contabilizaron 645000 nauplios, en el segundo día de trabajo se obtuvieron 816000 nauplios, y en el último día de contabilizó 1635000 nauplios todos en 15 litros de agua. Hubo un total de 3096000 nauplios en 15 litros de agua durante los tres días de cópulas e inseminación artificial.

Tabla 15. Cantidad de nauplios obtenidos en los cruces seleccionados-control

Días	Tratamiento	Naup en 1 ml	Total en 15 litros
1	S-C	44	645000
2	S-C	54,5	816000
3	S-C	109	1635000
TOTAL			3096000

### 3.6.5.3. Control-control

Se obtuvo nauplios del cruce control-control solamente durante el segundo día de trabajo. Se contaron 450000 nauplios en 15 litros de agua.

Tabla 16. Cantidad de nauplios obtenidos en los cruces control-control

Días	Tratamiento	Naup en 1 ml	Total en 15 litros
1	C-C	30	450000

### 3.6.6. Deformidad

La deformidad de los organismos se lo hizo por tanque. Las muestras fueron examinadas en el microscopio y se determinó el porcentaje de deformidad por cada tanque. El primer día se reportó deformidad desde el 1 % hasta el 6 %, en el segundo día la deformidad llegó igualmente hasta el 6 %, siendo la más alta la del 1 %, mientras que el último día apenas se reportaron deformidades del 4 % en unos de los tanques. A continuación se muestran los porcentajes de deformidad registrados durante los tres días de cópulas e inseminación.

Tabla 17. Porcentaje de deformidad del primer día de cópula e inseminación

Tanque	Tratamiento	Deformidad
8	S-S	1%
5	S-S	5%
6	S-S	5%
7	S-S	*
4	S-S	3%
3	S-S	3%
2	S-S	2%
15	S-C	6%
14	S-C	3%
13	S-C	3%

\* Tanque del tratamiento seleccionado-seleccionado sin organismos

Tabla 18. Porcentaje de deformidad del segundo día de cópula e inseminación

Tanque	Tratamiento	Deformidad
8	S-C	6%
5	S-C	3%
6	S-C	3%
7	C-C	4%
4	S-C	3%
3	C-C	1%
2	C-C	2%

Tabla 19. Porcentaje de deformidad del tercer día de cópula e inseminación

Tanque	Tratamiento	Deformidad
8	S-C	3%
5	S-C	3%
6	S-C	3%
7	S-C	2%
4	S-C	3%
3	S-C	3%
2	S-C	4%



### 3.6.7. Total de nauplios obtenidos

Durante todas las cópulas naturales e inseminaciones artificiales realizadas se obtuvieron un total de 4198000 nauplios en los tres cruces; de los cuales 750000 nauplios fueron de los cruces seleccionados-seleccionados, 2998000 nauplios en el cruce seleccionados-control, y 450000 nauplios en el cruce control-control. De esta cantidad obtenida se sembró una cantidad determinada para su respectivo crecimiento hasta 1 g de peso.

Tabla 20. Total de nauplios obtenidos en los tres tratamientos empleados

<b>Tratamiento</b>	<b>Cantidad</b>
S-S	750000
S-C	3096000
C-C	450000
<b>Total</b>	<b>4296000</b>

### **3.7. EVALUACIÓN DE ORGANISMOS**

#### **3.7.1. Larvicultura**

En esta fase se realizaban las mediciones dos veces a la semana y se medían 20 individuos de cada tanque, hubo un total de 9 mediciones y se lo hizo desde nauplios hasta post-larva 18. En estos estadíos los datos de mediciones demostraron que no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto al tamaño de los organismos. Los tres tratamientos evaluados (S-S, S-C y C-C) presentaron tamaños similares en cuanto a longitud se refiere; hay un parejo crecimiento en estos estadíos de los organismos, lo cual indica que no se puede observar diferencias de tamaños en esta fase del experimento.

A continuación se muestran las 9 mediciones realizadas y dadas en milímetros con sus respectivas fechas durante las fases de nauplios hasta post-larva 18. Se determinó la longitud individual de 20 animales por tanques, longitud promedio de los organismos, desviación estándar y coeficiente de variación de los datos obtenidos.

Tabla 17. Porcentaje de deformidad del primer día de cópula e inseminación

Tanque	Tratamiento	Deformidad
8	S-S	1%
5	S-S	5%
6	S-S	5%
7	S-S	*
4	S-S	3%
3	S-S	3%
2	S-S	2%
15	S-C	6%
14	S-C	3%
13	S-C	3%

\* Tanque del tratamiento seleccionado-seleccionado sin organismos

Tabla 18. Porcentaje de deformidad del segundo día de cópula e inseminación

Tanque	Tratamiento	Deformidad
8	S-C	6%
5	S-C	3%
6	S-C	3%
7	C-C	4%
4	S-C	3%
3	C-C	1%
2	C-C	2%

Tabla 19. Porcentaje de deformidad del tercer día de cópula e inseminación

Tanque	Tratamiento	Deformidad
8	S-C	3%
5	S-C	3%
6	S-C	3%
7	S-C	2%
4	S-C	3%
3	S-C	3%
2	S-C	4%

Tabla 21. Primera medición de organismos realizada (estadio de nauplios)

Núm org	Jueves 13 de enero del 2005										
	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6	Tanque 7	Tanque 8	Tanque 9	Tanque 10	Tanque 11
1	1	0,979	0,831	0,893	0,92	0,975	0,963	0,991	0,83	1	0,755
2	0,958	0,972	0,836	0,854	0,865	0,867	0,957	0,832	0,995	0,941	1
3	0,974	0,942	0,802	0,922	0,816	0,764	0,903	1	0,883	0,995	0,765
4	1	0,932	0,72	0,94	0,715	0,944	0,915	1	1	0,998	1
5	0,987	0,923	0,922	0,88	0,948	0,912	0,905	0,957	0,954	0,886	0,928
6	0,984	0,921	0,773	0,976	1	0,864	0,9	0,833	0,905	1	0,862
7	1,000	0,901	0,902	0,734	0,918	1	1	0,903	1	1	0,889
8	0,970	0,9	0,83	0,868	0,941	0,953	1	0,802	1	1	1
9	0,977	0,888	0,943	0,831	0,977	0,947	0,759	0,978	1	0,902	0,918
10	0,977	0,87	0,939	0,867	0,934	0,938	1	0,969	1	0,929	1
11	1,011	0,869	0,914	0,95	0,949	0,905	1	0,982	1	0,914	1
12	0,947	0,862	0,917	0,919	0,898	0,907	0,918	0,972	0,976	0,784	0,787
13	0,993	0,848	0,904	0,865	0,982	0,912	0,704	0,962	1	0,863	0,899
14	1,011	0,811	0,882	0,773	0,983	0,922	0,92	0,916	1	1	0,93
15	1,019	0,807	0,632	0,828	0,767	0,982	0,946	1	1	0,908	0,915
16	0,962	0,769	0,89	0,705	0,945	0,954	0,856	0,873	0,996	0,98	0,908
17	1,001	0,763	0,774	0,865	0,935	0,813	0,788	1	1	0,932	1
18	0,958	0,728	0,634	0,909	0,912	0,82	0,93	0,948	0,966	1	0,896
19	0,918	0,7	0,912	0,857	0,889	0,769	0,789	0,833	0,792	1	0,8
20	0,914	0,679	0,939	0,85	0,907	0,909	0,947	0,936	0,878	0,894	0,714
averag	0,977	0,8532	0,845	0,864	0,9102	0,9039	0,9127	0,9382	0,9689	0,958	0,8638
stdev	0,031	0,0884	0,0938	0,0665	0,0707	0,0673	0,093	0,0685	0,0734	0,0719	0,0757
cv-%	3,191	10,36	11,1	7,6941	7,7658	7,4508	10,189	7,2986	7,5722	7,4993	8,7636

Tabla 22. Segunda medición de organismos realizada (estadio de Zoea 1)

Núm org	Lunes 17 de enero del 2005																			
	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6	Tanque 7	Tanque 8	Tanque 9	Tanque 10	Tanque 11									
1	2,651	2,307	2,471	2,562	2,488	2,389	2,403	2,436	2,608	2,598	2,601									
2	2,452	2,501	2,452	2,602	2,542	2,449	2,521	2,458	2,594	2,577	2,553									
3	2,524	2,701	2,527	2,526	2,513	2,487	2,538	2,477	2,567	2,567	2,563									
4	2,305	2,405	2,364	2,384	2,504	2,446	2,553	2,476	2,557	2,577	2,588									
5	2,38	2,459	2,524	2,431	2,493	2,493	2,601	2,477	2,449	2,554	2,574									
6	2,652	2,5	2,483	2,555	2,474	2,485	2,524	2,492	2,487	2,514	2,583									
7	2,572	2,647	2,473	2,574	2,399	2,503	2,538	2,463	2,464	2,519	2,577									
8	2,451	2,554	2,503	2,581	2,445	2,514	2,549	2,383	2,563	2,447	2,532									
9	2,488	2,589	2,534	2,572	2,434	2,523	2,443	2,398	2,564	2,474	2,611									
10	2,533	2,551	2,537	2,553	2,489	2,522	2,479	2,422	2,577	2,477	2,593									
11	2,549	2,543	2,497	2,564	2,476	2,559	2,424	2,482	2,584	2,467	2,583									
12	2,618	2,578	2,477	2,583	2,419	2,448	2,447	2,432	2,577	2,455	2,589									
13	2,661	2,601	2,451	2,517	2,438	2,397	2,457	2,453	2,554	2,467	2,576									
14	2,607	2,603	2,604	2,533	2,456	2,419	2,477	2,475	2,567	2,489	2,559									
15	2,592	2,604	2,677	2,548	2,449	2,463	2,487	2,489	2,558	2,488	2,603									
16	2,588	2,631	2,482	2,537	2,518	2,409	2,488	2,5	2,567	2,475	2,614									
17	2,554	2,514	2,477	2,552	2,547	2,438	2,477	2,481	2,574	2,447	2,599									
18	2,573	2,484	2,494	2,583	2,533	2,471	2,478	2,423	2,588	2,485	2,582									
19	2,574	2,531	2,503	2,554	2,554	2,483	2,463	2,419	2,544	2,479	2,579									
20	2,544	2,521	2,511	2,574	2,571	2,494	2,458	2,518	2,534	2,466	2,6									
average	2,559	2,5412	2,502	2,544	2,4871	2,4696	2,4903	2,4577	2,5539	2,501	2,583									
stdev	0,072	0,0883	0,0602	0,0505	0,0471	0,0442	0,0479	0,0349	0,0405	0,0464	0,0198									
cv%	2,803	3,4734	2,4066	1,9859	1,8921	1,7888	1,9245	1,4211	1,5871	1,8569	0,7663									

Tabla 23. Tercera medición de organismos realizada (estadio de Zoea 3, Mysis 1)

Núm org	Jueves 20 de enero del 2005																			
	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6	Tanque 7	Tanque 8	Tanque 9	Tanque 10	Tanque 11									
1	3,184	3,636	3,419	3,349	3,482	3,382	3,32	3,29	3,354	3,5	3,319									
2	3,204	3,278	3,392	3,303	3,413	3,305	3,311	3,338	3,367	3,471	3,324									
3	3,304	3,33	3,455	3,641	3,387	3,415	3,318	3,407	3,427	3,331	3,472									
4	3,214	3,274	3,47	3,435	3,448	3,446	3,321	3,427	3,437	3,307	3,444									
5	3,223	3,28	3,439	3,575	3,406	3,478	3,333	3,348	3,3	3,471	3,473									
6	3,281	3,366	3,394	3,33	3,373	3,429	3,347	3,357	3,396	3,424	3,451									
7	3,198	3,336	3,519	3,523	3,382	3,437	3,353	3,325	3,471	3,466	3,503									
8	3,157	3,448	3,429	3,417	3,359	3,448	3,407	3,308	3,411	3,482	3,491									
9	3,188	3,438	3,418	3,432	3,478	3,457	3,415	3,366	3,408	3,417	3,423									
10	3,214	3,516	3,433	3,407	3,468	3,469	3,398	3,376	3,296	3,387	3,422									
11	3,228	3,501	3,4	3,386	3,447	3,448	3,427	3,385	3,279	3,485	3,476									
12	3,236	3,493	3,389	3,399	3,439	3,409	3,493	3,477	3,371	3,37	3,396									
13	3,285	3,467	3,397	3,409	3,428	3,393	3,455	3,426	3,393	3,492	3,551									
14	3,274	3,444	3,422	3,427	3,417	3,387	3,461	3,372	3,288	3,511	3,407									
15	3,236	3,429	3,437	3,463	3,447	3,379	3,424	3,388	3,426	3,417	3,418									
16	3,219	3,417	3,42	3,448	3,456	3,407	3,377	3,417	3,455	3,429	3,427									
17	3,248	3,403	3,371	3,429	3,464	3,417	3,363	3,426	3,287	3,398	3,306									
18	3,266	3,407	3,381	3,438	3,408	3,417	3,352	3,377	3,466	3,476	3,349									
19	3,245	3,308	3,431	3,466	3,385	3,455	3,372	3,382	3,47	3,46	3,371									
20	3,218	3,295	3,456	3,383	3,382	3,437	3,337	3,474	3,286	3,405	3,473									
average	3,232	3,4033	3,424	3,433	3,4235	3,4199	3,3792	3,3833	3,3794	3,435	3,4248									
stdev	0,035	0,0957	0,0338	0,0761	0,0365	0,0388	0,052	0,0483	0,067	0,0551	0,0641									
cv,%	1,074	2,8115	0,9876	2,2161	1,0673	1,1354	1,5387	1,4263	1,9814	1,6028	1,873									

Tabla 24. Cuarta medición de organismos realizada (estadio de Post-larva 1-2)

Núm org	Lunes 24 de enero de 2005										
	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6	Tanque 7	Tanque 8	Tanque 9	Tanque 10	Tanque 11
1	4,328	4,105	4,556	4,318	4,021	4,032	4,283	4,378	4,213	4,534	4,547
2	4,132	4,044	4,454	4,448	4,117	4,111	4,107	4,484	4,021	4,318	4,239
3	4,169	4,148	4,496	4,312	4,334	4,183	4,223	4,418	4,229	4,304	4,438
4	4,326	4,265	4,575	4,383	4,278	4,175	4,254	4,379	4,233	4,223	4,299
5	4,168	4,455	4,59	4,371	4,254	4,105	4,328	4,382	4,257	4,371	4,345
6	4,177	4,533	4,546	4,464	4,267	4,202	4,347	4,355	4,203	4,483	4,482
7	4,061	4,531	4,414	4,423	4,244	4,307	4,281	4,353	4,179	4,572	4,494
8	4,278	4,244	4,318	4,385	4,268	4,321	4,257	4,364	4,182	4,278	4,518
9	4,134	4,478	4,415	4,524	4,178	4,276	4,334	4,361	4,221	4,253	4,473
10	4,385	4,571	4,344	4,377	4,251	4,275	4,371	4,375	4,237	4,347	4,389
11	4,226	4,377	4,372	4,388	4,255	4,383	4,262	4,31	4,258	4,444	4,375
12	4,259	4,463	4,368	4,414	4,317	4,252	4,263	4,307	4,371	4,503	4,467
13	4,263	4,381	4,394	4,369	4,382	4,258	4,275	4,312	4,259	4,293	4,472
14	4,113	4,299	4,371	4,392	4,379	4,384	4,284	4,284	4,374	4,307	4,367
15	4,334	4,471	4,367	4,387	4,341	4,351	4,295	4,351	4,263	4,384	4,423
16	4,372	4,456	4,359	4,377	4,366	4,362	4,299	4,359	4,118	4,462	4,354
17	4,384	4,361	4,514	4,384	4,218	4,205	4,382	4,366	4,263	4,357	4,468
18	4,216	4,366	4,515	4,473	4,227	4,317	4,288	4,289	4,258	4,366	4,511
19	4,136	4,382	4,373	4,476	4,233	4,254	4,271	4,258	4,261	4,289	4,5
20	4,115	4,41	4,362	4,482	4,338	4,255	4,287	4,268	4,266	4,507	4,483
average	4,226	4,367	4,435	4,407	4,2634	4,2504	4,2846	4,3477	4,2333	4,380	4,4322
stdev	0,104	0,1447	0,0848	0,0537	0,0866	0,0935	0,0565	0,0522	0,0742	0,0993	0,0788
cv%	2,468	3,3125	1,9127	1,219	2,0322	2,2001	1,3183	1,2017	1,7539	2,267	1,7784

Tabla 25. Quinta medición de organismos realizada (estadio de Post-larva 5-6)

Jueves 27 de enero del 2005											
Núm org	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6	Tanque 7	Tanque 8	Tanque 9	Tanque 10	Tanque 11
1	4,905	4,955	4,862	4,862	4,884	5,054	4,819	5,283	4,846	4,82	4,98
2	4,583	5,504	5,398	5,398	5,337	4,896	4,779	5,26	5,194	4,963	4,837
3	5,039	5,382	4,954	4,954	4,785	4,853	4,859	5,587	4,906	4,984	5,094
4	5,48	5,338	5,213	5,213	5,063	4,721	4,876	4,709	5,147	5,135	5,21
5	5,21	5,482	5,154	5,154	5,057	4,796	4,974	4,856	4,877	4,971	4,977
6	4,966	5,141	5,254	5,254	4,956	4,81	4,941	5,025	4,771	5,205	4,926
7	4,947	5,303	5,349	5,349	4,782	4,904	4,926	4,899	4,969	4,96	4,986
8	4,958	5,482	4,977	4,977	4,922	5,272	5,071	5,428	4,804	4,987	5,038
9	4,931	5,307	5,287	5,287	5,386	4,768	5,122	5,466	5,105	4,994	4,973
10	5,573	5,381	4,992	4,992	5,04	5,09	4,874	5,061	4,757	5,016	5,237
11	5,702	5,226	4,725	4,725	5,371	4,856	4,903	5,436	4,507	4,959	5,254
12	4,844	5,413	4,889	4,889	5,044	5,176	4,814	5,124	4,62	5,17	5,167
13	5,131	5,536	5,217	5,217	5,038	5,035	5,007	5,437	4,605	5,136	4,917
14	4,94	5,278	5,246	5,246	4,945	4,85	5,121	5,273	4,873	4,968	5,104
15	5,253	4,963	4,885	4,885	5,367	5,291	4,974	5,231	4,011	5,159	5,026
16	5,155	5,023	4,995	4,995	4,935	5,199	4,983	5,154	4,658	5,086	5,195
17	5,317	4,813	5,03	5,03	4,983	5,134	4,881	5,264	4,791	5,091	4,894
18	5,008	4,833	4,982	4,982	4,931	4,605	4,957	5,102	4,95	4,988	4,971
19	5,076	4,887	4,779	4,779	4,928	4,951	5,263	5,237	4,088	5,214	5,175
20	5,103	4,855	5,21	5,21	4,937	4,418	4,894	5,07	4,531	5,001	5,183
average	5,132	5,2051	5,070	5,070	5,0346	4,934	4,9519	5,1951	4,7505	5,040	5,0572
stdev	0,238	0,2487	0,1902	0,1902	0,1816	0,2195	0,1166	0,2169	0,298	0,1004	0,1233
cv,%	4,629	4,7785	3,7507	3,7507	3,608	4,4487	2,3555	4,1742	6,2736	1,992	2,4379



Tabla 26. Sexta medición de organismos realizada (estadio de Post-larva 10-11)

Lunes 31 de enero del 2005											
Núm org	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6	Tanque 7	Tanque 8	Tanque 9	Tanque 10	Tanque 11
1	5,674	5,468	5,653	5,643	5,503	5,614	5,616	5,593	5,704	5,803	5,775
2	5,632	5,734	5,616	5,661	5,664	5,662	5,638	5,722	5,661	5,707	5,629
3	5,676	5,561	5,871	5,855	5,753	5,747	5,722	5,681	5,723	5,664	5,737
4	5,442	5,319	5,662	5,965	5,554	5,682	5,733	5,734	5,843	5,548	5,771
5	5,365	5,794	5,569	5,883	5,382	5,718	5,683	5,693	5,663	5,621	5,765
6	5,368	5,878	5,309	5,943	5,529	5,655	5,718	5,748	5,741	5,733	5,759
7	5,837	5,843	5,408	5,643	5,487	5,783	5,619	5,537	5,792	5,767	5,788
8	5,357	5,521	5,695	5,785	5,441	5,694	5,522	5,772	5,687	5,783	5,692
9	5,603	5,514	5,496	5,842	5,483	5,762	5,713	5,831	5,63	5,794	5,823
10	5,287	5,879	5,666	5,917	5,495	5,743	5,654	5,794	5,717	5,647	5,733
11	5,616	5,795	5,391	5,737	5,503	5,699	5,755	5,771	5,773	5,721	5,745
12	5,579	5,877	5,443	5,746	5,614	5,684	5,808	5,763	5,811	5,664	5,781
13	5,378	5,743	5,645	5,829	5,701	5,735	5,666	5,719	5,759	5,728	5,764
14	5,582	5,825	5,518	5,734	5,833	5,812	5,718	5,677	5,674	5,791	5,737
15	5,713	5,734	5,507	5,708	5,774	5,787	5,667	5,568	5,718	5,755	5,766
16	5,452	5,668	5,483	5,672	5,753	5,573	5,684	5,723	5,777	5,733	5,784
17	5,337	5,745	5,474	5,814	5,793	5,691	5,811	5,559	5,791	5,741	5,791
18	5,457	5,813	5,537	5,663	5,754	5,534	5,772	5,688	5,754	5,787	5,612
19	5,488	5,794	5,482	5,609	5,788	5,628	5,784	5,779	5,747	5,739	5,703
20	5,537	5,773	5,451	5,746	5,804	5,711	5,793	5,751	5,688	5,528	5,691
average	5,497	5,7139	5,544	5,770	5,6304	5,6957	5,7038	5,7052	5,7327	5,713	5,7423
stdev	0,152	0,1563	0,1263	0,1046	0,1417	0,0695	0,0721	0,0805	0,0546	0,0766	0,0522
cv%	2,757	2,7356	2,2791	1,8131	2,5167	1,2204	1,2646	1,4118	0,9529	1,3415	0,9099

Tabla 27. Séptima medición de organismos realizada (estadio de Post-larva 13-14)

Núm org	Jueves 3 de febrero del 2005										
	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6	Tanque 7	Tanque 8	Tanque 9	Tanque 10	Tanque 11
1	6,772	6,611	6,478	6,582	6,566	6,058	6,52	6,131	6,131	6,323	6,731
2	6,659	6,434	6,398	6,646	6,202	6,652	6,831	6,077	6,077	6,579	6,743
3	6,765	6,595	6,901	6,722	6,021	6,043	6,477	6,208	6,208	6,844	6,521
4	6,442	6,621	6,588	6,757	6,053	6,244	6,347	6,053	6,053	6,722	6,342
5	6,622	6,831	6,657	6,613	6,144	6,377	6,98	6,001	6,001	6,644	6,881
6	6,572	6,744	6,755	6,717	6,189	6,112	6,625	6,248	6,248	6,753	6,728
7	6,923	6,871	6,427	6,831	6,308	6,038	6,837	6,187	6,187	6,847	6,656
8	6,562	6,573	6,742	6,744	6,092	6,054	6,547	6,348	6,348	6,996	6,683
9	6,823	6,689	6,544	6,628	6,222	6,079	6,535	6,524	6,524	6,886	6,521
10	6,534	6,733	6,875	6,822	6,155	6,382	6,577	6,271	6,271	6,755	6,239
11	6,781	6,759	6,531	6,653	6,578	6,431	6,463	6,128	6,128	6,647	6,822
12	6,922	6,622	6,724	6,568	6,439	6,225	6,832	6,237	6,237	6,358	6,639
13	6,856	6,635	6,648	6,763	6,358	6,249	6,647	6,348	6,348	6,297	6,745
14	6,674	6,789	6,774	6,683	6,693	6,173	6,594	6,127	6,127	6,642	6,818
15	6,537	6,527	6,527	6,892	6,527	6,146	6,796	6,098	6,098	6,661	6,597
16	6,889	6,599	6,676	6,621	6,341	6,212	6,588	6,573	6,573	6,729	6,801
17	6,578	6,682	6,587	6,537	6,201	6,119	6,607	6,029	6,029	6,665	6,711
18	6,727	6,837	6,779	6,736	6,055	6,237	6,528	6,328	6,328	6,729	6,512
19	6,534	6,703	6,831	6,855	6,193	6,321	6,342	6,222	6,222	6,533	6,765
20	6,846	6,577	6,528	6,636	6,432	6,185	6,531	6,337	6,337	6,515	6,676
average	6,711	6,6716	6,649	6,700	6,2885	6,2169	6,6102	6,2238	6,2238	6,656	6,6566
stddev	0,150	0,1128	0,1432	0,0976	0,191	0,1521	0,1636	0,1504	0,1504	0,1795	0,1583
cv-%	2,242	1,6901	2,1538	1,4569	3,038	2,4467	2,4755	2,4167	2,4167	2,6971	2,3782

Tabla 28. Octava medición de organismos realizada (estado de Post-larva 16-17)

Martes 8 de febrero del 2005										
Núm org	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6	Tanque 7	Tanque 8	Tanque 9	
1	6,817	7,136	7,31	6,094	6,865	6,966	6,749	6,966	6,705	
2	6,394	6,972	7,347	7,122	7,149	7,136	6,59	6,874	6,873	
3	6,718	7,073	6,918	7,34	7,049	7,192	7,025	6,906	7,14	
4	6,905	7,211	7,034	7,122	7,073	7,244	6,837	6,124	6,503	
5	7,224	6,68	7,272	7,012	7,142	6,731	6,796	6,266	6,773	
6	6,894	7,098	6,874	6,924	6,615	6,937	6,11	6,43	7,19	
7	6,945	6,938	6,967	6,929	7,032	6,712	7,091	6,836	6,769	
8	7,232	7,231	7,283	7,204	6,955	7,025	6,236	6,664	7,185	
9	7,004	7,131	7,026	6,962	6,59	7,087	6,012	7,122	7,195	
10	6,524	7,156	6,838	7,184	7,015	6,864	6,436	6,939	7,062	
11	7,193	6,969	6,914	7,267	7,006	7,285	6,1	7,168	6,922	
12	6,725	7,893	6,986	6,983	7,105	6,996	6,872	7,061	6,843	
13	6,987	7,055	6,962	6,933	6,946	6,958	6,908	6,105	6,945	
14	6,876	7,182	6,885	7,297	7,103	6,4	6,926	6,85	6,938	
15	7,328	6,947	7,141	6,944	7,146	7,179	7,143	6,971	6,834	
16	6,841	7,237	6,911	7,121	7,278	6,805	6,911	7,096	6,827	
17	6,928	7,145	7,188	6,949	6,735	6,736	6,992	6,632	6,849	
18	#####	6,923	7,147	7,043	6,973	7,154	6,931	7,008	6,874	
19	7,146	6,958	7,028	7,103	6,84	7,15	7,118	7,111	6,871	
20	7,272	7,027	6,987	7,181	7,206	6,83	7,027	6,996	6,773	
average	7,001	7,0981	7,051	7,036	6,9912	6,9694	6,7405	6,8063	6,9036	
stdev	0,219	0,2306	0,1547	0,2508	0,1801	0,2169	0,3549	0,3223	0,1736	
cv%	3,125	3,2488	2,1937	3,5653	2,5757	3,1125	5,2657	4,7357	2,5146	

Tabla 29. Novena medición de organismos realizada (estadio de Post-larva 18)

Núm org	Miércoles 9 de febrero del 2005																			
	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6	Tanque 7	Tanque 8	Tanque 9											
1	6,875	7,842	7,549	7,128	6,971	6,932	6,911	8,472	6,998											
2	7,228	6,826	6,826	6,854	7,253	7,162	7,159	7,897	7,035											
3	6,916	7,02	7,366	7,153	7,038	7,044	6,834	8,08	7,189											
4	7,306	7,168	7,235	7,026	6,995	7,198	6,851	7,564	6,748											
5	6,817	6,912	7,384	6,943	6,906	6,983	7,497	7,472	6,974											
6	6,951	7,33	6,985	7,122	6,861	7,251	6,773	7,144	7,221											
7	7,026	7,224	7,025	7,101	7,283	6,561	6,966	6,981	6,761											
8	6,798	7,143	6,942	6,983	6,849	7,101	6,747	7,564	6,877											
9	6,69	6,903	6,765	7,103	7,231	6,703	7,172	7,363	7,049											
10	6,829	7,126	7,277	7,12	7,154	6,578	6,824	6,976	7,146											
11	6,919	7,156	6,685	7,321	6,728	7,237	6,406	8,084	6,863											
12	6,792	7,349	6,835	6,945	6,937	7,155	6,733	8,341	6,982											
13	6,976	7,177	7,151	6,933	6,827	6,669	6,76	7,959	7,259											
14	6,989	7,194	6,92	7,241	7,312	6,871	6,908	7,863	7,219											
15	6,964	7,256	6,937	7,259	6,756	6,963	7,256	7,742	6,628											
16	6,791	7,153	6,926	6,878	6,734	7,123	6,855	7,117	7,049											
17	6,711	7,064	6,751	6,709	7,273	7,294	6,838	6,984	7,124											
18	7,359	7,238	7,119	7,133	6,974	7,124	6,977	7,572	7,235											
19	7,104	6,929	7,04	6,913	6,984	6,838	6,882	6,843	6,824											
20	7,05	7,202	7,376	7,352	7,259	6,944	7,382	7,014	6,758											
average	6,923	7,1606	7,055	7,061	7,0163	6,9866	6,9366	7,5516	6,997											
stdev	0,169	0,2146	0,2376	0,1621	0,1933	0,2185	0,2439	0,4806	0,1845											
cv%	2,442	2,9973	3,3677	2,2964	2,7549	3,1277	3,5166	6,364	2,6369											

### 3.7.1.1. Evaluación por tratamientos

Así mismo en esta etapa del experimento se evaluó a los organismos por tratamientos, es decir que se analizaron los tanques de los tres tratamientos de manera paralela. Con esto queríamos establecer diferencias entre los tanques de un mismo tratamiento y compararlos con los otros tanques de los tratamientos restantes.

Tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas en estas etapas del camarón. Los datos promedios de la variable evaluada mantienen una estrecha relación durante las nueve mediciones realizadas en los tres tratamientos.

**Tabla 30.** Longitud de organismos en milímetros por tanques de las nueve mediciones en los Seleccionados-Seleccionados

Fecha	Estadio	SS			
		Tanque 2	Tanque 4	Tanque 8	Tratamiento
Jueves 13 enero	Nauplio	0,8532	0,864	0,9382	0,885233333
Lunes 17 enero	Z 1	2,5412	2,544	2,4577	2,514383333
Jueves 20 enero	Z-1, M-3	3,4033	3,433	3,3833	3,406533333
Lunes 24 enero	PL 1-2	4,367	4,407	4,34765	4,374
Jueves 27 enero	PL 5-6	5,2051	5,070	5,1951	5,1567
Lunes 31 enero	PL 10-11	5,7139	5,770	5,70515	5,7296
Jueves 3 febrero	PL 13-14	6,6716	6,700	6,22375	6,531883333
Martes 8 febrero	PL 16-17	7,1981	7,036	6,80625	7,01335
Mierc 19 febrero	PL 18	7,1606	7,061	7,5516	7,257683333

**Tabla 31.** Longitud de organismos en milímetros por tanques de las nueve mediciones en los Seleccionados-control

Fecha	Estadio	SC			
		Tanque 1	Tanque 3	Tanque 5	Tratamiento
Jueves 13 enero	Nauplio	0,978	0,845	0,91015	0,911
Lunes 17 enero	Z 1	2,543	2,502	2,4871	2,51085
Jueves 20 enero	Z-1, M-3	3,231	3,424	3,42345	3,3593833
Lunes 24 enero	PL 1-2	4,229	4,435	4,2634	4,3091167
Jueves 27 enero	PL 5-6	5,131	5,070	5,03455	5,0785
Lunes 31 enero	PL 10-11	5,519	5,544	5,6304	5,564
Jueves 3 febrero	PL 13-14	6,701	6,649	6,28845	6,546
Martes 8 febrero	PL 16-17	6,942	7,051	6,99115	6,995
Mierc 19 febrero	PL 18	6,955	7,055	7,01625	7,009

**Tabla 32.** Longitud de organismos en milímetros por tanques de las nueve mediciones en los Control-Control

Fecha	Estadio	CC			
		Tanque 6	Tanque 7	Tanque 9	Tratamiento
Jueves 13 enero	Nauplio	0,90385	0,91265	0,96885	0,90385
Lunes 17 enero	Z 1	2,4696	2,49025	2,55385	2,4696
Jueves 20 enero	Z-1, M-3	3,4199	3,3792	3,3794	3,4199
Lunes 24 enero	PL 1-2	4,2504	4,28455	4,2333	4,2504
Jueves 27 enero	PL 5-6	4,93395	4,9519	4,7505	4,93395
Lunes 31 enero	PL 10-11	5,6957	5,7038	5,73265	5,6957
Jueves 3 febrero	PL 13-14	6,21685	6,6102	6,22375	6,21685
Martes 8 febrero	PL 16-17	6,96935	6,7405	6,90355	6,96935
Mierc 19 febrero	PL 18	6,98655	6,93655	6,99695	6,98655

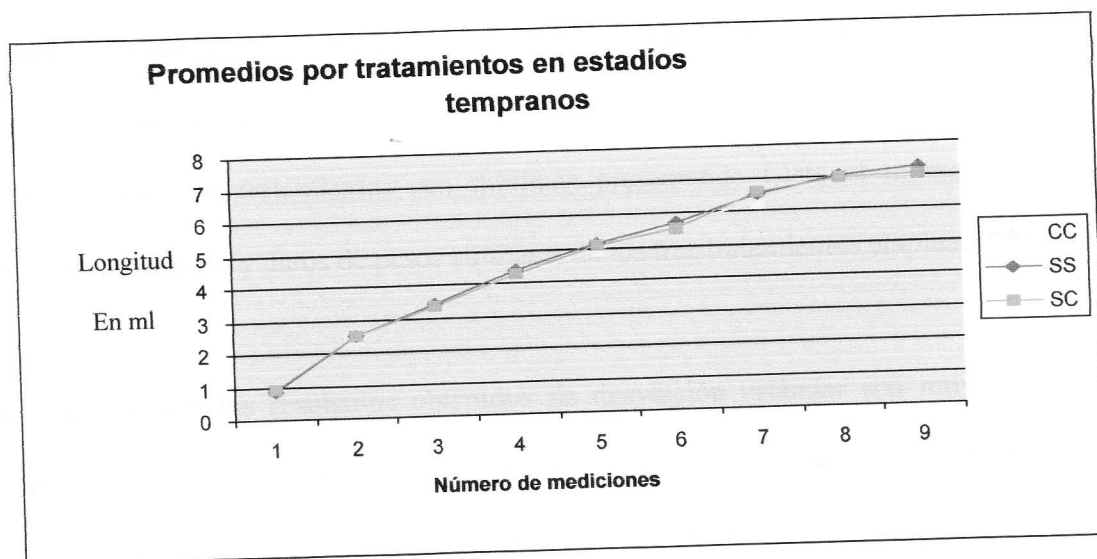
**Tabla 33.** Longitud de organismos en milímetros por tanques de las nueve mediciones en las dos familias seleccionadas

Fecha	Estadio	Familia 1	Familia 2
		Tanque 10	Tanque 11
Jueves 13 enero	Nauplio	0,958	0,8638
Lunes 17 enero	Nauplio	2,501	2,58295
Jueves 20 enero	Z-1, M-3	3,435	3,4248
Lunes 24 enero	PL 1-2	4,380	4,4322
Jueves 27 enero	PL 5-6	5,040	5,0572
Lunes 31 enero	PL 10-11	5,713	5,7423
Jueves 3 febrero	PL 13-14	6,656	6,65655
Martes 8 febrero	PL 16-17		
Mierc 19 febrero	PL 18		

**Tabla 34.** Longitud promedio de los organismos de los tres tratamientos utilizados en el experimento

Fecha	Estadio	Promedios		
		S-S	S-C	C-C
Jueves 13 enero	Nauplio	0,885233333	0,911	0,90385
Lunes 17 enero	Z 1	2,514383333	2,51085	2,4696
Jueves 20 enero	Z-1, M-3	3,406533333	3,3593833	3,4199
Lunes 24 enero	PL 1-2	4,374	4,3091167	4,2504
Jueves 27 enero	PL 5-6	5,1567	5,0785	4,93395
Lunes 31 enero	PL 10-11	5,7296	5,564	5,6957
Jueves 3 febrero	PL 13-14	6,531883333	6,546	6,21685
Martes 8 febrero	PL 16-17	7,01335	6,995	6,96935
Mierc 19 febrero	PL 18	7,257683333	7,009	6,98655

A continuación se muestran los datos de longitud promedios por tratamientos reflejados en un gráfico en la cual podemos notar fácilmente que no existen diferencias significativas en tamaños en estos estadíos del camarón.



**Figura 6.** Resumen de crecimiento en longitud promedios de los tres tratamientos en estadíos Nauplios- Postlarva 18

### 3.7.2. Tanques rectangulares de una tonelada (semanas post siembra)

La evaluación de los organismos en estos tanques se la hizo un día a la semana, un número determinado de individuos eran pescados para luego ser pesados en la balanza analítica. Los pesos se tomaban una vez por semana a excepción del primer peso que se lo tomó pasando dos semanas, se realizaron siete pesos; es decir que los organismos estuvieron ocho semanas sometidos al respectivo análisis. La evaluación de los pesos se lo hizo desde Postlarva 18 hasta Postlarva 73.



### 3.7.2.1. *Primeras evaluaciones postsiembra (cuatro primeras semanas)*

Esta evaluación comprende desde el estadio Post larva 19 hasta post larva 45; en los primeros tres pesos realizados hubo una estrecha relación tanto en los S-S, S-C y C-C; los pesos promedios de los tres tratamientos mostraron resultados parejos durante los pesos iniciales de las semanas postsiembras, hasta aquí no existen diferencia que demuestren ganancias en pesos en unos de los tratamientos utilizados. Las diferencias de pesos entre los tratamientos son mínimas presentando hasta el momento un crecimiento paralelo y datos de pesos similares de los tres tratamientos empleados.

De igual manera los resultados obtenidos de desviación estándar son muy bajos demostrando así que los datos son también significativos. A continuación se muestran los pesos promedios de los tratamientos en las primeras cuatro semanas de evaluación.

**Tabla 35.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el primer peso realizado en la semana postsiembra

Seleccionados-Seleccionados	0,02225
Seleccionados-Control	0,01862
Control-Control	0,01262

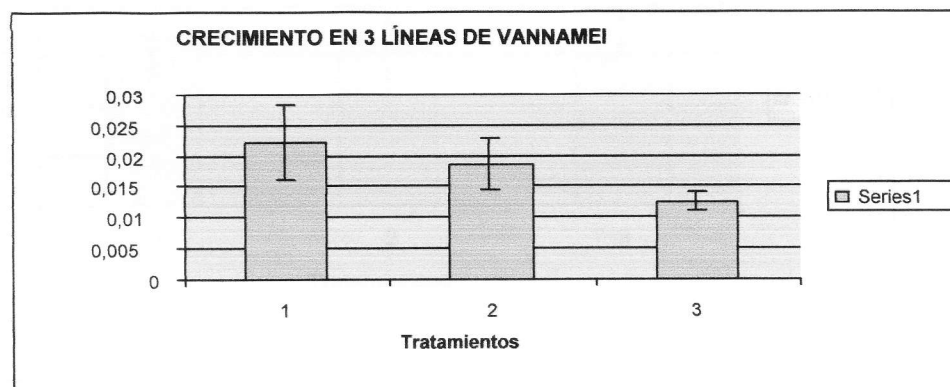
**Tabla 36.** Pesos promedios de los tres tratamientos, en el segundo peso realizado en las semanas postsiembra

Seleccionados-Seleccionados	0,10537
Seleccionados-Control	0,085
Control-Control	0,06837

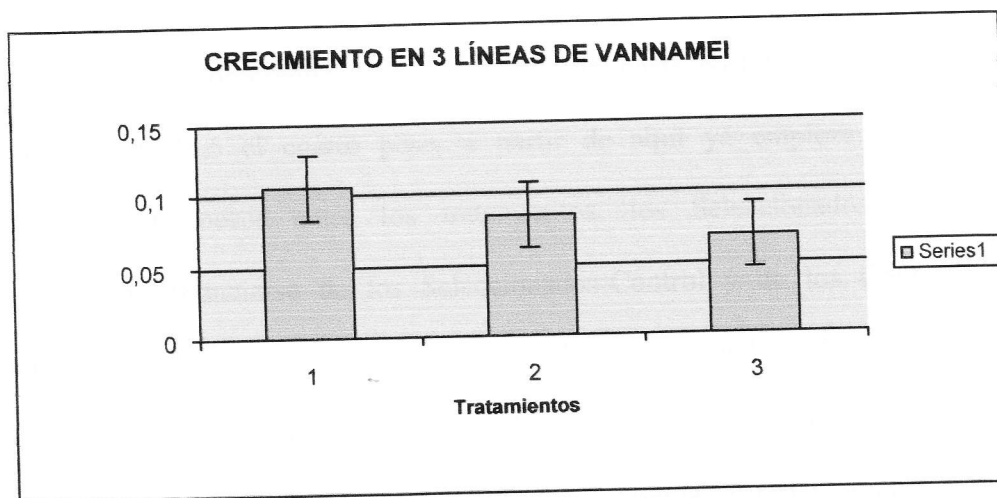
**Tabla 37.** Pesos promedios de los tres tratamientos, en el tercer peso realizado en las semanas postsiembra

Seleccionados-Seleccionados	0,17087
Seleccionados-Control	0,15325
Control-Control	0,14887

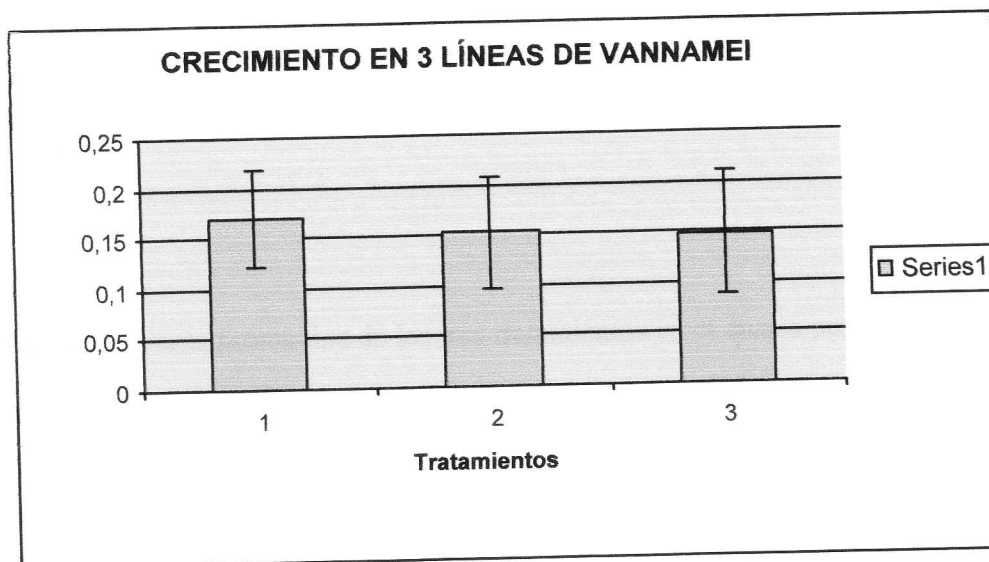
A continuación se muestran gráficamente los promedios de los organismos tomados en las tres primeras mediciones para los tres tratamientos.



**Figura 7.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el primer peso realizados en la semana postsiembra



**Figura 8.** Pesos promedios de los tres tratamientos, en el segundo peso realizado en la semana postsiembra



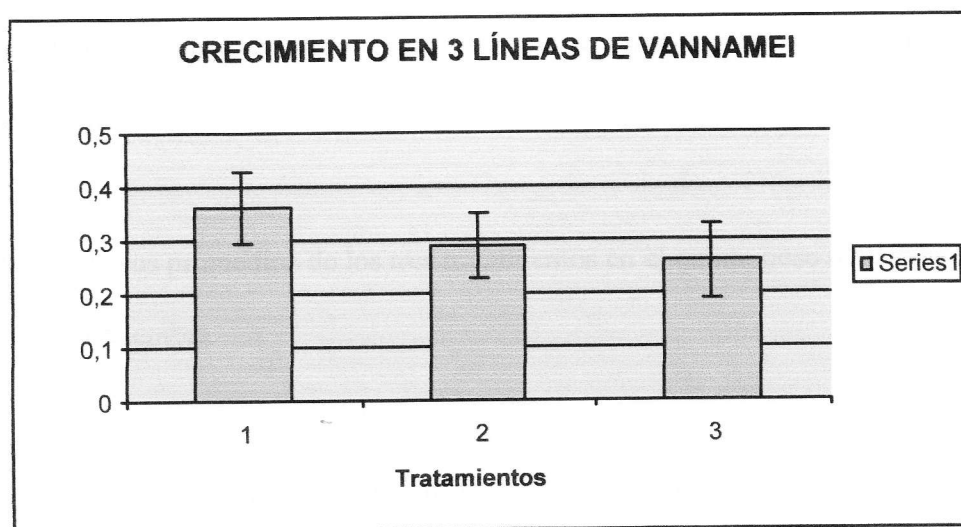
**Figura 9.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el tercer peso realizados en la semana postsiembra

### 3.7.2.2. Quinta semana postsiembra

Esta evaluación comprende desde post larva 46 hasta post larva 52. En la quinta semana se realizó el cuarto peso, a partir de aquí ya empiezan a observarse diferencias de pesos entre los tratamientos, los Seleccionados-Seleccionados empiezan a distanciarse de los Seleccionados-Control y de los Control-Control notándose una ligera diferencia en los datos de peso promedios, de igual manera los seleccionados-Control se alejan un poco de los Control-Control aunque su diferencia es mínima y apenas puede notarse. Aquí ya se presenta un orden aunque con pocas diferencias en cuanto a la variable evaluada (Peso), la ventaja que llevan hasta ahora de ganancia en peso los S-S de los S-C es de 0,31363 g, y de los C-C es de 0,37287 g; en tanto que los S-C tienen una diferencia más de 0,05923 g de peso que los C-C. Los valores estándares de los datos de esta semana son un poco alto en los S-S y en los dos tratamientos restantes son sumamente bajos, teniendo una representatividad de los datos muestreados.

**Tabla 38.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el cuarto peso realizado en las semanas postsiembra

Seleccionados-Seleccionados	0,36237
Seleccionados-Control	0,29062
Control-Control	0,2605



**Figura 10.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el cuarto peso realizado en las semanas postsiembra

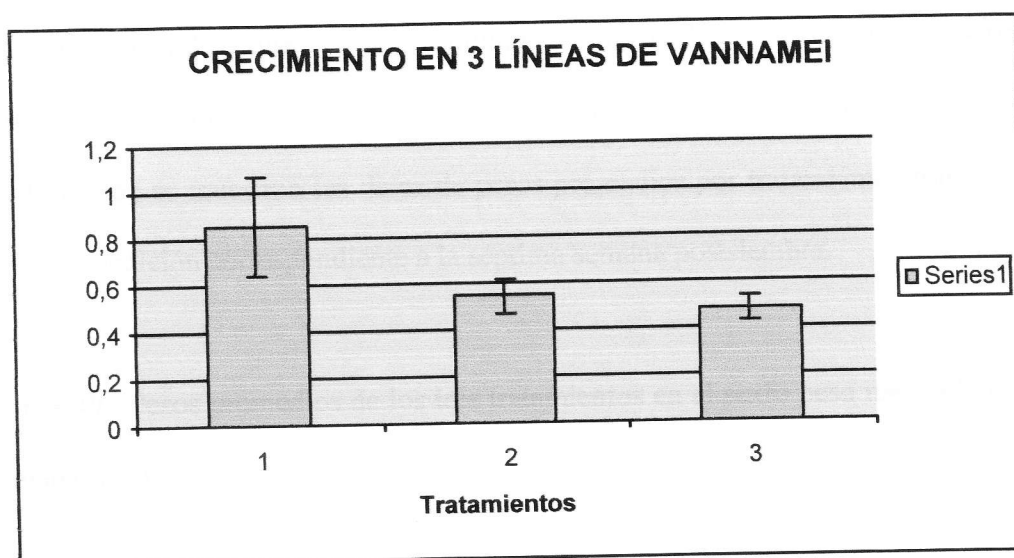
### 3.7.2.3. Sexta semana postsiembra

Durante la quinta medición realizada en la sexta semana postsiembra el estadio de los organismos fue de post larva 53 hasta post larva 59; los datos de pesos se alejan aún más en los tres tratamientos, se empieza a observar que los S-S presentan una notable diferencia de los dos tratamientos restantes, llegándoles a sacar una gran ventaja. De igual manera la diferencia mínima que había entre los S-C y los C-C se amplía un poco con relación a la medición anterior. Los datos de pesos promedios de los diferentes tratamientos muestran claramente un orden en donde los S-S son los primeros, seguidos de los S-C y por últimos los C-C. La ganancia de peso que tienen los S-S de los S-C es de 0,45253 g y con los C-C es de 0,51005 g, mientras que los S-C tienen una ventaja de 0,05751 g con respecto a los organismos C-C. A continuación

se muestran los datos de pesos promedios de los tratamientos durante la quinta semana de siembra.

**Tabla 39.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el quinto peso realizado en las semanas postsiembra

Seleccionados-Seleccionados	0,856
Seleccionados-Control	0,54236
Control-Control	0,48312



**Figura 11.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el quinto peso realizados en las semanas postsiembra

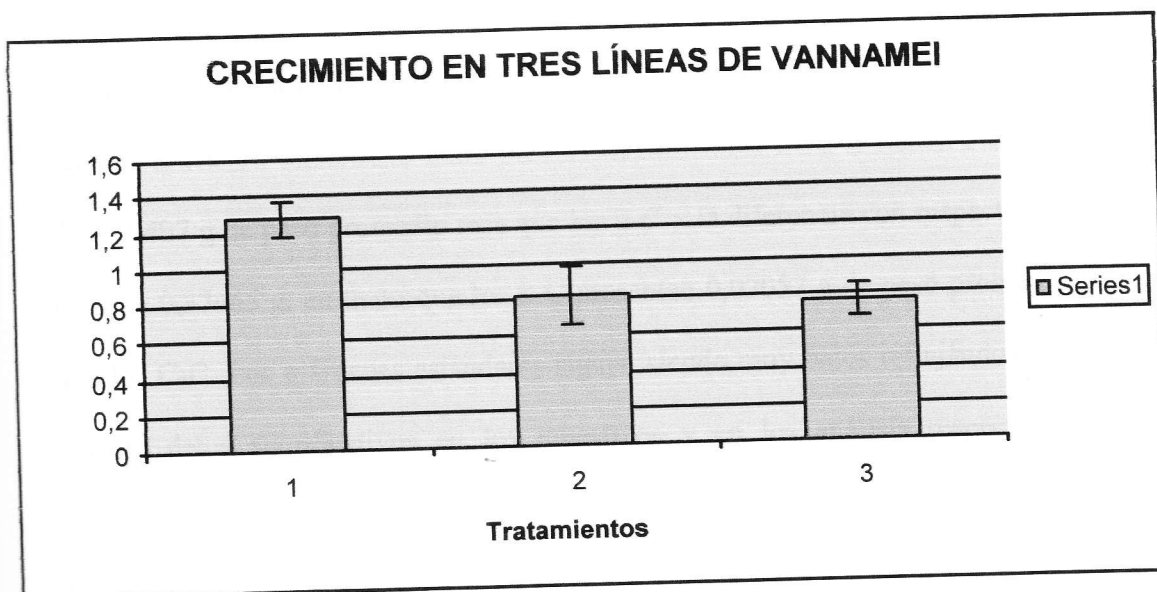
#### 3.7.2.4. Séptima semana postsiembra

La evaluación de esta semana se la hizo de post larva 60 hasta post larva 66. En la penúltima medición se sigue observando la supremacía de los S-S, estos continúan presentando los mayores pesos promedios de entre los tres tratamientos experimentados, hay una diferencia de 0,4526 g de los S-C y de 0,5100 g de los C-C.

Los S-C también mantienen la diferencia de 0,0575 g de los C-C. Con estos datos el orden de los pesos por tratamientos se sigue manteniendo, teniendo hasta el momento un crecimiento paralelo de los dos últimos tratamientos (S-S y C-C) y un incremento en peso de los S-S, estando claramente alejados los datos de este último de los dos restantes. Los Datos de desviación estándar de esta semana de valuación son muy bajos lo cual indica que los pesos individuales no están tan alejados de los pesos promedio por tratamiento y que las muestras tomadas son representativas. A continuación se muestran los datos de pesos promedios por tratamientos tomados en la sexta medición correspondiente a la séptima semana postsiembra.

**Tabla 40.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el sexto peso realizado en las semanas postsiembra

Seleccionados-Seleccionados	1,27164
Seleccionados-Control	0,819
Control-Control	1,76137



**Figura 12.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el sexto peso realizados en las semanas postsiembra

### 3.7.2.5. Octava semana postsiembra

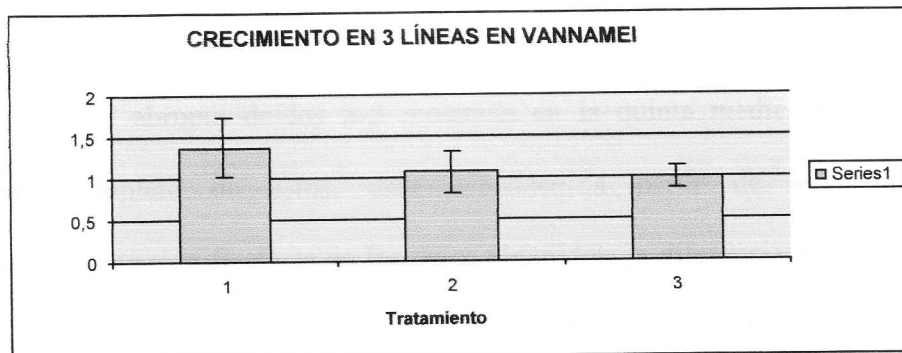
Los datos obtenidos de pesos muestran diferencias estadísticas significativas en los tres tratamientos al final del experimento. En la semana ocho de postsiembra se realizó el último peso respectivo y los tres tratamientos fueron evaluados por última vez, el estadio que presentaban los organismos hasta aquí fue de post larva 67 hasta post larva 73. Los organismos S-S que en las dos mediciones anteriores han presentado un notable incremento en cuanto al peso comparados con los otros dos tratamientos, siguen manteniendo y guardando la distancia, aunque se puede notar que el crecimiento de esta semana es un poco menor al de las dos semanas anteriores, sin embargo el dominio de estos sobre los S-C y los C-C continúa. El crecimiento paralelo de estos dos últimos se sigue mostrando, manteniendo siempre la diferencia



mínima presentada en las recientes semanas. Los pesos promedios obtenidos en esta semana muestran diferencias entre los tres tratamientos; los S-S tienen una cantidad de 0,30407 g de peso promedio más que los S-C y la diferencia con respecto a los C-C es de 0,37465 g, en tanto que los S-C presentan 0,07057 g de peso promedio más que los C-C. Los márgenes estándares siguen siendo muy bajos reflejándose de esta manera datos significativos en los muestreos y en los análisis respectivos. A continuación se muestran los pesos promedios por tratamientos de la última semana de muestreo.

**Tabla 41.** Pesos promedios de los tres tratamientos, en el séptimo peso realizado en las semanas postsiembra

Seleccionados-Seleccionados	1,37689
Seleccionados-Control	1,07281
Control-Control	1,00224



**Figura 13.** Pesos promedios de los tres tratamientos en el séptimo peso realizados en las semanas postsiembra

### 3.7.2.6. Resumen de crecimiento en semanas postsiembra

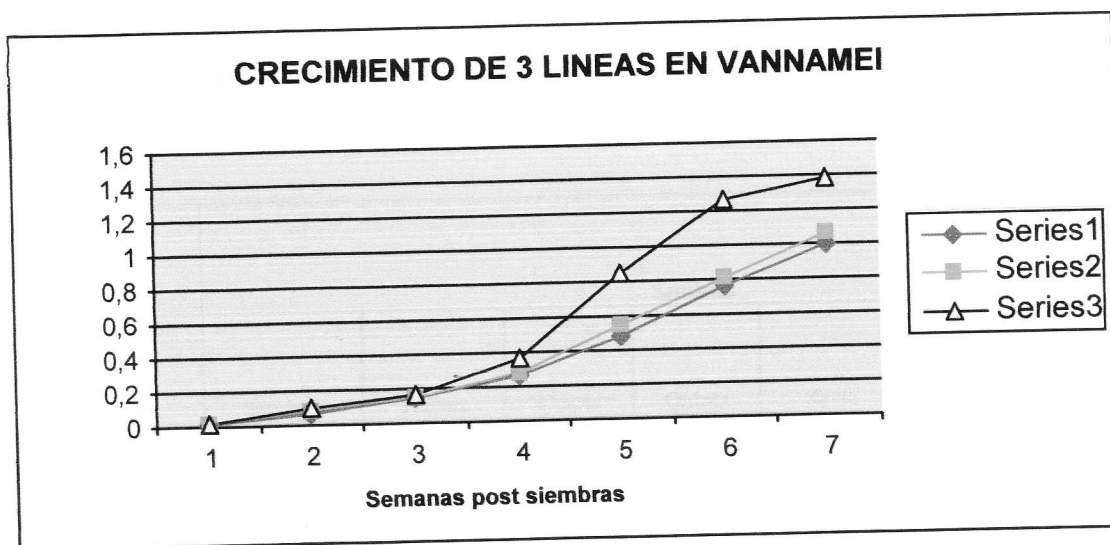
Es muy estrecha la relación que existe entre los tres tratamientos trabajados con respecto a la variable analizada en las semanas iniciales de postsiembra. Los datos demuestran que en las cuatros primeras semanas es decir en los tres muestreos realizados al inicio no hay diferencias estadísticamente significativas de peso y no se puede establecer el dominio en crecimiento de un tratamiento en particular; los datos son muy claros y brindan una visión propicia del crecimiento paralelo de los tres tratamientos aplicados y que su relación de sus valores en pesos promedios es similar.

En la quinta semana postsiembra se nota un ligero incremento y a la vez diferencias entre los tratamientos, los S-S empiezan a encabezar la lista de los de mayor peso seguidos de los S-C y de los C-C en ultimo lugar, aunque los datos obtenidos muestran que la diferencia es mínima a partir de aquí se comienza a notar distintos valores de pesos que hacen que los tres tratamientos utilizados sean diferentes entre sí.

El incremento abrupto de los S-S mostrada en la quinta medición evidencia un dominio completo de estos, estableciéndose a partir de aquí diferencias estadísticamente significativas en los datos obtenidos, la diferencia de peso existente entre el primero y el último es de 0,37287 g mostrando a los organismos S-S como los que presentan el mejor peso y a los C-C como los últimos y los que menor peso promedio muestran hasta ahora. En tanto que la diferencia presentada entre los S-C y los C-C es estrecha, mostrándose un crecimiento paralelo entre estos dos tratamientos.

En la sexta medición se sigue dando las márgenes de diferencia que en la medición anterior en los tres tratamientos existiendo una diferencia de peso de 0,51005 g entre el primero y el último. La última medición realizada muestra solamente una ligera disminución de incremento de peso en cuanto al rango de diferencia presentado en las dos semanas anteriores, sin embargo se sigue manteniendo el orden de los respectivos tratamientos.

Las tres últimas semanas fueron decisivas ya que fue ahí donde se notó cambios y diferencias de peso promedios en los tratamientos utilizados y se pudo establecer cual de estos fue el mejor, habiendo recibidos todos el mismo trato y manejo. A continuación mostramos un gráfico en donde se detalla el resumen del crecimiento en las semanas postsiembras de los tres tratamientos utilizados.



**Figura 14.** Resumen de los pesos promedios de los tres tratamientos realizados durante las semanas postsiembra

### 3.7.3. Análisis de anova simple

Los resultados obtenidos de los pesos promedios por líneas muestran claramente una representatividad de los datos. El análisis de anova simple para las tres líneas en general demuestra que la probabilidad es realmente significativa en la mayoría de los pesos realizados. Solamente en el tercer peso los datos de probabilidad no son significativos ya que es esta es mayor a 0,05 que es el grado alfa con el que se trabajo. A excepción de este dato, todos los pesos de las tres líneas utilizadas presentan datos significativos y altamente significativos durante las ocho semanas de análisis.

**Tabla 42.** Representatividad de los datos de pesos realizados en las ochos semanas mediante el análisis de anova expresados en probabilidad ( $p < 0,05$ ).

	Semanas						
Fuente	Segunda	Tercera	Cuarta	Quinta	Sexta	Séptima	Octava
Prob de líneas	0,009	0,019	0,7072	0,016	-0,0001	-0,0001	0,0243

## **4. CONCLUSIONES:**

### **4.1. INICIADORES**

Para realizar una prueba de parentesco y emplear una selección genética utilizando microsatélites es importante tener en cuenta en primer lugar que tipo de iniciadores son los que se deben emplear, ya que tienen que poseer un buen grado de amplificación, el tamaño de las bandas debe ser apropiado para su lectura, y necesariamente debe ser polimórfico. Partiendo de estos requisitos básicos podemos determinar que nuestras pruebas de parentescos amplificaran de una buena manera y tanto su lectura como su análisis serán exitosos. De los 14 microsatélites escogidos y utilizados en este experimento casi en todos se obtuvo diversidad de frecuencias alélicas como diferencias significativas.

### **4.2. PERFIL GENÉTICO**

Los diferentes tipos de alelos presentados demuestra claramente la diversidad genética que poseen los organismos utilizados para el experimento. Los alelos de mayor riqueza desde todos los puntos de vistas fueron los de las hembras seleccionadas comparados con los machos seleccionados y las hembra y machos controles. Casi todos los microsatélites a excepción de dos (CNM-367 y CNM-435) de los 14 probados, muestran diferencias estadísticamente significativas en sus frecuencia alélicas en los tres grupos.

Los datos de diferenciación demográfica demostraron que tanto hembras y machos seleccionados no eran totalmente diferentes, cuando ambos grupos eran considerablemente diferentes de grupo control.

Las distancias genéticas fueron más altos entre los grupos controles y los machos seleccionados (0.38) que en los controles y hembras seleccionadas (0.24), en tanto que las distancias genéticas entre las hembras y machos seleccionados era más corta (0.14).

#### **4.3. DETERMINACIÓN DE PARENTESCO**

Mediante el software Kingroup (Konovalov et al., 2004) se pudo demostrar relaciones de pedigrí para la asignación de grupo de familias y de parentescos, con esto se demostró que los grupos seleccionados eran una población diferente de los grupos controles de ahí que el parentesco de los dos grupos fueron realizados por separados, usando dos niveles de división de grupos para la evaluación y una hipótesis alternativa de individuos no relacionados. La consanguinidad fue similar para el grupo control (0.23) y las hembras seleccionadas (0.22), mientras que los machos seleccionados mostraron un coeficiente inferior de inbreeding (0.15).

#### **4.4. DIRECCIÓN DE CRUCES**

En los cruces realizados para los diferentes organismos solamente se tomaron en cuenta el grado de consanguinidad en unos de los cruces dirigidos y fue en el de los

individuos SS, es decir de hembras y machos seleccionados y los cruces de estos individuos fueron hechos solamente por inseminación artificial. En tanto en los cruces de hembras seleccionadas con machos controles (SC) y de hembra y machos controles no se consideró la consanguinidad que presentaron y los cruces fueron hechos por cópula natural y por inseminación artificial. Todas estas cópulas e inseminaciones fueron realizadas en tres días de trabajos sometiendo a las hembras a un estricto control y régimen alimenticio.

#### **4.5. DATOS DE DESOVES**

Durante todos los cruces dirigidos hubo un total de 57 hembras con las que se trabajó. De estas, 34 fueron copuladas naturalmente y 23 inseminadas de forma artificial; 39 presentaron un desove total, 10 un desove parcial y 8 hembras no desovaron para nada. Los nauplios obtenidos por tratamientos fueron: *seleccionados-seleccionados* 750000 nauplios en 15 l, *seleccionados-control* 3096000 nauplios en 15 l y *control-control* 450000 nauplios en 15 l. La deformidad de los nauplios obtenidos en los tres días de trabajos fue muy baja, tanto en el primer como en el segundo día la más baja fue del 1% y la más alta del 6% y en el tercer día estuvo entre 3% y 4% respectivamente. La cantidad total de nauplios obtenidos en los tres tratamientos durante los tres días de trabajos fue de **4296000**



## 4.6. EVALUACIÓN DE ORGANISMOS

### 4.6.1 Larvicultura

En la primera fase de evaluación correspondiente a la larvicultura, la variable evaluada (Longitud-crecimiento) en los estadios de nauplios hasta Postlarva 18 de los tres tratamientos (SS, SC, CC) es pareja, es decir que los datos de longitud tomados en milímetros no presentan diferencias estadísticamente significativas y los resultados demuestran que no existe ningún tipo de diferencia en tamaños en ninguno de los tres tratamientos evaluados. Con esto no existe ningún tipo de dominio de ningún tratamiento manteniéndose de esta manera igualdad en los datos.

Con esto podemos demostrar que el crecimiento de los organismos, sea cual sea su procedencia genética o el tratamiento que se emplee es paralelo en los estadios tempranos del camarón. La variable evaluada como es la longitud no presentó diferencias sino más bien la igualdad en el tamaño es muy pareja. Es muy difícil saber si algún tratamiento en especial para camarones o alguna línea genética mejorada de camarón esta creciendo mucho más rápido que un tratamiento control, en estos estadios la evaluación no funciona, ya que no podemos observar datos que demuestren diferencias en crecimiento.

De la misma manera se trató de establecer diferencias entre los tanques de un mismo tratamiento, pero como los datos obtenidos demuestran que existe una estrecha relación en longitud de todos los organismos y de todos los muestreos, por lo tanto de

manera general todos los tanques de un mismo tratamiento presentaron al final datos parejos y sin deferencias estadísticas bien marcadas.

#### **4.6.2. Tanques rectangulares**

En la segunda fase de la evaluación de los organismos comprendida desde el estadio Post larva 19 hasta post larva 73, las evaluaciones realizadas durante las ocho semanas fueron cambiando. Durante las cuatros primeras semanas de avaluación hubo una estrecha relación en peso entre los tres tratamientos empleados y no hubo ningún tipo de ganancia en cuanto a peso se refiere. De la quinta semana en adelante se empezó a notar el dominio de los S-S y fueron finalmente estos quienes presentaron mayor peso seguidos por los S-C y los C-C.

La diferencia de peso que existe entre los S-S de los S-C y los C-C es considerable siendo los S-S los que dominaron y los que presentaron finalmente los pesos más altos en el experimento. Desde la quinta semana en adelante Los S-S tuvieron las mayores ganancias en peso presentando organismos muchos más grandes que los dos tratamientos restantes.

Los S-C presentaron los segundos mejores pesos evidenciándose de esta manera la importancia de solamente un organismo seleccionado. El peso y el tamaño de estos organismos fueron mayores a los C-C, siendo estos últimos los que tenían los *organismos más pequeños de los tres tratamientos utilizados.*

El orden jerárquico en el que se presentaron los tratamientos deja en claro la importancia al recurrir a la utilización de organismos seleccionados. Si solamente uno de los dos progenitores o parentales es seleccionado y es cruzado con un individuo silvestre cualquiera y a su vez son empleados en una producción, se obtendrán organismos con mejores pesos y tamaños muchos más grandes que los obtenidos comúnmente en una producción normal. Pero si los progenitores a utilizar en una siguiente generación son seleccionados y estos son utilizados para una producción comercial, se garantizará obtener al final, reproductores con un incremento mayor en tallas y pesos e incluso con mayores ganancias genéticas. El aporte genético que brindan los organismos seleccionados utilizados para crear una siguiente generación es tal que se incrementa el volumen en masa de los descendientes.

Con el primer ciclo de selección realizado se obtuvieron ganancias genéticas y en volumen de peso y masa corporal demostrados en este trabajo, si se realizaran diez ciclos de selección utilizando solamente individuos seleccionados en una producción comercial los niveles de producción se incrementarán al doble y por lo tanto los ingresos económicos de producción se duplicarían y estaríamos mejorando e incrementando la producción a nivel nacional solamente con la utilización de organismos seleccionados con una sistema de producción comercial de los utilizados en el país por muchos camareros.

La importancia de utilizar organismos seleccionados en una producción es fundamental, ya que las ganancias genéticas y en peso obtenidas son evidentes en este trabajo. El utilizar progenitores seleccionados para una generación de individuos garantiza mayor volumen en peso, mayor ganancia genética y lógicamente una mejor producción en cuanto a esta especie se refiere.

## DISCUSIÓN

El análisis de diversidad genética y la determinación de parentesco para la reconstrucción de pedigrí pueden ser realizados por marcadores microsatélites. En este estudio determinamos el genotipo de tres Grupos de animales sacado de un alto proceso de selección de presión masal. Los datos fueron usados para la variabilidad genotípica y el análisis de diferenciación genético. Además, la división de grupo en dos niveles fue realizada: grupos de hermanos completos (FS) y grupos de hermanos completos más primos (FS+C).

El efecto de domesticación y la selección masal teóricamente esta orientada a una disminución de variabilidad genética (Wolfus et al., 1997). En tilapias el número de alelos y la heterocigocidad ha sido relatado después de cuatros ciclos de selección (Rpmana-Eguia et al., 2005). De igual manera en *Penaeus monodon* (Xu et al. 2001) relatan una reducción sobre el número de alelos y genotipos comparando poblaciones salvajes. Así mismo en el salmón la reducción de la diversidad de alelos en un 20 y 48% fue determinado comparando poblaciones salvajes (Mjblnerbd et al., 1997, Norris et al., 1999, Skaala et al., 2004). Con nuestro trabajo no encontramos una reducción sobre el número de alelos, ni heterocigocidad debido al proceso de selección, ya que ninguna variabilidad disminuida en el nivel de microsatélites fue observada, es evidente que la selección masal en la alta presión no erosiona la variabilidad genética por sí mismo donde un número apropiado y eficaz de parentales

fueron utilizados. Esto podría ser un verdadero sostén aún para poblaciones con un nivel moderado de inbreeding como en nuestro caso (la  $F = 0.23$ ).

El nivel de Fis (coeficiente de consanguinidad de la población) inbreeding era similar entre el grupo control y el grupo de hembras seleccionadas (0.23 y 0.22 respectivamente). Inbreeding para machos seleccionados era inferior (0.15) pero el pequeño tamaño de la muestra podría dificultar la generalización de este resultado. La depresión de inbreeding podría ser medido directamente cuando la información sobre la Fis y el valor de fenotipo individual está disponible en un nivel demográfico.

Cuando propusieron la Heterocigocidad a Múltiples Locus (MLH) como un alternativa para el Fis (Slate et al., 2004) se utilizó este en algunos experimentos; (Bierne et al. 2000), relata una correlación positiva entre el multilugar heterocigótico MLH y el índice de crecimiento en dos variables de *P. stylirostris* mantenidos en aislamiento durante 17 generaciones. Del concepto de MLH y los resultados en *P. stylirostris*, es evidente que más individuos presentaron esta correlación, p. ej. Aquellos teniendo más alto los niveles de heterocigocidad deberían presentar genotipos extremos. No era la cuestión con nuestro trabajo, donde los valores de Fis eran similares y no se diferenció entre el grupo control y el grupo de hembras seleccionadas. MLH era un prototipo de genotipos extremos, como un indicador de nivel bajo de inbreeding, entonces el grupo de individuos con genotipos extremo

nuestras hembras y machos seleccionados, debe en el promedio tener los niveles inferiores de F inbreeding que el grupo de control.

La prueba para la diferenciación demográfica mostró que los individuos seleccionados divergieron del grupo de control. Los machos y hembras seleccionadas eran genéticamente idénticos mientras que diferentes del grupo control. La carencia de diferenciación entre ambos grupos seleccionados podría ser explicada por el tamaño de la muestra en el grupo de machos seleccionado, donde sólo 14 individuos eran genotipados. Sin embargo ninguna diferenciación fue vista entre los machos seleccionados y grupos de hembras. La estructura demográfica es medida por la variación de frecuencias alélicas debido a cambios adaptativos de poblaciones salvajes debido a la mutación, la selección, y la migración. En un proceso de selección, este cambio es el resultado directo del moldeado de la población original debido a la presión de selección para el carácter a mejorar, cuando otras variables como parentales seleccionados y la información de pedigrí son usadas para reducir al mínimo el flujo genético (Romana-Eguía 2004).

(Nei 1972) Distancias genéticas entre el grupo control contra hembras seleccionadas y grupo control contra machos seleccionados era muy alto (0.24 y 0.38 respectivamente). En una evaluación similar sobre *P. vannamei*, seis líneas seleccionadas para 5 generaciones para el crecimiento en la presión baja (20 al 10 %) y evaluado bajo las mismas condiciones mostraron distancias genéticas entre 0.06 a

0.21 (datos inéditos). En la platija japonesa, (Nei 1972) distancias genéticas entre individuos resistentes y susceptibles para *Vibrio anguillarum*, seleccionado para una generación y sacado de una población salvaje, eran 0.08 (Liu et al., 2005). En el *Salmón salar* (Nei's 1978) distancias genéticas entre tensiones domesticadas recorridas de 0.008 a 0.188 (Skaala et al., 2004). El mismo análisis (Nei 1978) a la par con nuestros datos mostró los valores de 0.23 (el control contra hembras seleccionadas), 0.30 (el control contra machos seleccionados) y 0.07 (hembras seleccionadas contra machos seleccionados).

El hecho que altas presiones de selección generan estos niveles de diferenciación genética es indicativo del poder de formación genética con una presión de selección del 1 %. Ya que nuestros datos fueron generados de animales de la misma generación, nuestro estudio excluye los efectos posibles de flujo genético debido al número reducido real de padres seleccionados durante el proceso de reproducción.

Lo que podemos ver que aquí está el efecto directo de selección en la modificación de estructura genética. Un programa de cría de largo plazo basado en la selección de masas con la alta presión debería cambiar frecuencias génicas en niveles no antes relatados.

El dimorfismo sexual ha sido demostrado en *L. vannamei* donde las hembras tienen tienden a presentar mayores peso y tamaños que lo machos. (Argueet al., 2002,



Gitterle et al., 2005). En una población con estas características, en un proceso de selección masal debería aplicarse presiones de selección diferentes a cada sexo. La verdad, era el caso para nuestros animales ya que los machos eran sumamente desequilibrados en comparación con las hembras, cuando los animales entraban al sistema de maduración. La diferencia de tamaño entre machos y hembras debería estar alrededor del 9 %. De hecho calculamos que mientras que las hembras fueron seleccionadas alrededor del 1 %, los machos fueron seleccionados en aproximadamente el 0.2 %.

El empleo de la información de los microsatélites para la determinación de familia fue probado con los animales control y seleccionados. En una situación ideal con el número bajo de familias, el alto polimorfismo de los microsatélite y genotipo paternal conocido, la asignación de familia con microsatélites es real. Tal situación antes ha sido relatada en *P. japonicus* (Sugaya et al., 2002). Sin embargo, en la producción comercial, las condiciones son remotas. Nuestros datos fueron generados de un grupo de animales cultivados en condiciones comerciales pero la obtención de parentales de esta población no era posible. Esta situación es común en la acuicultura donde marcadores moleculares podrían permitir la reconstrucción de pedigrí (Norris et al., 2000). Una población de camarón comercial es formada por una sola generación de cruces. Estos cruces corresponden a familias de solamente hermanos ya que un macho siempre insemina a una hembra. La recuperación femenina y masculina para la preparación de otro cruce puede variar de 5 a 30 días que excluyen la posibilidad

de parentescos en la mitad en esta clase de población (L. Harri, comunicación personal). Si la población paternal tiene un nivel de inbreeding, es también posible que algunos individuos sean el producto de mezclas de los padres relacionados que pueden generar la tercera progenie de grado (primos hermanos). Además, una maduración comercial con reproductores de mediana talla produce más de 200 cruces por noche.

Bajo estas circunstancias el número real de parentales seleccionados podría alcanzar un nivel que permita la conservación de variabilidad genética sin el flujo sensible.

Dependiendo del polimorfismo y el número de cruces, 15 a 20 microsatélites podrían ser suficientes para distinguir entre grupos de solamente hermanos sin tener otra relaciones de individuos, mientras que 10 microsatélites podrían discriminar entre grupo de hermanos más primos y sin relaciones individuos (Blouin, 2003). Con este trabajo relatamos el grupo generado con 14 microsatélites con un número variable de alelos.

El beneficio genético en un programa de selección masal esta relacionado con tres factores: heredabilidad, fenotipo, discrepancia expresada como desviación estándar del carácter en selección e intensidad de selección. La heredabilidad es un valor que es inherente a la población y las condiciones ambientales donde la población se desarrolla. El aumento de heredabilidad podría ser alcanzado por un buen control de

las condiciones ambientales. Sin embargo en un ajuste comercial esto podría ser imposible controlar o mejorarse. El fenotipo es también una variable que puede ser aumentada para mejorar el beneficio genético, con regularidad en el principio de un programa de cría por la construcción de poblaciones bajas con una amplia contribución de variación genética. Sin embargo, una vez que un programa de cría se proyecta como una vía, el fenotipo puede ser considerado como un factor fijo que con cuidado debería ser manejado para asegurar el éxito a largo plazo del programa de selección. La intensidad de selección de otra parte es el único miembro de la ecuación que fácilmente puede ser manipulada por el criador.

En una población dada, la distribución normal de un carácter es la suma de pequeñas distribuciones correspondiente a la variación de familia que forman una descendencia. Teóricamente, conforme a un programa de cría, más alto el nivel de intensidad de selección, menos las familias seleccionadas, que disminuye la contribución genética a la siguiente generación. Un número reducido de familias significa una erosión de la variabilidad genética y el aumento de inbreeding. Un compromiso entre la presión de selección y la conservación de variabilidad y el nivel de inbreeding debería ser alcanzado cuando la información de pedigrí no está disponible.

Sin embargo si la información de pedigrí era de una selección masal disponible podría ser optimizado para el beneficio máximo genético (Doyle y Herbinger, 1994).

En la Acuicultura, donde miles de individuos son cultivados en condiciones similares, la presión de selección podría alcanzar altos niveles, en el orden de 1/100 o aún 1/1000. Consideremos por ejemplo una charca de camarón comercial en las condiciones extensas que podrían producir alrededor de 60000 individuos por hectárea. Charcas comunes, en condiciones ecuatorianas, pueden contener alrededor de 600000 individuos y las presiones de selección pueden ser bastante altas.

La división de grupos de poblaciones es una forma de conocer el pedigrí usando los marcadores moleculares. La determinación de métodos para la división de grupo es un área activa de investigación (Blouin, 2003). En una simulación en *Cassostrea*, con información paternal disponible, se manifestó aquel el 87 % de individuos podría ser dividido cuando un número de 13 familia fue reunido usando 3 lugares sumamente polimórficos. Con 88 genotipos paternos, del 5 al 7.9 % de la progenie inequívocamente podría ser asignado (Taris et al., 2005). En un estudio similar en *P. Japonicus*, las simulaciones mostraron que el 95 % de la progenie podría ser asignado a paternos con 9 microsatélites. Resultados sin embargo empíricos con 6 microsatélites permitieron a la asignación correcta del 47 % de individuos evaluados con la madre verdadera. Las discrepancias entre las simulaciones y los resultados empíricos fueron explicadas por la presencia de alelos nulos y pobres genotipos debido a la pobre calidad de ADN (Jerry, 2004).

La división de parentescos de grupos seleccionados y grupos de control era posible solamente con esta la información generada. La mejora de la división podría ser posible con un número más alto de locus, más alto el nivel de polimorfismo y la disponibilidad de genotipos paternos. Sin embargo, aunque la división de grupo no pudiera ser perfecta, la posibilidad de tener la información al menos parcial podría ayudar a dirigir cruces en un programa de cría para evitar inbreeding. El empleo de información basada en la división de Parentescos (primos hermanos) podría ser mejor para dirigir cruces de información basados solamente sobre grupos de parentescos.

Las mezclas de grupos de Primos podrían ayudar a proteger contra la posibilidad de usar la información de parentesco donde la división no podría ser bastante exacta.

Además, la disponibilidad de información genotípica podría ayudar a seleccionar a individuos específicos con alelos raros para aumentar sus frecuencias. Esto podría ayudar artificialmente a mejorar la variabilidad genética de la población en la selección.

En el grupo de hermanos completos se presentaron un total de 41 grupos en los animales control y 59 grupos en los seleccionados. Los hermanos completos + primos mostraron 15 grupos en los animales control y 21 grupos en los individuos seleccionados. Un macho del grupo seleccionado fue dividido solo como el miembro de un grupo en ambos FS y FS+C. Otros machos seleccionados fueron agrupados con

hembras en FS diferente y grupos FS+C. La identificación de tales individuos en un programa de cría y su empleo en cruces podría contribuirse con la variabilidad genética que de otra manera será perdida.

En los grupos Control FS, el 49 % de la población correspondió a 12 de los 41 grupos obtenidos, el significado que el 49 % de la población fue producido en el 29 % de las parejas disponibles paternas. En los individuos Seleccionados el 51 % de la población fue asignado en el 21 % de grupos FS. Asimismo para el análisis FS+C, el 57 % de los individuos controles fue asignado en 3 grupos (el 20 %) mientras que el 54 % de los individuos seleccionados fue asignado a 6 grupos (el 28 %).

Aproximadamente el 50 % de la población fue asignado a pocos grupos. Este hecho podría ser explicado por el número diferencial de huevos por supervivencia femenina en todas partes de todas las etapas de crecimiento que podrían ser relacionadas con motivos genéticos. En la maduración de camarón, las hembras muestran una amplia gama de huevos y producción nauplios. Así mismo las diferencias de supervivencia de grupos de familia antes han sido relatadas (Gitterle et al., 2005).

El alto nivel de variabilidad de los microsatélite y número de FS y grupos FS+C encontrados en los individuos seleccionados era un encuentro inesperado, se opuso a las previsiones de pérdida de variabilidad esperada por aproximaciones teóricas. En condiciones favorables para el número efectivo de reproductores ( $N_e$ ) disponible en

maduraciones comerciales es posible especular que una selección masal tratada en el 1 % o presiones inferiores podrían ser posibles sin la pérdida sensible de variabilidad genética que usa la información de los microsatélite. Además, el microsatélite podría ayudar a supervisar la variabilidad baja demográfica y el nivel de erosión de variabilidad durante cada ciclo de selección para asegurar un beneficio sostenible genético.

Durante la selección masal sobre el camarón hemos encontrado machos y hembras que se desvían hasta 7 desviaciones estándar de la población. Estos individuos podrían representar genotipos extremos de las familias a las cuales ellos pertenecen.

Hasta ahora aquellos fenotipos extremos fueron desechados bajo la sospecha que aquellos animales no podrían pertenecer a la población en la selección. La agrupación de aquellos individuos extremos con FS o grupos FS+C podría manifestarse que individuos extremos encontrados sobre charcas comerciales pertenecen a la población criadora y su valor de cría podría ser un objetivo sumamente valioso. El futuro trabajo con la agrupación tomará en cuenta a estos individuos y si la selección es positiva ellos serán usados como futuros parentales.

La alta presión de selección sobre poblaciones de camarón comerciales, donde el número efectivo de reproductores es elevado, y la disponibilidad de marcadores microsatélites para dirigir cruces abre nuevas avenidas para la selección de camarón.

La evaluación del procedimiento combinado (Doyle y Herbinger, 1994), es el camino y su validación podría tener un impacto interesante para la industria donde el crecimiento y la supervivencia son los aspectos principales económicos de interés. La anulación de inbreeding, conservación y supervisión de variabilidad genética y el beneficio genético parece factible con los instrumentos introducidos con este trabajo.



## RECOMENDACIONES

Es muy importante tener en cuenta las poblaciones presentes de determinados organismos especialmente en camarones ya que encontraremos individuos de diferentes pesos y probablemente en dicha población, además de una gran diversidad genética por la cantidad de individuos existentes. Mientras mayor sea la cantidad de organismos presentes en la población mayor será la probabilidad de encontrar variedad de genes con organismos que presentan una información genética distinta a los otros.

Para llevar a cabo una selección genética es muy importante tener en cuenta el tipo de selección y la presión de selección que se vaya a utilizar, ya que mientras más alta sea la presión de selección más alto será el grado de consanguinidad de los organismos seleccionados. La consanguinidad es determinante en un proceso de selección ya que no podemos cruzar individuos emparentados genéticamente porque afectaría parámetros como crecimiento y supervivencia viéndose reducidos y reflejando en la producción constituyéndose en una gran desventaja para el sector comercial.

En las pruebas de parentescos para selección genética es importante utilizar microsatélites variables o polimorficos, ya que permitirá obtener y observar un gran

número de bandas ajustándose de esta manera a los modelos de segregación mendeliana. Estos microsatélites son muy atractivos para los genetistas pues combinan varias ventajas como son su codominancia, multialelismo y su alta heterocigocidad; de esta manera los datos de pruebas de parentescos para selección genética darán una mayor confiabilidad en el momento se realizar los respectivos cruces de los organismos.

Un proceso de selección genética implica una serie de pasos y procedimientos con un tiempo determinado. En un ciclo de selección se obtienen ganancias en peso y masa de un 10 % lo cual constituye un incremento en crecimiento y se obtienen organismos seleccionados que servirán para realizar posteriores ciclo de selección. Es recomendable realizar ciclos de selección para mejoramiento genético ya que comercialmente incrementa los ingresos en cuanto a la producción nacional.

Realizando 10 ciclos de selección genética se obtendrán ganancias del 100 % en crecimiento duplicando de esta manera el peso de los organismos porque al final veremos individuos con mayor talla y peso que los utilizados originariamente. De igual manera la producción comercial se habrá duplicado representando fuertes ganancias para todo el sector camaronero y nacional.

Los organismos productos de una selección genéticamente presentarán una gran diversidad genética, porque podemos obtener líneas mejoradas de camarones con

información genética diferente a las otras. De esta manera estamos contribuyendo al aumento de poblaciones genéticas diferentes y lo que es más importante a la no desaparición de poblaciones originarias de individuos.

Para los productores camaroneros es importante el tener líneas distintas de camarones y de esta manera obtener descendencia de individuos diferentes con probabilidades de sacar finalmente reproductores con mayores pesos y el poder contar en stop con líneas genéticamente mejoradas y garantizadas como producto de un excelente proceso de selección genético.

Los trabajos de selección requieren un gran esfuerzo y una buena manipulación en todos los procedimientos a seguir, por lo tanto se recomienda realizar un buen trabajo y un control minucioso de todo lo que implica esto, y de esta manera garantizar finalmente el trabajo realizado con los resultados obtenidos en la etapa final de todo el proceso de selección.

## BIBLIOGRAFÍA

Araneda, C. 1999. Apuntes de marcadores moleculares. Departamento de producción animal. Facultad de ciencias agrónomas. Universidad de Chile.

Arenguren, J. 2002. Caracterización y relaciones filogenéticas de cinco razas Españolas en peligros de extinción mediante la utilización de marcadores microsatélites. Programa de doctorado de producción animal. Universidad autónoma de Barcelona.

Arengure J., Jordana J. 2002. Utilización de marcadores de DNA (Microsatélites) en poblaciones de animales domésticos en peligro de extinción  
[http://www.cecalc.ula.ve/AVPA/articulos\\_libres/AVPAconservacion.pdf](http://www.cecalc.ula.ve/AVPA/articulos_libres/AVPAconservacion.pdf).

Bailey, Jill. 2003. Evolución y genética: las moléculas de la herencia. Madrid: Editorial Debate, 1995. Obra de carácter divulgativo.  
[//es.encarta.msn.com/encyclopedia](http://es.encarta.msn.com/encyclopedia)

Bains, William. 2003. Ingeniería genética para todos. Madrid: Alianza Editorial, 1994. Obra de divulgación sobre ingeniería genética.  
[//es.encarta.msn.com/encyclopedia](http://es.encarta.msn.com/encyclopedia)

Becerra V, Paredes M. 2000. Uso de marcadores Bioquímicos y moleculares en estudio de diversidad genética. <http://www.scielo.cl/scielo.php>.

Benítez, Javier. 2004. ¿Por qué nos parecemos a nuestros padres?: los genes y las leyes de la herencia. Madrid: Ediciones Temas de Hoy, 1997. Obra actual de carácter divulgativo. [//es.encarta.msn.com/encyclopedia](http://es.encarta.msn.com/encyclopedia)

Bermeo, J. 2003. Marcadores moleculares y bioinformática. Instituto nacional de investigaciones agropecuarias. [//www.inia.org.uy/investigación/biotecnología/marcadores.htm](http://www.inia.org.uy/investigación/biotecnología/marcadores.htm).

Bjornstad, G., Roed, K.H. 2001. Breed demarcation and potential for breed allocation of horse assessed by microsatellites markers. *Anim. Genet.* 32 (2) 59-65.

Cañón, J., D. Parra., S. Dunner. 2002. Control de paternidad y Pedigrí genético. Laboratorio de genética. Facultad de veterinaria. 1-5p.

Claros, G. 2004. Marcadores Moleculares. Departamento de biología molecular y bioquímica. Universidad de Malaga. [//www.encuentros.uma.es/](http://www.encuentros.uma.es/).

Cousinou, M., M. Pérez. 2004. Secuenciación de cadena simple de DNA. Servicio central de apoyo a la investigación. Biología molecular. Unidad Genómica. Universidad de Córdoba. [//www.uco.es/](http://www.uco.es/).

Davis, G. y D. 2000. Integrating molecular genetic with traditional approaches for genetic improvement in aquaculture species. *Aquaculture Research* 31:3-10.

Díaz, S., y E. Gascó. 2004. Secuenciación automática del DNA. Unidad de biología molecular y análisis genético. Universidad de Alicante. [//www.ua.es/es/investigacion/](http://www.ua.es/es/investigacion/).

Eding, H., Meuwissen, T. H. 2001. Marker-Based estimates of between and within population kinships for the conservation of genetic diversity. *J. Anim. Breed. Genet.* 118 (3) 141-159.

Erazo, E. 2002. Mapeo genético en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Pag 2

Fries, R, 1993. Mapping the bovine genome: Methodological aspect and strategy. *Animals genetic.* 24: 111-116.

Garcia, D.K., M.A. Faggart, J.A. Wyban, W.H. Carr, J.N. Sweeney, y K.M. Ebert. 1994. Genetic diversity of culture *Penaeus vannamei* shrimp using three molecular genetic techniques. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 137-144.

García, D.K., A.K. Dhar y A. Alcivar-Warren. 1996. Molecular analysis of a RAPD marker (B20) reveals presence of two microsatellites and differential mRNA expression in *Penaeus vannamei*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 270-280.

García-Machado, E., A. Robaina, G. Espinosa, M. Oliva, J. Páez, N, Verdecia, y M. Monnerot. 2001. Allozyme and mitochondrial DNA variation in Cuban populations of the shrimp *farfantepenaeus notialis* (Crustacea: Decapoda). *Marines Biology* 138(4): 701-707.

Glick B., Pasternak J. 1998. *Molecular Biotechnology. Principles y applications of recombinant DNA*. Ed. ASM Press. Second Edition. Pg. 522-524.

Goldstein, D and C. Schlotterer. 1999. *Microsatellites evolution and applications*. Edt. Oxford University Press. Oxford. Great Britain. 34-65p.

Grandejean, F. and C. Schlotterer. 1999. *Microsatellites evolution and applications*. Edt. Oxford University Press. Oxford. Great Britain. 34-65p.

Grunder, A.A., M.P. Sabour and J.S. Gavora. 1994. Estimates of relatedness and inbreeding in goose strains from DNA fingerprints. *Anim. Genet.*, 25: 81-88.

Herbinger, C. M., Doyle, R. W., Pitman, E. R., Paquet, D., Mesa, k. a., Morris, D. B., Wright, J. M., Cook, D., 1995. DNA fingerprint based analysis of paternal and maternal effects on offspring growth and survival in communally reared rainbow trout. *Aquaculture*. 137: 245-256

Jamieson, A. 1994. The effectiveness of using codominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pairs members. *Anim. Genet.*, 25: 37-44.

Jhan A, Michaud A 2005. Reacción en cadena de la polimeraza y sus aplicaciones en le diagnóstico clínico. Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas. [//www.svbe.org/acta/](http://www.svbe.org/acta/).

Lester, J. 1999. Best management practices domestication of aquatic species with an emphasis on *Penaeus vannamei*. V Congreso Ecuatoriano de Acuicultura. 28-30 de Octubre. Guayaquil Ecuador.

Liu, Z. B., J.F. Cordes. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238: 1-37



Ortíz, J. 2004. Desarrollo de marcadores genéticos tipos microsatélites e intrones para mapeo genético en *Litopenaeus vannamei*. <http://www.cenaim.espol.edu.ec>.

Pérez, F. 2003. Desarrollo de marcadores moleculares tipo microsatélite en camarón blanco *litopenaeus vannamei* para mejoramiento genético. Fundación CENAIM-ESPOL. Boletín informativo. <http://www.cenaim.espol.edu.ec>.

Pérez-Enciso, M. 1998. Aplicaciones de la genética molecular a la mejora de la calidad. Centro UdL-IRTA, Área de Producción Animal, Rovira Roure 177, 25198 Lleida. [//www.irta.es/xarxatem/genes.htm](http://www.irta.es/xarxatem/genes.htm).

Pérez, F. 2004. Selección masal para crecimiento bajo invernadero. Fundación CENAIM-ESPOL. Boletín informativo. <http://www.cenaim.espol.edu.ec>.

Portillo, G. 2005. Optimización del cultivo de camarón. Desarrollo de tecnologías para el cultivo de crustáceos. Programa de acuicultura. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. [/www.cibnor.mx/investigacion/programas/acuicultura](http://www.cibnor.mx/investigacion/programas/acuicultura).

Prescott Lasing M., Harley Johon P. 1999, Microbiología cuarta edición. Editorial MacGraw Hill Madrid España. pp. 320-344

Ranamukhaarachchi D., Kane M., Guy C., Li Q. 2000. Modified AFLP Technique For Rapid Genetic Characterization in Plants. *BioTechniques*. 19: 332-334.

Ratnapark, M.B., M. Tekeoglu, y F. Muehlbauer. 1998. Inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphisms are useful for finding markers associated with disease resistance gene clusters. *Theoretical and applied Genetics* 97: 515-519.

Rodas, O., M. Bolaños., S. Barrientos., J. Muñoz, y M. Catalán. 1997. Teoría básica del muestreo. Introducción al muestreo y Métodos de selección de muestras. <http://www.monografias.com/trabajos11/tebas/tebas.shtml>.

Ruiz, C. 2002. Desarrollo de marcadores moleculares de aplicación en genómica y programas de mejora de cítricos. Departamento de genética. *Biología molecular*. <http://www.tdx.cesca.es/TDX-0916103-125134/>

Santacruz, D., Burbano. C., Usaquén, W. 2001. Marcadores Moleculares en Acuicultura. Universidad Nacional de Colombia. [//www.iiap.org.pe/publicaciones](http://www.iiap.org.pe/publicaciones).

Satz, L. and Kornblihtt. A. 1993. Reacción en cadena de la polimeraza. *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy*. <http://www.ciencia-hoy.retina.ar/hoy23/reaccion.htm>

Senior, M.M. and Heum, M. 1995. Mapping maize microsatellites and polymerase chain reaction confirmation of the targeted repeats using a ct primer. *Genome* 36: 884-889.

Silva, E. and M. Ruso. 2000. Techniques and statistical data analysis in molecular population genetic. *Hidrobiology* 420: 119-135.

Sunden, S. and S. Davies. 1991. Evaluation of genetic in a domestic population of *Penaeus vannamei* (Boone): a comparison with three natural populations. *Aquaculture* 97: 131-142.

Vierling, R.A. and Nguyen, H.T. 1992. Use of RAPD markers to determine the genetic diversity of diploid wheat genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 84: 835-838.

Vivanco, J. 2004. Identificación de familias del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* Utilizando marcadores moleculares tipo microsatélites. CENAIM-ESPOL.

Wang, Z.Y.; Seçond, G. and Tanskley, S.D. 1992. Polymorphism and phylogenetic relationships among species in the genus *Oryza* as determined by analysis of nuclear RFLPs. *Theor. Appl. Genet.* 83 :565-581.

Wolfus., G. García, D. and A. Alcivar-Warren, Acacia.1997. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. *Aquaculture* 224: 39-50.

Xu Z., Primavera J.H., De la Pena L.D., Pettit P., Belak J., Alcivar-Warren A.. 2001. Genetic Diversity of wild and cultured black Tigre shimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using Microsatellites. *Aquaculture*. 199: 13-40.

Zelener. N., Marccuci. S., Bartoloni. N., Rodríguez. J., Gelid. P., Psthauer. S., Hoop. H.. 2003 Uso de marcadores moleculares microsátélites en Huertos semilleros. Instituto de Genética Biotecnología y recursos biológicos. [//www.facfor.unam.edu.ar/](http://www.facfor.unam.edu.ar/).

# ANEXOS

## ANEXO 1. EXTRACCIÓN DE DNA CON EL MÉTODO DE CHÉLEX

- Colocar los tubos ependorf de 1,5 ml en las gradillas
- Colocar en el fondo del tubo 2,5  $\mu$ l de proteinasa K (enzima proteica que rompe proteínas)
- Adicionar 50  $\mu$ l de Chelex (este debe estar en el agitador en el momento de ser utilizado)
- Colocar el tejido a examinar (pleópodos)
- Tapar los tubos ependorf, anotar la identificación y colocar en los flotadores
- Llevar a baño María a 55°C durante dos horas
- Hervir por un tiempo de 10 minutos en el calentador
- Vortexear todas las muestras
- Centrifugar por 5 minutos a 14000 revoluciones a 20°C
- Retirar el sobrenadante
- Guardar en el refrigerador a -20°C hasta ser utilizado

## ANEXO 2. EXTRACCIÓN DEL DNA CON EL MÉTODO DE CTAB

- Colocar tubos ependorf en las gradillas
- Colocar 5  $\mu$ l de proteinasa K en el fondo del tubo
- Adicionar 50  $\mu$ l de la solución CTAB
- Vortexear todos los tubos ependorf
- Colocar las respectivas muestras en los tubos (pleópodos)
- Vortexear nuevamente todos los tubos ependorf
- Encubar a baño María a 55°C por un tiempo de dos horas
- Maceras completamente todas las muestras
- Volver a encubar a baño María a 65°C durante 8 horas
- Colocar 500ml de phenol-cloroformo
- Centrifugar a 14000revoluciones durante 5 minutos a 20°C
- Recuperar el sobrenadante y colocar en otro tubo (de 300 a 400  $\mu$ l)
- Añadir cloroformo (la misma cantidad del sobrenadante que se sacó de 300 a 400  $\mu$ l)
- Centrifugar a 14000 revoluciones durante 5 minutos a una temperatura de 20°C
- Colocar en otro tubo el sobrenadante (250  $\mu$ l)
- Colocar 500  $\mu$ l de isopropanol en el mismo tubo (este debe estar en el congelador para que se pueda precipitar)

- Colocar en el refrigerador por dos horas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para que se precipite
- Centrifugar a 14000 revoluciones por 5 minutos a  $20^{\circ}\text{C}$
- Luego votar todo el liquido y solo dejar el pellet
- Colocar 500 ml de etanol al 70% (congelado) para que se enjuague
- Centrifugar a 14000 revoluciones por 5 minutos a  $20^{\circ}\text{C}$
- Luego se vota todo y se deja solamente el pellet y se pone a secar por dos horas al ambiente
- Adicionarle 100  $\mu\text{l}$  de TE tampón 1X
- Colocarlo en el refrigerador a  $-20^{\circ}\text{C}$
- Cuantificar el DNA para determinar su concentración



ANEXO 3. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y  
CONTROLES

Núm. Org.	Código	Color anillo	Muestras	Sexo	Tratamiento	Peso-gramos	Tanque	Superv
1	372	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	38,3	8	
2	359	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	25,5	8	
3	443	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	28,4	8	
4	385	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	18,5	8	
5	982	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	20,5	8	
6	433	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	24	8	
7	792	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	21	8	
8	994	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	26,7	8	
9	186	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	23,6	8	
10	379	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	31,7	9	
11	270	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	28,6	8	
12	14	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	20,7	8	
13	157	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	29,2	8	
14	52	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	26,8	8	
15	486	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	31,4	8	
16	367	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	20,9	8	
17	797	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	20,8	8	
18	415	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	28,3	8	
19	977	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	32,2	8	
20	791	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	30,2	8	
21	98J	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	26,2	8	
22	68	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	25,8	8	
23	261	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	28,9	8	
24	305	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	23,5	8	
25	277	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	27,1	8	
26	178	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	36,2	8	
27	437	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	26,8	9	
28	152	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	22,6	8	
29	454	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	21	9	x
30	59	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	17,3	8	
31	382	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	25,8	8	
32	998	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	27,3	8	
33	257	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	27,6	8	
34	3J6	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	33,1	8	
35	58	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	24,3	8	
36	356	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	25,6	8	
37	93	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	28,7	9	
38	979	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	25,6	8	
39	234	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	25,4	8	

ANEXO 4. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y  
CONTROLES

Núm. Org.	Código	Color anillo	Muestras	Sexo	Tratamiento	Peso-gramos	Tanque	Superv
40	16	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	26	8	
41	985	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	18	8	
42	399	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	31,1	8	
43	482	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	21,1	8	
44	498	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	22,8	8	
45	483	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	26,7	8	
46	18	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	27	9	
47	790	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	25,2	8	
48	424	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	23,3	8	
49	786	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	25,3	8	
50	400	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	24,1	8	
51	36J	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	20,5	8	
52	284	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	20,1	8	
53	179	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	28,4	8	
54	982	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	15	8	
55	471	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	29	8	
56	324	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	25,4	8	
57	264	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	23,9	8	
58	984	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	19,1	8	
59	389	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	27,1	8	
60	38J	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	23	8	
61	788	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	19	8	x
62	262	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	31,5	8	
63	92	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	31,2	8	
64	285	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	23,4	8	
65	43	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	23	8	
66	339	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	19,5	8	
67	22	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	23,7	8	
68	448	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	32,2	8	
69	250	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	26,5	8	
70	456	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	26	9	
71	492	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	18	8	
72	798	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	28,4	8	
73	4J7	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	21	8	
74	375	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	29,2	8	
75	84	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	26,8	8	
76	308	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	28	9	
77	493	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	25,9	8	
78	141	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	30,7	9	

ANEXO 5. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y  
CONTROLES

Núm. Org.	Código	Color anillo	Muestras	Sexo	Tratamiento	Peso-gramos	Tanque	Superv
79	796	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	38,6	8	
80	265	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	22,1	8	
81	266	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	28,7	8	
82	97	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	24,8	8	
83	272	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	29,9	8	
84	458	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	27,7	8	
85	418	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	20,1	8	
86	330	Rojo	Pleópodos	Hembra	Control	17,7	8	
87	1000	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	20,4	9	
88	40J	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	24,3	8	
89	12	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	26,7	8	
90	370	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	28,1	8	
91	331	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	23,6	8	
92	453	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	24,1	4	
93	427	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	17,4	4	
94	406	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	22	4	
95	232	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	23	4	
96	431	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	19,3	4	
97	363	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	22	4	
98	195	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	29,8	4	
99	80	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	28,6	4	
100	99	Rojo	Pleópodos	Macho	Control	27,9	4	
101	811	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,5	2	
102	513	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,6	2	
103	854	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,8	2	
104	7J3	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,7	2	
105	760	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,5	2	
106	706	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,2	2	
107	783	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39	2	x
108	523	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	25,4	2	x
109	723	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42	2	
110	508	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37	2	
111	530	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	44,5	2	
112	741	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	35,3	2	x
113	637	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	33,9	2	
114	704	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,2	2	x
115	595	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	35,4	2	
116	726	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	33,4	2	
117	626	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	47,3	2	

ANEXO 6. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y  
CONTROLES

Núm. Org.	Código	Color anillo	Muestras	Sexo	Tratamiento	Peso-gramos	Tanque	Superv
118	53	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,3	2	
119	115	Verde	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,1	2	
120	712	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,9	2	
121	807	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,5	2	x
122	862	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,1	2	
123	869	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	26,7	2	
124	743	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41	2	
125	721	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,7	2	
126	636	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	45,8	2	
127	79J	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	33,4	2	
128	701	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	44,5	2	
129	631	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,7	2	
130	786	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,5	2	
131	908	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,7	2	
132	580	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,4	2	
133	842	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	36,8	2	
134	769	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	35,2	2	
135	520	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	36,1	2	
136	718	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,2	2	
137	821	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,4	2	
138	537	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,2	2	
139	547	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,2	2	
140	117	Verde	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,3	2	
141	707	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,5	2	
142	764	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,5	2	x
143	500	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,7	2	
144	596	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,4	2	
145	27	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,3	2	
146	843	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,7	2	
147	728	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,7	2	
148	754	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,8	2	
149	630	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,9	2	
150	727	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,2	2	
151	781	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,4	2	
152	524	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,6	2	
153	858	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	34,6	2	
154	855	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38	2	
155	544	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,3	2	x
156	80J	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	31,5	2	

ANEXO 7. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y  
CONTROLES

Núm. Org.	Código	Color anillo	Muestras	Sexo	Tratamiento	Peso-gramos	Tanque	Superv
157	511	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	36,3	2	
158	556	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,1	2	
159	4	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,9	2	
160	742	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,5	2	x
161	872	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38	2	
162	646	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	36,4	2	
163	788	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,2	2	
164	564	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,3	2	x
165	33	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41	2	
166	708	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,6	2	
167	799	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41	2	
168	737	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,3	2	
169	531	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	36,9	2	x
170	8J6	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,6	2	
171	773	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,9	2	
172	570	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,8	2	
173	503	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	45,6	2	
174	563	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,3	2	x
175	784	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,7	2	
176	7JJ	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,8	2	x
177	525	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,6	2	
178	574	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,3	2	
179	819	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,6	2	
180	770	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,5	2	
181	792	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,3	2	
182	749	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40	2	
183	739	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,4	2	
184	550	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	35,1	2	
185	518	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,4	2	
186	644	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,9	2	x
187	778	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,4	2	
188	517	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,6	2	
189	522	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,2	2	
190	627	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	34,7	2	
191	568	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	34,6	2	
192	787	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,9	2	
193	19	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37	2	
194	759	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,9	2	
195	7J0	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,7	2	

ANEXO 8. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y  
CONTROLES

Núm. Org.	Código	Color anillo	Muestras	Sexo	Tratamiento	Peso-gramos	Tanque	Superv
196	23	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40	2	
197	763	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,1	2	
198	864	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,3	2	
199	780	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,7	2	
200	730	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,7	2	
201	755	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,2	2	
202	584	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	36,9	2	
203	556	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,4	2	
204	793	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40	2	
205	597	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,8	2	
206	7J4	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,9	2	x
207	863	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,7	2	
208	745	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,3	2	
209	860	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,9	2	x
210	538	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,9	2	
211	720	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,8	2	
212	991	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	24,1	2	
213	422	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	19,4	2	
214	36J	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	31,1	2	
215	794	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	32,9	2	
216	787	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	28	2	x
217	181	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	32,3	2	
218	167	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	31,5	2	x
219	358	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	30,5	2	
220	4J7	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	33,7	2	
221	280	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	27,6	2	x
222	785	Rojo	Pleópodos	Macho	Seleccionado	30,5	2	x
223	130	Azul	Pleópodos	Macho	Seleccionado	31,8	2	x
224	127	Azul	Pleópodos	Macho	Seleccionado	28	2	x
225	877	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39	10	
226	800	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	30,8	10	x
227	777	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	35,5	10	x
228	510	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,2	10	
229	750	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,5	10	
230	740	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,4	10	
231	247	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	44,8	10	
232	703	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,3	10	
233	810	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,5	10	
234	878	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,3	10	

ANEXO 9. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y  
CONTROLES

Núm. Org.	Código	Color anillo	Muestras	Sexo	Tratamiento	Peso-gramos	Tanque	Superv
235	757	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,7	10	
236	840	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,2	10	
237	767	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,1	10	
238	75	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	29,9	10	x
239	912	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	47	10	
240	836	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	44,7	10	
241	808	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,7	10	
242	593	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,7	10	
243	752	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,4	10	
244	38	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,1	10	
245	30	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,5	10	
246	774	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,3	10	
247	782	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,8	10	
248	501	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	44	10	
249	554	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	45,2	10	
250	715	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	34,6	10	
251	702	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	18,4	10	
252	919	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	32,6	10	x
253	920	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,4	10	x
254	841	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	24,4	10	
255	506	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	45,2	10	
256	803	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	31,5	10	
257	141	Verde	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,6	10	
258	643	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,9	10	
259	879	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	36,7	10	
260	873	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	47,3	10	x
261	839	Azul	Pleópodos	Macho	Seleccionado	32,7	2	x
262	80	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,5	10	
263	922	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41	10	
264	783	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	44	10	
265	765	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,3	10	
266	838	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	46	10	
267	589	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40	10	
268	529	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	26,7	10	x
269	558	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	23,8	10	x
270	870	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	35,7	10	
271	546	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38,6	10	
272	915	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	44,3	10	
273	911	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	36	10	

ANEXO 10. CUADRO CONTROL DE ORGANISMOS SELECCIONADOS Y  
CONTROLES

Núm. Org.	Código	Color anillo	Muestras	Sexo	Tratamiento	Peso-gramos	Tanque	Superv
274	724	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	31,2	10	x
275	709	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,5	10	
276	876	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado		10	
277	736	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,8	10	
278	586	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	30,9	10	x
279	868	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,1	10	
280	505	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	24,7	10	
281	572	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	48	10	
282	515	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	44,1	10	
283	92	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	43,4	10	
284	913	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	48,2	10	
285	851	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	25,4	10	x
286	598	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	33,8	10	
287	632	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	47,3	10	
288	860	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	37,8	10	
289	771	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,4	10	
290	594	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	35,2	10	
291	7JJ	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,4	10	x
292	790	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,3	10	
293	917	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38	10	
294	910	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,4	10	
295	559	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	34,7	10	
296	548	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,7	10	x
297	539	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	33,7	10	x
298	828	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	42,7	10	
299	647	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,8	10	
300	551	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	47,5	10	
301	75J	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	50,6	10	
302	549	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	44,6	10	
303	536	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	39,7	10	
304	746	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	33	10	
305	717	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	47,6	10	x
306	916	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	38	10	
307	2	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	40,2	10	
308	880	Azul	Pleópodos	Hembra	Seleccionado	41,4	10	



ANEXO 11. CANTIDAD DE ORGANISMOS QUE MURIERON DURANTE EL  
 TIEMPO QUE DURO LA PRUEBA DE PARENTSESCO

Núm org	Código	Sexo	Placa	Tanque
29	454	Hembra	Control	9
61	788	Macho	Control	8
107	783	Hembra	Placa 2	2
108	523	Hembra	Placa 2	2
112	741	Hembra	Placa 2	2
114	704	Hembra	Placa 2	2
121	807	Hembra	Placa 2	2
142	764	Hembra	Placa 2	2
155	544	Hembra	Placa 2	2
160	742	Hembra	Placa 2	2
164	564	Hembra	Placa 2	2
169	531	Hembra	Placa 2	2
174	563	Hembra	Placa 2	2
176	711	Hembra	Placa 2	2
186	644	Hembra	Placa 2	2
206	714	Hembra	Placa 3	2
209	860	Hembra	Placa 3	2
223	130	Macho	Placa 3	2
226	800	Hembra	Placa 3	10
227	777	Hembra	Placa 3	10
238	75	Hembra	Placa 3	10
252	919	Hembra	Placa 3	10
253	920	Hembra	Placa 3	10
260	873	Hembra	Placa 3	10
268	529	Hembra	Placa 3	10
269	558	Hembra	Placa 3	10
274	724	Hembra	Placa 3	10
278	586	Hembra	Placa 3	10
285	851	Hembra	Placa 3	10
291	755	Hembra	Placa 4	10
296	548	Hembra	Placa 4	10
297	539	Hembra	Placa 4	10
305	717	Hembra	Placa 4	10

ANEXO 12. DATOS DE COPULA E INSEMINACION DEL PRIMER DÍA (martes 11 de enero del 2005)

Tratamiento	Macho	Hembra	Tanque	Desove		Hora desove	Temperatura		Deformidad	Cant nauplios en 1 ml	Total en 15 L
				Positivo	Negativo		12:00	05:00			
S-S	181 S	767 S	8	*		02:00	30° c	30° c	1%	10	150000
S-S	794 S	880 S	5	*		12:00	30° c	30° c	5%	12	180000
S-S	422 S	556 S	6	*		12:00	30° c	30° c	5%	9	135000
S-S	417 S	524 S	7	*		12:00	30° c	30° c	-	-	-
S-S	361 S	763 S	4	*		12:00	30° c	30° c	3%	4	60000
S-S	358 S	821 S	3	*		12:00	30° c	30° c	3%	9	135000
S-S	991 S	784 S	2	DP		12:00	30° c	30° c	2%	6	90000
S-C		2 Copula	15	**	*	12:00	30° c	29° c	6%	18	255000
S-C		2 Copula	14	**	*	12:00	30° c	29° c	3%	15	225000
S-C		2 Copula	13	* DP DP		12:00	29° c	29° c	3%	11	165000
Pool	-	-	-	-	-	-	-	-	4%	4	90000

Núm Hembras Copuladas = 13	Organismos completos = 96%
Núm Hembras Inseminadas = 3	Porcentaje de deformidad = 4%
Total = 16	Cantidad de Nauplios = 1485000
Núm Hembras desovadas = 14	Total de deformes = 60000
Núm hembras no desovadas = 2	Total de nauplios buenos = 1425000

ANEXO 13. DATOS DE COPULA E INSEMINACION DEL SEGUNDO DÍA (miércoles 12 de enero del 2005)

Tratamin	Numero Hembras		Tanque	Desove		Hora desove	Temperatura		Deformidad	Cant nauplios en 1 ml	Total en 15 L
	Copula	Inseminadas		Positivo	Negativo		12:00	05:00			
S-C	3		8	**	*	12:00	30° c	31° c	6%	5,5	82000
S-C	2	1	5	***		12:00	30° c	31° c	3%	24,5	367000
S-C	2	1	6	**	*	12:00	30° c	31° c	3%	11	165000
C-C		3	7	*	**	12:00	30° c	31° c	4%	7	105000
S-C	1	1	4	**		12:00	30° c	31° c	3%	13,5	202000
C-C	2	1	3	**	*	12:00	30° c	31° c	1%	11	165000
C-C	2	1	2	* DP DP		12:00	30° c	31° c	2%	12	180000
Pool	-	-	-	-	-	-	-	-	9%	12	180000

Núm Hembras Copuladas = 12	Organismos completos = 96,4%
Núm Hembras Inseminadas = 8	Porcentaje de deformidad = 3,6%
Total = 20	Cantidad de Nauplios = 1446000
Núm Hembras desovadas = 14	Total de deformes = 52056
Núm hembras no desovadas = 6	Total de nauplios buenos = 1393944

ANEXO 14. DATOS DE COPULA E INSEMINACION DEL TERCER DÍA (jueves 13 de enero del 2005)

Tratamin	Numero Hembras		Tanque	Desove		Hora desove	Temperatura		Deformidad	Cant nauplios en lml	Total en 15 L
	Copula	Inseminadas		Positivo	Negativo		12:00	05:00			
S-C	2	1	8	** DP		12:00	30° c	31° c	3%	16	240000
S-C	2	1	5	** DP		12:00	30° c	31° c	3%	10	150000
S-C	2	1	6	** DP		12:00	30° c	31° c	3%	17	255000
S-C	2	1	7	**	*	12:00	30° c	31° c	2%	15.5	232500
S-C	1	2	4	** DP		12:00	30° c	31° c	3%	13	195000
S-C		3	3	**		12:00	30° c	31° c	3%	17	255000
S-C		3	2	** DP		12:00	30° c	31° c	4%	20.5	307500
Pool									3%	17.5	262500

Núm Hembras Copuladas = 9	Organismos completos = 97%
Núm Hembras Inseminadas = 12	Porcentaje de deformidad = 3%
Total = 21	Cantidad de Nauplios = 1897500
Núm Hembras desovadas = 20	Total de deformes = 56925
Núm hembras no desovadas = 1	Total de nauplios buenos = 1840575

ANEXO 15. DATOS DE DESOVES DEL PRIMER DÍA DE TRABAJO

Tratamiento	Hembra	Desove		
		Total	Parcial	Negativa
S-S	Inseminación	*		
S-S	Inseminación	*		
S-S	Inseminación	*		
S-S	Inseminación	*		
S-S	Inseminación	*		
S-S	Inseminación	*		
S-S	Inseminación	*		
S-S	Inseminación		*	
S-C	Inseminación		*	
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		*
S-C	Cópula		*	
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula			*
S-C	Cópula		*	
S-C	Cópula	*		

ANEXO 16. DATOS DE DESOVES DEL SEGUNDO DÍA DE TRABAJO

Tratamiento	Hembra	Desoves		
		Total	Parcial	Negativa
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
C-C	Inseminación	*		
C-C	Inseminación			*
C-C	Inseminación			*
C-C	Inseminación	*		
C-C	Inseminación		*	
C-C	Cópula	*		
C-C	Cópula			*
C-C	Cópula		*	
C-C	Cópula	*		

ANEXO 17. DATOS DE DESOVES DEL TERCER DÍA DE TRABAJO

Tratamiento	Hembra	Desove		
		Total	Parcial	Negativa
S-C	Inseminación		*	
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación		*	
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Inseminación	*		
S-C	Cópula			*
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula		*	
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula		*	
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula	*		
S-C	Cópula		*	

ANEXO 18. DATOS PROMEDIOS DEL PRIMER PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS

Tanque	Tratamiento	Núm animales	Peso total	Peso promedio	Observaciones
1	SC	36	0,9797	0,027	No fueron secados
2	SC	40	0,6004	0,015	Fueron secados
3	CC	29	0,4307	0,015	Fueron secados
4	SS	35	0,5879	0,017	Fueron secados
5	CC	38	0,453	0,012	Fueron secados
6	CC	29	0,3636	0,013	Fueron secados
7	SC	38	0,7766	0,02	Fueron secados
8	CC	38	0,4001	0,011	Fueron secados
9	SC	35	0,6058	0,017	Fueron secados
10	SS	53	0,76	0,014	Fueron secados
11	SC	48	0,6884	0,014	Fueron secados
12	SS	33	0,695	0,021	Fueron secados
13	SS	40	0,7184	0,018	Fueron secados
14	SC	36	0,7815	0,022	Fueron secados
15	SS	32	1,0207	0,032	1 animal de 0,2 g
16	CC	39	0,5243	0,013	No fueron secados
17	SS	42	0,9637	0,023	Fueron secados
18	CC	47	0,6515	0,014	Fueron secados
19	SS	42	1,0476	0,025	Fueron secados
20	CC	69	0,696	0,01	Fueron secados
21	CC	53	0,7005	0,013	Fueron secados
22	SS	27	0,776	0,028	Fueron secados
23	SC	54	1,0153	0,018	Fueron secados
24	SC	48	0,7771	0,016	Fueron secados



ANEXO 19. DATOS PROMEDIOS DEL SEGUNDO PESO REALIZADO EN  
LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS

Tanque	Tratamiento	Num animales	Peso total	Peso promedio	Observaciones
1	SC	40	3,8853	0,097	
2	SC	29	2,2083	0,076	
3	CC	42	3,0188	0,071	
4	SS	35	2,8934	0,082	
5	CC	36	2,3113	0,064	
6	CC	46	2,2779	0,049	
7	SC	30	2,2331	0,074	1 org de 0,8280
8	CC	32	3,4342	0,107	
9	SC	28	1,709	0,061	
10	SS	21	2,1766	0,103	
11	SC	20	1,5441	0,077	
12	SS	26	3,1713	0,121	
13	SS	35	4,3226	0,123	
14	SC	21	2,2048	0,104	
15	SS	27	2,362	0,087	
16	CC	21	2,0467	0,097	
17	SS	25	2,5468	0,101	
18	CC	46	1,8289	0,039	
19	SS	34	3,756	0,11	
20	CC	45	2,7067	0,06	
21	CC	58	3,535	0,06	
22	SS	30	3,4834	0,116	
23	SC	25	1,3164	0,052	
24	SC	24	1,8232	0,075	

ANEXO 20. DATOS PROMEDIOS DEL TERCER PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS

Tanque	Tratamiento	Núm animales	Peso total	Peso promedio	Observaciones
1	SC	30	5,8044	0,193	
2	SC	28	7,2133	0,257	
3	CC	22	6,2303	0,283	
4	SS	21	5,1324	0,244	1 org de 1,0454 g
5	CC	31	4,2926	0,138	
6	CC	29	4,4713	0,154	
7	SC	23	2,8538	0,124	
8	CC	26	3,3671	0,129	
9	SC	26	4,3866	0,168	
10	SS	36	5,5475	0,154	
11	SC	31	4,2537	0,137	
12	SS	23	5,7955	0,251	
13	SS	30	4,1251	0,137	
14	SC	21	3,4627	0,164	
15	SS	29	4,6012	0,158	
16	CC	24	3,5584	0,148	
17	SS	20	3,1754	0,158	
18	CC	20	2,945	0,147	
19	SS	22	3,1578	0,143	
20	CC	25	3,2713	0,13	
21	CC	35	2,1964	0,062	
22	SS	19	2,3352	0,122	
23	SC	23	1,9248	0,083	
24	SC	20	2,0316	0,1	

ANEXO 21. DATOS PROMEDIOS DEL CUARTO PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS

Tanque	Tratamiento	Núm animales	Peso total	Peso promedio	Observaciones
1	SC	28	8,7933	0,3141	org de 1,1876
2	SC	14	5,6679	0,404	
3	CC	23	7,2061	0,313	
4	SS	18	7,0818	0,393	
5	CC	21	3,2175	0,153	
6	CC	16	3,1983	0,199	
7	SC	15	4,1909	0,279	
8	CC	17	3,7571	0,221	
9	SC	21	5,5411	0,2631	org de 0,8958
10	SS	23	8,1892	0,3561	org de 0,8985
11	SC	22	6,0326	0,274	
12	SS	23	10,5386	0,4581	org de 0,9017
13	SS	21	8,6348	0,411	
14	SC	29	7,6281	0,263	
15	SS	18	4,3132	0,2391	org de 0,1,0184
16	CC	24	7,7551	0,323	
17	SS	20	7,8458	0,392	
18	CC	17	6,1302	0,361	org de 0,8279
19	SS	27	8,8044	0,326	
20	CC	24	6,2053	0,258	
21	CC	19	4,8832	0,257	
22	SS	20	6,4987	0,3241	de 1,2657 y 1,0284
23	SC	28	5,5032	0,196	
24	SC	24	7,9865	0,332	

ANEXO 22. DATOS PROMEDIOS DEL QUINTO PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS

Tanque	Tratamiento	Núm animales	Peso total	Peso promedio	Observaciones
1	SC	18	9,7327	0,54	1 org de 1,0383
2	SC	18	10,0328	0,557	1,0374-1,0242-1,4074
3	CC	20	8,1902	0,409	1,2137
4	SS	17	12,4856	0,734	1,0592-1,0511
5	CC	15	7,0772	0,471	1,5838
6	CC	17	7,8792	0,463	1,0329
7	SC	17	9,3792	0,551	1,1253-1,0312-1,0208
8	CC	20	8,6874	0,434	1,0048
9	SC	24	14,9435	0,622	1,0367-1,0342
10	SS	17	13,5009	0,794	1,5995-1,2431-1,4923
11	SC	23	10,5814	0,46	1,0329
12	SS	18	15,0304	0,835	2,6445-1,2826-1,0477
13	SS	11	9,5342	0,866	1,5311-1,3371-1,2344
14	SC	22	9,1939	0,4179	1,1198
15	SS	16	21,8194	1,363	2,7882-2,1583-1,6779
16	CC	22	12,184	0,553	1,0465
17	SS	13	8,7489	0,672	1,6781-1,2769-1,3454
18	CC	24	11,2567	0,469	1,1131
19	SS	20	14,6292	0,731	1,0113-1,0898-1,3219
20	CC	21	11,5825	0,551	1,0293-1,2279
21	CC	18	9,2735	0,515	1,0355-1,0736
22	SS	20	17,0776	0,853	2,6196-1,0395-1,3275
23	SC	26	15,5003	0,596	1,1383-1,1938-1,3296
24	SC	23	13,6977	0,595	1,4713-1,0319

ANEXO 23. DATOS PROMEDIOS DEL SEXTO PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS

Tanque	Tratamiento	Núm animales	Peso total	Peso promedio	Observaciones
1	SC	20	9,3073	0,465365	
2	SC	16	13,3367	0,83354375	
3	CC	16	12,2962	0,7685125	
4	SS	17	22,9956	1,352682353	
5	CC	14	12,1732	0,869514286	
6	CC	17	12,9864	0,763905882	
7	SC	17	15,1547	0,891452941	
8	CC	18	11,3379	0,629883333	
9	SC	25	21,1943	0,847772	
10	SS	15	18,1441	1,209606667	
11	SC	15	12,0056	0,800373333	
12	SS	19	21,2588	1,118884211	
13	SS				No hay organismos
14	SC	18	14,6672	0,814844444	
15	SS	17	23,3395	1,372911765	
16	CC	15	12,6384	0,84256	
17	SS	16	21,5573	1,34733125	
18	CC	19	13,857	0,729315789	
19	SS	20	25,5054	1,27527	
20	CC	21	13,8908	0,661466667	
21	CC	19	15,7862	0,830852632	
22	SS	18	22,0985	1,227694444	
23	SC	21	18,4813	0,880061905	
24	SC	15	15,3406	1,022706667	

ANEXO 24. DATOS PROMEDIOS DEL SEPTIMO PESO REALIZADO EN LAS SEMANAS POSTSIEMBRAS

Tanque	Tratamiento	Núm animales	Peso total	Peso promedio	Observaciones
1	SC	17	13,2607	0,780041176	
2	SC	18	19,2899	1,071661111	
3	CC	19	16,8885	0,888868421	
4	SS	18	19,9944	1,1108	
5	CC	18	20,0979	1,11655	
6	CC	17	19,4453	1,143841176	
7	SC	21	21,5528	1,02632381	
8	CC	18	14,8475	0,824861111	
9	SC	20	19,7181	0,985905	
10	SS	15	21,1093	1,407286667	
11	SC	18	16,8396	0,935533333	
12	SS	21	22,4763	1,0703	
13	SS				No hay organismos
14	SC	18	21,0794	1,171077778	
15	SS	16	31,0767		
16	CC	21	19,2413	0,916252381	
17	SS	18	32,2167		
18	CC	20	19,9431	0,997155	
19	SS	19	22,0773	1,161963158	
20	CC	17	16,2443	0,955547059	
21	CC	21	24,6721	1,174861905	
22	SS	17	19,6488	1,155811765	
23	SC	19	18,9644	0,998126316	
24	SC	17	27,4358	1,613870588	

ANEXO 25. PESOS PROMEDIOS Y DESVIACIONES ESTANDARES DE LAS OCHO SEMANAS DE ANÁLISIS

Group	Mean	StdDev	Mean	StdDev	Mean	StdDev	Mean	StdDev	Mean	StdDev	Mean	StdDev	Mean	StdDev
CC	0,01	0,00	0,07	0,02	0,15	0,06	0,26	0,07	0,48	0,05	0,76	0,09	1,00	0,13
SC	0,02	0,00	0,08	0,02	0,15	0,06	0,29	0,06	0,54	0,07	0,82	0,16	1,07	0,25
SS	0,02	0,01	0,11	0,02	0,17	0,05	0,36	0,07	0,86	0,22	1,27	0,09	1,38	0,35

ANEXO 26. DIFERENCIAS DE PESO ENTRE TRATAMIENTOS DURANTE  
LAS OCHO SEMANAS DE PESO

SEMANAS DE ANÁLISIS	SC - CC	SS - CC	SS - SC
Semana 2	.0006	0.009625	0.003625
Semana 3	0.008625	0.037	0.028375
Semana 4	0.004375	0.022	0.017625
Semana 5	0.030125	0.101875	0.07175
Semana 6	0.0592375	0.372875	0.313638
Semana 7	0.0575136	0.510053	0.452539
Semana 8	0.0705753	0.374654	0.304079



ANEXO 27. DIFERENCIAS ESTADISTICAS ENTRE TRATAMIENTOS  
(PROBABILIDADES) DURANTE LAS SEMANAS DE POSTSIEMBRAS

SEMANAS DE ANÁLISIS	SC - CC	SS - CC	SS - SC
Semana 2	0.0388591	0.000988534	0.271231
Semana 3	0.658763	0.00286952	0.0219113
Semana 4	0.987659	0.73376	0.818946
Semana 5	0.662781	0.0192342	0.117094
Semana 6	0.682962	0.0000767878	0.000570409
Semana 7	0.630278	0.00000031558	0.00000191933
Semana 8	0.85791	0.0330764	0.0933777

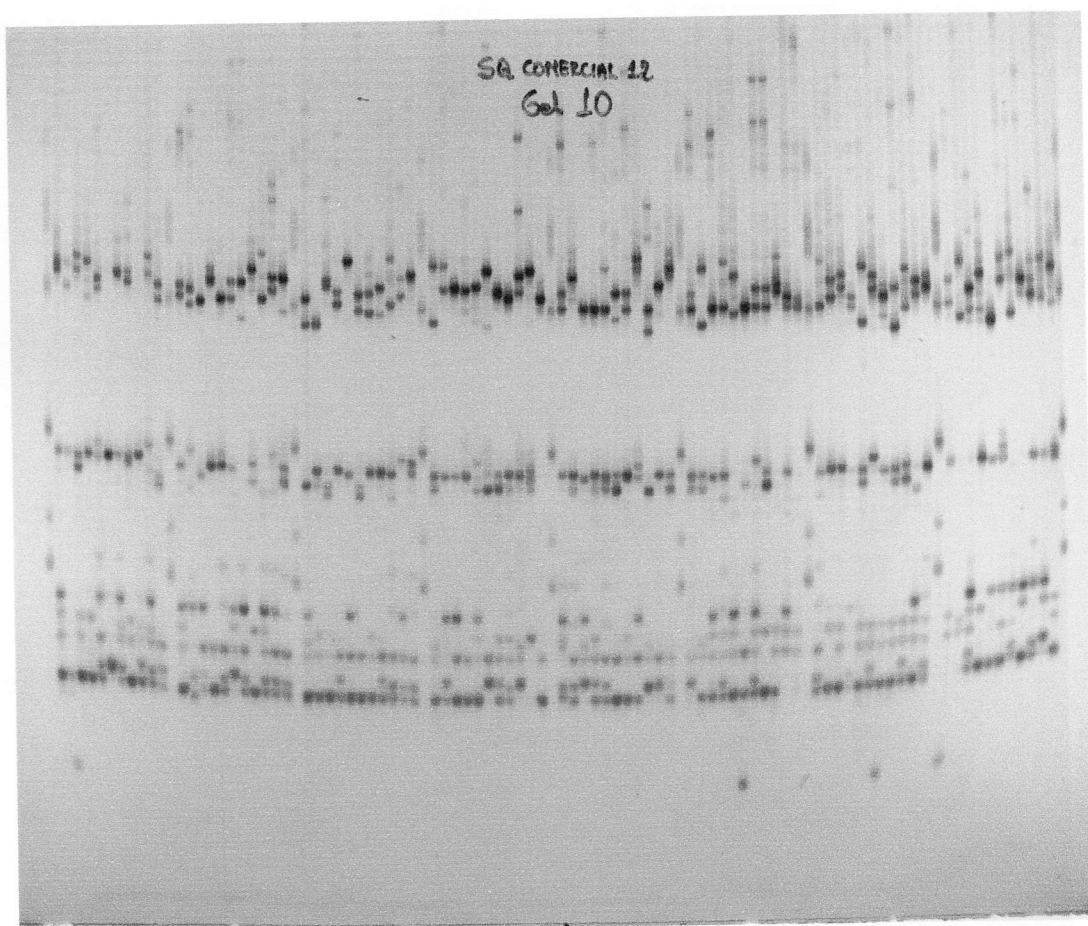
ANEXO 28. CANTIDAD DE ORGANISMOS PESADOS POR CADA TANQUE DURANTE LAS SEMANAS  
POSTSIEMBRAS

TANQUE	TRATAMIENTO	ORGANISMOS PESADOS POR TANQUES											SUMATORIA
		PESO 1	PESO 2	PESO 3	PESO 4	PESO 5	PESO 6	PESO 7					
1	SC	36	40	30	28	18	20	17					189
2	SC	40	29	28	14	18	16	18					163
3	CC	29	42	22	23	20	16	19					171
4	SS	35	35	21	18	17	17	18					161
5	CC	38	36	31	21	15	14	18					173
6	CC	29	46	29	16	17	17	17					171
7	SC	38	30	23	15	17	17	21					161
8	CC	38	32	26	17	20	18	18					169
9	SC	35	28	26	21	24	25	20					179
10	SS	53	21	36	23	17	15	15					180
11	SC	48	20	31	22	23	15	18					177
12	SS	33	26	23	23	18	19	21					163
13	SS	40	35	30	21	11	0	0					137
14	SC	36	21	21	29	22	18	18					165
15	SS	32	27	29	18	16	17	16					155
16	CC	39	21	24	24	22	15	21					166
17	SS	42	25	20	20	13	16	18					154
18	CC	47	46	20	17	24	19	20					193
19	SS	42	34	22	27	20	20	19					184
20	CC	69	45	25	24	21	21	17					222
21	CC	53	58	35	19	18	19	21					223
22	SS	27	30	19	20	20	18	17					151
23	SC	54	25	23	28	26	21	19					196
24	SC	48	24	20	24	23	15	17					171

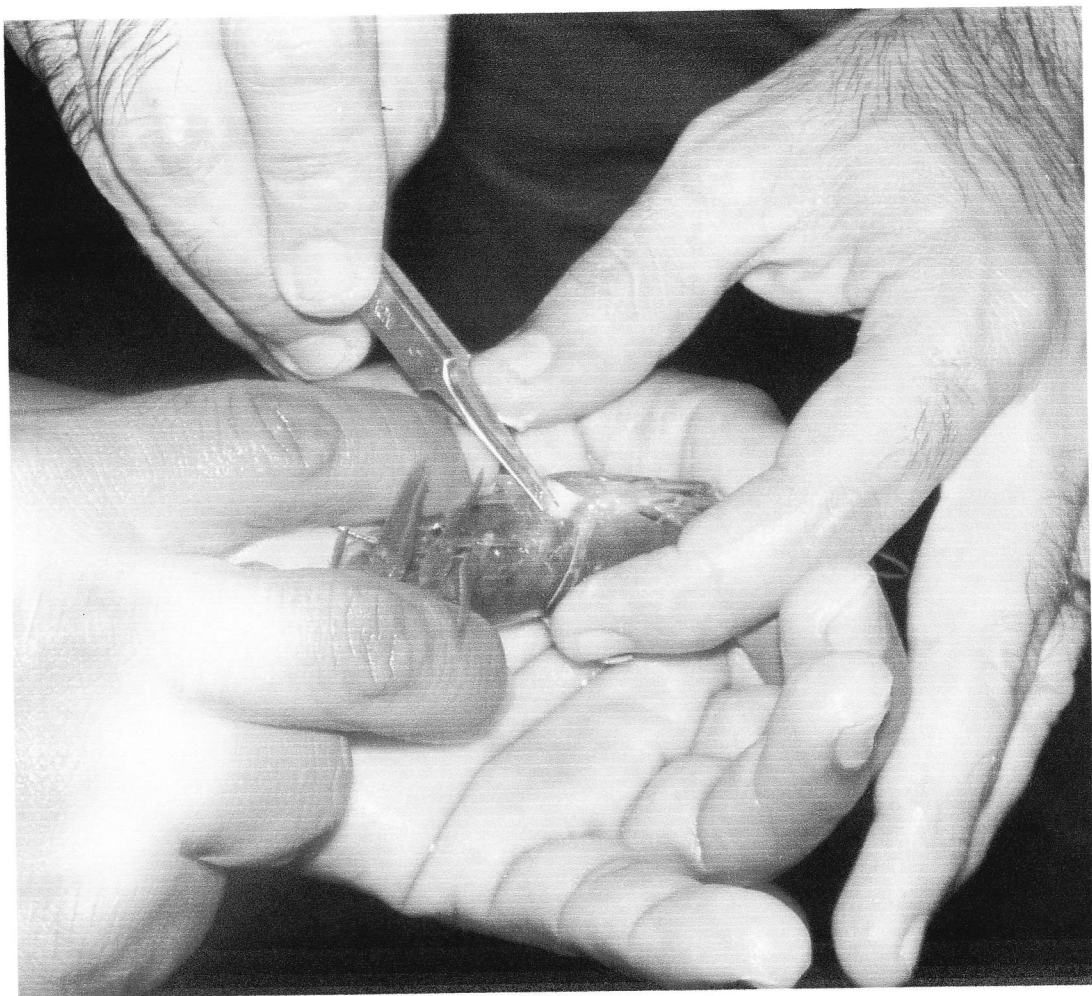
ANEXO 29. PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA DE LOS ORGANISMOS  
DESPUES DE LAS OCHO SEMANAS DE ANÁLISIS (COSECHA DE  
ORGANISMOS)

TANQUE	TRATAMIENTO	CANT ORG PESADOS	CANT ORG COSEC	CANT ORG MUERTOS	PORCENT SUPERV
1	SC	189	949	362	63,27
2	SC	163	799	538	53,27
3	CC	171	717	612	47,80
4	SS	161	8	1331	0,53
5	CC	173	95	1232	6,33
6	CC	171	934	395	62,27
7	SC	161	851	488	56,73
8	CC	169	102	1229	6,80
9	SC	179	78	1243	5,20
10	SS	180	202	1118	13,47
11	SC	177	1120	203	74,67
12	SS	163	744	593	49,60
13	SS	137	0	1363	0,00
14	SC	165	844	491	56,27
15	SS	155	0	1345	0,00
16	CC	166	335	999	22,33
17	SS	154	50	1296	3,33
18	CC	193	807	500	53,80
19	SS	184	712	604	47,47
20	CC	222	654	624	43,60
21	CC	223	172	1105	11,47
22	SS	151	578	771	38,53
23	SC	196	981	323	65,40
24	SC	171	244	1085	16,27

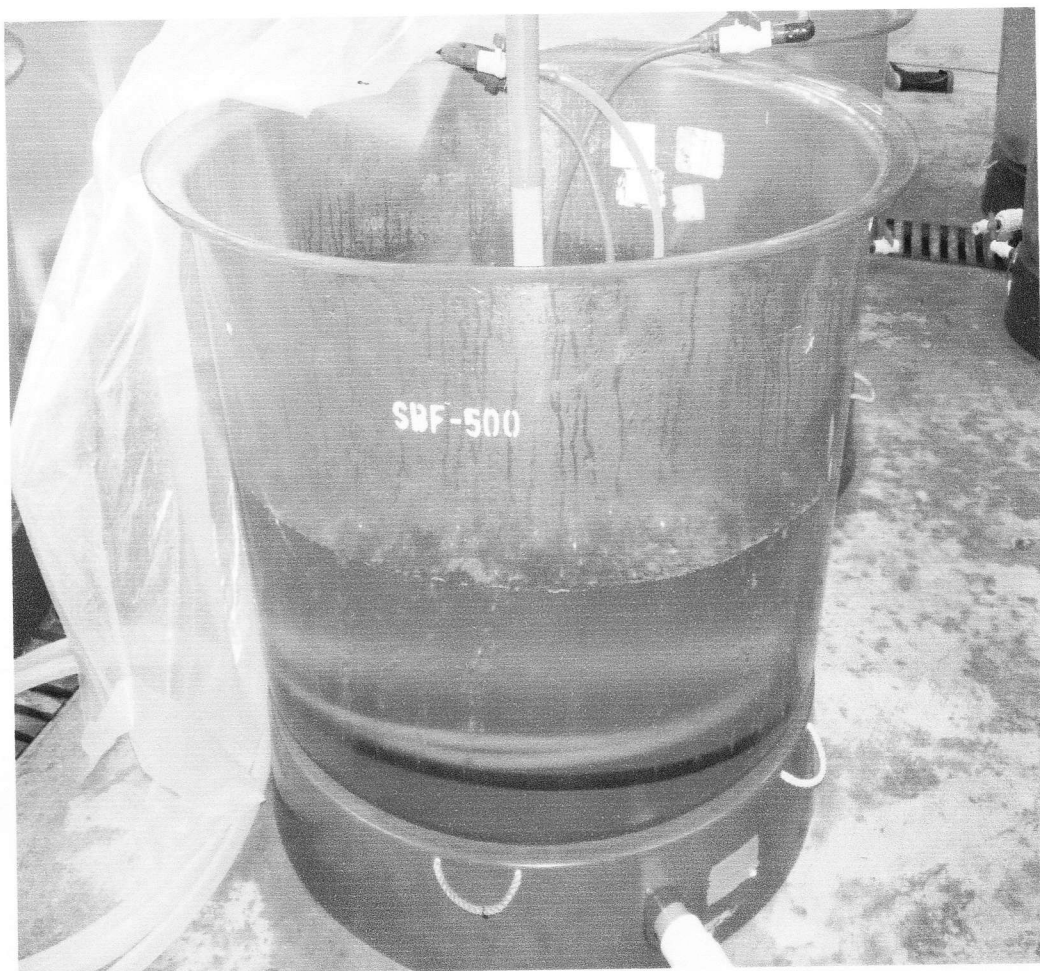
ANEXO 30. GEL DE POLIACRILAMIDA MOSTRANDO LAS BANDAS DE  
DNA AMPLIFICADAS UTILIZANDO DIFERENTES TIPOS DE  
MICROSATÉLITES



ANEXO 31. INSEMINACIONES REALIZADAS CON HEMBRAS Y MACHOS  
SELECCIONADOS



ANEXO 32. SET DE LARVICULTURA DONDE FUERON SEMBRADOS LOS  
DIFERENTES NAUPLIOS PROVENIENTES DE LOS TRES CRUCES DIRIGIDOS



ANEXO 33. TANQUES EXTERIORES EN LOS CUALES SE SEMBRO A LOS ORGANISMOS EN ESTADIOS DE PL 15



ANEXO 34. TANQUES EXTERIORES MOSTRANDOS LOS RESPECTIVOS  
AQUAMATS





ANEXO 35. COSECHA DE LOS ORGANISMOS DE LOS TANQUES  
RECTANGULARES

