

Parámetros genéticos y marcadores productivos en lotes de camarón *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) cultivados en Cuba

Raudel Cobo Abrantes*, Lourdes Pérez Jar

Centro de Investigaciones Pesqueras. La Habana, Cuba. CP:19100. *Correo electrónico: rcobo@cip.alinet.cu

RESUMEN

El camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* es reconocido como uno de los más cultivados a nivel mundial. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar las tendencias de los índices productivos y de riqueza genética del lote fundador **S0-1**, así como de la primera descendencia de las otras cuatro introducciones (**S1-2**, **S1-3**, **S1-4**, **S1-5**) de esta especie en Cuba. De igual manera, se estimó la influencia de **S1-1x4**; primera descendencia del cruce entre la séptima descendencia del primer lote fundador **S7-1** con la sexta descendencia del cuarto lote fundador **S6-4** sobre los parámetros genéticos y productivos del quinto lote fundador **S1-5**. Los parámetros productivos empleados fueron el *peso final*, la *supervivencia* y el *rendimiento*. Cuatro regiones microsátélites (*M1*, *Pvan1758*, *Pvan1815* y *Pvan0040*) fueron exploradas para caracterizar las poblaciones en cultivo. En el primer estudio, los valores promedio más elevados de los parámetros genéticos se observaron en **S0-1**. Se encontraron diferencias significativas de todas las progenies con respecto a la **S1-5** para los parámetros *supervivencia* y *rendimiento*. En el segundo estudio, tanto los parámetros genéticos como productivos evaluados mostraron superioridad en la **S3-1x4x5**; tercera generación del cruce de **S1-1x4 X S1-5** con respecto a **S1-5**. La disminución de la diversidad genética no influyó de manera significativa en los indicadores productivos en las progenies evaluadas en el primer estudio. El cruce **S1-1x4** potenció los valores de variabilidad genética y de desempeño productivo de la quinta introducción de *L. vannamei* cultivado en Cuba.

Palabras clave: cultivo, microsátélites, supervivencia, cruce, *Litopenaeus vannamei*

Genetic parameters and productive markers in stocks of cultured shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) in Cuba

ABSTRACT

The Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* is recognized as one of the most cultivated worldwide. The objectives of this work were to evaluate the tendencies of productive indexes and genetic richness of the founder stock **S0-1**, as well as the first offspring of the other four introductions of this species in Cuba (**S1-2**, **S1-3**, **S1-4**, **S1-5**). Also, estimate the influence of **S1-1x4**; first offspring of the crossing between the seventh offspring of the first founder stock **S7-1** with the sixth offspring of the fourth founder stock **S6-4** on the genetic and productive parameters of the fifth founder stock **S1-5**. Productive parameters including *final weight*, *survival*, and *yield* were computed. Four microsatellite regions (*M1*, *Pvan1758*, *Pvan1815*, and *Pvan0040*) were explored to characterize the populations in culture. In the first study, the highest average values of the genetic parameters were observed in **S0-1**. Significant differences were found for all progenies over **S1-5** for survival and yield parameters. In the second study, both, genetic and productive parameters evaluated showed superiority in the **S3-1x4x5**; third generation of the crossing of **S1-1x4 X S1-5** over **S1-5**. In summary, genetic diversity decrease did not significantly influence the productive indicators in the progenies evaluated in the first study. The **S1-1x4** crossing potentiate both genetic variability as the productive development values of the fifth introduction of *L. vannamei* cultured in Cuba.

Key words: culture, microsatellites, survival, crossing, *Litopenaeus vannamei*

INTRODUCCIÓN

Dentro de la acuicultura, el cultivo del camarón se ha convertido en una importante industria exportadora en varios países. Ésta ha experimentado un crecimiento acelerado en la última década con un valor estimado del 10 % anual en los últimos cinco años (Artiles *et al.* 2015). A partir de su desarrollo a escala industrial, hace más de cuatro décadas, se han obtenido elevadas tasas de producción con esta especie. Desde 1970 hasta 1990 el incremento promedio fue del 25 % y decayó al 10 % entre 1990 - 2000 aumentando nuevamente al 18 % entre 2000 - 2008 (Andriantahina *et al.* 2013).

Las dos especies que mayormente se cultivan son *Penaeus monodon* (Fabricius 1798), también conocido como el camarón tigre negro y el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). Este último representa el 53 % de la producción mundial con una cosecha de 4.156 millones de toneladas para el año 2018 (FAO 2018).

El cultivo del camarón en Cuba, como parte de la industria acuícola comenzó en 1983 y mostró su rentabilidad sobre la base científico-tecnológica. A partir del año 1987 empezó a desarrollarse hasta el punto de convertirse en una importante actividad comercial en el país (Machado 2006).

Durante el periodo 1987 - 2003, la especie nativa cultivada en Cuba fue el camarón blanco *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad 1936). Sin embargo, debido a sus bajos rendimientos productivos, el mantenimiento del cultivo de esta especie se hizo insostenible. A finales del 2003 se introdujo el primer lote del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* como una alternativa necesaria para lograr la supervivencia de la actividad camaronícola en el país. En el año 2008, se realizó la quinta y última introducción de esta especie en Cuba, todas procedentes de un mismo proveedor. Se lograron resultados superiores con respecto a los obtenidos con *L. schmitti*, reportándose pesos promedios finales de 17,2 g en ciclos de 90 a 100 días de duración.

Registros históricos reportados por la Empresa para el Cultivo de Camarón en Cuba (ECCAM), señalaron un gradual retroceso de los principales indicadores de las producciones de camarón

comercial entre los años 2007 y 2010, llegándose a alcanzar pesos promedios de 13,3 g y supervivencias finales del 41 %. En el caso de continuar esta tendencia el cultivo de esta especie dejaría de ser rentable, poniendo en peligro una fuente segura de ingresos para el país.

En el ámbito mundial se han usado diversos tipos de marcadores moleculares como herramientas para analizar los parámetros genéticos de poblaciones naturales y cultivadas, y con el propósito de predecir fenómenos de consanguinidad. En alcance a esos fines, los microsatélites del ADN son una técnica estándar por sus características de elevada reproducibilidad, alto grado de polimorfismo y codominancia (Souza de Lima *et al.* 2008).

De acuerdo a lo expuesto, la evaluación de la influencia de parámetros genéticos de diferentes descendencias de los lotes de camarón *L. vannamei* cultivados en Cuba, sobre el desempeño de sus respectivos indicadores productivos a nivel comercial, puede ser de gran importancia para trazar futuras estrategias de manejo del banco fundador. Por otro lado, la evaluación de cruces entre los lotes, puede convertirse en una herramienta que permita prolongar la vida útil de las poblaciones de esta especie en el país. Por ello, los objetivos de este trabajo fueron: evaluar las tendencias de los índices productivos y de riqueza genética en el primer lote fundador de la primera introducción de *L. vannamei*, así como de la primera descendencia de las otras cuatro introducciones de esta especie en Cuba, y estimar la influencia del cruce **S1-1x4** sobre los parámetros genéticos y productivos del quinto lote fundador de *L. vannamei* introducido y cultivado en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

La industria camaronera en Cuba, desde la introducción de *L. vannamei* está fundamentada en el material proveniente de los laboratorios del Shrimp Improvement System (SIS) en Isla Morada, EE.UU., donde se desarrolla un programa de mejora genética para obtener descendencias con una alta tasa de crecimiento. La dependencia de un solo proveedor, pudiera limitar la variabilidad genética de los lotes fundadores, resultando en

una gradual reducción de la productividad a escala comercial. En la actualidad se cuenta con seis lotes de camarón *L. vannamei* para el desarrollo de la actividad camaronícola a escala comercial. Estos son mantenidos en la Unidad Empresarial de Base (UEB) denominada centro de desove de postlarvas de Camarón "YAGUACAM", ubicada en la provincia Cienfuegos (Figura 1).

El presente trabajo estuvo constituido por dos componentes; el estudio 1 evaluó la influencia

de la diversidad genética sobre los indicadores productivos de la primera descendencia de los cinco lotes fundadores de *L. vannamei* introducidos en Cuba. Por otra parte, el estudio 2 analizó la influencia del cruzamiento dirigido de lotes de *L. vannamei* sobre su diversidad genética y desempeño productivo en engorde comercial. Los lotes de *L. vannamei* seleccionados para los estudios 1 y 2 se presentan en el Cuadro 1.

Toma de muestras

En los años correspondientes de cada cultivo se capturaron de forma aleatoria, entre 30 y 40 ejemplares adultos, tratando de mantener igualdad en la proporción de hembras y machos (1:1). Los grupos de muestreo fueron criados y mantenidos en el Banco de Reproductores de la UEB YAGUACAM. Las muestras fueron tomadas del tejido muscular de la base del cuarto par de pleópodos y se conservaron en viales con etanol al 95 % hasta su posterior procesamiento en el Laboratorio de Biología Molecular del Centro de Investigaciones Pesqueras o en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana.

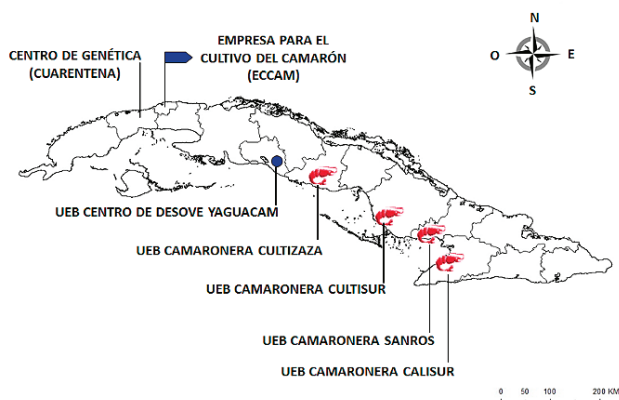


Figura 1. Localización de las UEB Camaroneras, centro de cuarentena y la empresa que dirige la camaronicultura en Cuba.

Cuadro 1. Lotes fundadores, descendencias y cruces de lotes de *Litopenaeus vannamei* seleccionados, caracterización genética y año en que se desarrolló su cultivo en estanques.

Lote fundador	Descendencias / Cruces	Año	Caracterización genética
Primera introducción (S0-1)	S1-1	2004	NC
	S7-1	2010	NC
Segunda introducción (S0-2)	S1-2	2004	Pérez-Beloborodova <i>et al.</i> (2012)
Tercera introducción (S0-3)	S1-3	2005	Pérez-Beloborodova <i>et al.</i> (2012)
	S1-4	2006	Pérez-Beloborodova <i>et al.</i> (2012)
Cuarta introducción (S0-4)	S6-4	2010	NC
	S1-1x4	2010	NC
Quinta introducción (S0-5)	S1-5	2009	Artiles <i>et al.</i> (2011a)
	S3-1x4x5	2014	Pérez-Beloborodova <i>et al.</i> (2015)

NC: no se caracterizó el lote. **S1-1, S1-2, S1-3, S1-4, S1-5**: primera descendencia de la primera, segunda, tercera, cuarta y quinta introducción respectivamente. **S7-1** (séptima descendencia del primer lote fundador), **S6-4** (sexta descendencia del cuarto lote fundador), **S1-1x4** (primera descendencia del cruce de **S6-4 X S7-1**), **S3-1x4x5** (tercera generación del cruce de **S1-1x4 X S1-5**)

Genotipificación mediante los microsatélites *M1*, *Pvan1758*, *Pvan1815* y *Pvan0040*.

El ADN para la caracterización genética fue extraído de las muestras musculares usando resina Chelex-100 al 5 % o 10 % (Walsh *et al.* 1991). La amplificación por PCR se llevó a cabo en un termociclador Eppendorf usando el programa presentado en el Cuadro 2 y las secuencias de los cebadores específicos para los microsatélites seleccionados se presentan en el Cuadro 3,

Los productos de la PCR fueron comprobados mediante electroforesis de una alícuota en un gel de agarosa al 2 % teñido con bromuro de etidio. Para continuar el proceso de genotipificación, la alícuota restante de cada amplicón fue mezclada con una solución comercial de formamida/bromo-fenol azul en una proporción 1:1. Luego de eso, se realizó la desnaturalización de la mezcla resultante en el termociclador Eppendorf y el producto desnaturalizado fue sometido a electroforesis vertical en geles de acrilamida-bis-acrilamida al 6 %. El voltaje aplicado estuvo entre los 2500 a 3000 voltios y la potencia fue de 80 vatios.

Luego de la corrida electroforética, los geles fueron fijados con una solución de ácido acético (CH₃COOH) al 10 %, teñidos con una solución de nitrato de plata (AgNO₃) al 0,1 % y formaldehído (CH₂O) al 0,05 % y revelados con una solución de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 3 %, formaldehído (CH₂O) al 0,05 % y tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃) en concentración de 20 µg/mL.

Para la asignación del tamaño alélico se usaron como controles las muestras previamente genotipificadas por Artiles *et al.* (2011a), cuyos tamaños variaron de 194 a 240 pares de bases (pb) para *M1*, 140 a 146 (pb) para *Pvan0040*, 110 a 136 (pb) para *Pvan1815* y 174 a 188 (pb) para *Pvan1758*. Los marcadores comerciales PGEM®, STR III, FFV y CTT también fueron incluidos para la determinación del tamaño alélico.

Registros para la evaluación del desempeño productivo.

La ECCAM y la UEB YAGUACAM, del Ministerio de la Industria Alimentaria, fueron las entidades proveedoras de los registros históricos de los indicadores productivos de las cuatro UEB Camaroneras existentes en el país. Los indicadores evaluados: *peso final*, *supervivencia* y *rendimiento* fueron organizados y graficados en el Programa Microsoft Office Excel 2013.

Cuadro 2. Perfil térmico usado para las reacciones de PCR.

FASE		T ¹ (°C)	t ² (s)
Desnaturalización inicial		94	300
35 ciclos	Desnaturalización	94	60
	Hibridación	específica cebador ³	30
	Extensión	72	45
Extensión Final		72	600

¹temperatura termociclador. ²duración de la fase. ³temperatura de hibridación: *Pvan1815*: 50°C; *Pvan1758*: 52°C; *M1* 52-54°C; *Pvan0040*: 45-48°C.

Cuadro 3. Cebadores usados en el trabajo.

Microsatélite	Secuencia (5'-3')	Referencia
<i>M1</i>	GTGTGTTGCGGAATCGAA CTAACCCAATATCGAATC	Wolfus <i>et al.</i> 1997
<i>Pvan0040</i>	TTTACGATCAGATTGTTT GAAATAGAAAATAAGAAC	Cruz <i>et al.</i> 2002
<i>Pvan1758</i>	TATGCTCGTTCCCTTTGCTT TTGAAGGAAAAGTGTGGGG	Cruz <i>et al.</i> 2002
<i>Pvan1815</i>	GATCATTGCCCCCTTTTT ATCTACGGTTTCGAGAGCAGA	Cruz <i>et al.</i> 2002

Análisis estadístico para la caracterización genética y el desempeño productivo.

Los parámetros de diversidad alélica, tales como Número de alelos (Na), Número de alelos efectivos (Ne), Riqueza alélica (RA), Número de alelos privados (Np), así como los valores de heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) (Nei 1978) fueron calculados y comparados con el empleo del software GeneAEx (versión 6.1) (Peakall y Smouse 2006). Los loci que presentaron al menos dos alelos y que la frecuencia del alelo más común no excedió el 95%, se consideraron polimórficos (Graur y Wen-Hsiung 2000).

Para el análisis e interpretación de los datos productivos se utilizó el paquete estadístico Statgraphics, versión 3.5.2 (StatPoint Technologies 2010). Se comprobaron la normalidad de los residuos y la homogeneidad de varianzas. Para datos con distribución normal se compararon las medias con un Análisis de Varianza (ANOVA) de clasificación simple con un nivel de significación de 0,05. Las diferencias significativas entre las medias fueron jerarquizadas mediante la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan. Los datos que no se ajustaron a la distribución normal fueron analizados con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con nivel de significación de 5 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio 1

Parámetros genéticos de los lotes S0-1, S1-2, S1-3, S1-4 y S1-5 de L. vannamei en Cuba.

La diversidad alélica o el promedio de alelos por locus es una medida de la variabilidad genética dentro de una población, siempre que las comparaciones se lleven a cabo entre muestras de tamaños similares.

Los valores promedio más elevados de los parámetros genéticos evaluados se observaron en el primer lote fundador **S0-1** como se muestra en el Cuadro 4. El valor de Na en todas las progenes evaluadas fluctuó entre 3,5 y 9,3 mientras que el valor de Ne obtuvo un rango entre 1,7 y 5,6.

El número promedio de alelos para todos los lotes fue ligeramente menor que los reportados

en otros estudios para esta misma especie. Souza de Lima *et al.* (2010) con el empleo de cinco loci microsátélites en el Noroeste de Brasil reportaron valores de Na entre 3 y 12. Valles *et al.* (2005) también usaron cinco microsátélites y reportaron entre 2 y 16 alelos por locus en especies de poblaciones naturales de *L. vannamei*. Sin embargo, Pérez-Enríquez y Max-Aguilar (2016) con el empleo de cinco loci microsátélites obtuvieron un promedio de 6,6 alelos por locus. Por otro lado, Goyard *et al.* (2003) empleando dos loci microsátélites de *L. vannamei* (Vanna01 y Vanna02) encontraron de uno a nueve alelos por locus en el camarón azul *Litopenaeus stylirostris*.

El valor de Ne obtenido para cada progenie fue más bajo que el valor de Na. Resultados similares fueron encontrados por Wolfus *et al.* (1997) luego de siete generaciones de selección, con Na igual a 4 y Ne con valor de 1,6. Sin embargo, los valores de Ne en este trabajo son más bajos que otros resultados donde se obtuvieron valores de hasta 10,5 (Valles *et al.* 2005) y 15,7 en el caso de poblaciones naturales (Wolfus *et al.* 1997).

Los valores medios obtenidos, en la mayoría de los casos, para Ho fueron más bajos que para He (Cuadro 4). Esto evidencia un déficit en la proporción de heterocigotos (o un exceso en la proporción de homocigotos) siendo el quinto lote fundador el que reportó los menores valores para estos dos parámetros.

Según Machado (2006), la reducción del tamaño efectivo de las poblaciones y las deficiencias en

Cuadro 4. Valores promedio de los parámetros genéticos de *L. vannamei*.

Lotes	Na	Ne	RA	Np	Ho	He
S0-1	9,25	5,63	8,25	3,75	0,7	0,8
S1-2	3,5	2,1	3,44	1	0,5	0,5
S1-3	6,75	4	5,02	3	0,6	0,7
S1-4	4,75	3,27	4,61	0,5	0,6	0,7
S1-5	3,75	1,73	4	3,75	0,3	0,4

Número de alelos (Na), Número de alelos efectivos (Ne), Riqueza alélica (RA), Número de alelos privados (Np), Heterocigosidad observada (Ho), Heterocigosidad esperada (He).

la gestión de los programas de cría, generalmente son los responsables de la pérdida de diversidad genética de lotes en cultivo. Esta pérdida en la variabilidad genética en lotes domesticados ha sido previamente observada en *L. vannamei* (Donato *et al.* 2005, Artiles *et al.* 2015).

Similar a otros estudios, en esta oportunidad H_o fue menor que H_e . Este es el caso de Maggioni *et al.* (2013) que con el empleo de 10 loci microsatélites en nueve poblaciones de *L. vannamei* en Brasil reportaron un valor de H_o igual a 0,49 y una H_e igual a 0,68. Souza de Lima *et al.* (2010) en este mismo país obtuvieron una H_o igual a 0,46 y un valor de H_e igual a 0,7. Pérez-Enríquez y Max-Aguilar (2016) obtuvieron valores de H_o y H_e , de 0,58 y 0,69 respectivamente.

Los valores promedio H_o (0,271 a 0,667) y H_e (0,367 a 0,801) obtenidos en este estudio entre todos los lotes empleados están en el rango de los obtenidos para poblaciones naturales de *L. vannamei* empleando loci microsatélites (0,045 a 0,614) por Valles *et al.* (2005). Sin embargo, la quinta introducción de *L. vannamei* en Cuba reportó los menores valores para estos dos parámetros con relación a las cuatro introducciones anteriores (Cuadro 4) evidenciando una escasa variabilidad genética.

Indicadores productivos de S1-1, S1-2, S1-3, S1-4 y S1-5 de *L. vannamei* en Cuba.

La introducción en Cuba del *L. vannamei* resultó en un aumento considerable de los indicadores de producción en las UEB Camaroneras. Aunque el país cuenta con condiciones naturales apropiadas para el desarrollo de la camaronicultura, se observan variaciones, así como inestabilidades en el desempeño productivo de cada introducción efectuada.

La primera descendencia de cada lote fundador mostró variaciones en los indicadores productivos: *peso final*, *supervivencia* y *rendimiento* como se observa en la Figura 2. Se encontraron diferencias significativas entre todas las progenies con respecto a la S1-5 para los parámetros *supervivencia* y *rendimiento*. Este último lote reportó los valores más bajos para ambos parámetros en comparación con el resto de los lotes evaluados. Esto pudo ser efecto de la baja variabilidad genética que mostró esta quinta y última progenie una vez introducida al país para la acuicultura.

Por su parte, la S1-4 mostró el valor más elevado en cuanto al parámetro *peso final* mientras que la S1-3 reportó un promedio de 9,7 g siendo el más bajo de todas las descendencias en estudio.

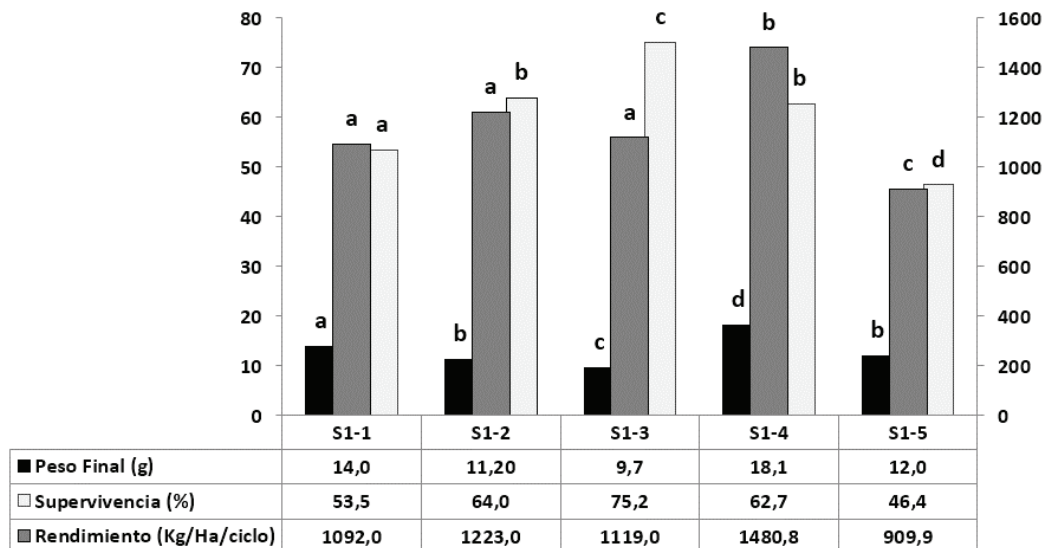


Figura 2. *Peso final* (g), *supervivencia* (%) y *rendimiento* (kg/ha/ciclo) de la primera descendencia de los cinco lotes fundadores de *Litopenaeus vannamei* en Cuba. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Este resultado pudo ser consecuencia de la elevada densidad de siembra (10-15 animales/m²) en que se encontraban los camarones debido al aumento del porcentaje de *supervivencia* (75,2 %) al final del ciclo de cultivo.

Con excepción de la **S1-5** los valores de *supervivencia* de las progenies evaluadas sobrepasan el 50 %, esto es comparable con los valores reportados en estudios realizados en EE.UU (Sookying *et al.* 2011, Treece 2015), así como en Costa Rica (Valverde-Moya y Alfaro-Montoya 2013, 2014). Existen dos razones fundamentales para explicar esto. La primera es el origen de las líneas genéticas empleadas; todos los lotes provenientes del SIS están catalogados como libres de patógenos específicos y son el resultado de un programa de mejora genética diseñado para obtener descendencias con un elevado crecimiento. La segunda razón es el manejo cuidadoso y el mantenimiento de un programa de vigilancia sanitaria (Silveira 2016) que evita la ocurrencia de enfermedades virales en Cuba desde la primera introducción del *L. vannamei* (Artiles *et al.* 2011b).

Estudio 2.

Parámetros genéticos de **S1-5** y **S3-1x4x5**.

Todos los valores promedio de los parámetros genéticos evaluados, mostraron superioridad en el lote **S3-1x4x5** obtenido como resultado del cruzamiento entre el lote puro **S1-5** y el cruce establecido **S1-1x4**, lo cual puede observarse en el Cuadro 5. La variación del **S3-1x4x5** comparado con los valores obtenidos para la primera descendencia de la quinta introducción **S1-5** mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) para los parámetros de diversidad alélica como para los índices de heterocigosidad.

Según Artiles *et al.* (2011a), con la estimación de la variabilidad genética y el índice de parentesco del quinto lote fundador se obtuvieron los valores de heterocigosidad más bajos con respecto a las cuatro introducciones anteriores de *L. vannamei* realizadas en el país. Por tal motivo, estos autores sugirieron un cruzamiento con lotes de diferente origen para mejorar el acervo genético y por ende el rendimiento productivo.

Cuadro 5. Valores promedio de los parámetros genéticos de **S1-5** y **S3-1x4x5** de *L. vannamei*.

Lotes	Na	Ne	RA	Np	Ho	He
S1-5	3,75	1,73	4	3,75	0,3	0,4
S3-1x4x5	6	4	6	4	0,7	0,7

Número de alelos (Na), Número de alelos efectivos (Ne), Riqueza alélica (RA), Número de alelos privados (Np), Heterocigosidad observada (Ho), Heterocigosidad esperada (He).

En ausencia de reproductores de otra procedencia, se decidió realizar un cruzamiento de individuos de esta línea genética de baja heterocigosidad con el cruce existente en el Banco de YAGUACAM compuesto por la primera y la cuarta introducción **S1-1x4**, que mostraba evidencias de elevados valores productivos en estanques de engorde comercial. La acción anterior se realizó a fines de evitar la pérdida del lote **S1-5** y mejorar sus rendimientos a escala productiva. De este cruce surgió la nueva línea genética **S0-1x4x5**. En este trabajo, se experimentó con la tercera generación **S3-1x4x5**, con la cual se obtuvo un aumento en el valor de los índices de diversidad alélica y heterocigosidad.

Se encontraron diferencias significativas para todos los parámetros evaluados entre ambos lotes. Esto se debió, fundamentalmente, a la escasa variabilidad de **S1-5** y a la influencia de la nueva información genética que aportó el cruzamiento. Estos resultados coinciden con lo reportado por Pérez-Beloborodova *et al.* (2012), al evaluar la primera descendencia de tres lotes puros **S1-2**, **S1-3** y **S1-4** y dos cruzamientos **S1-1xS1-3** y **S1-2xS1-3**. Estos autores obtuvieron mayores valores de Na, Ne, He y Ho en el cruce **S1-2xS1-3** que en la descendencia **S1-2** por sí sola.

En este trabajo, los valores de Ho (0,7) y He (0,7) en el lote obtenido por cruzamiento **S3-1x4x5** se consideran de una elevada diversidad genética según lo reportado en sus estudios por Zhang *et al.* (2014). Estos autores emplearon siete marcadores microsátélites para evaluar la diversidad genética de siete lotes de *L. vannamei* introducidos en China y reportaron valores de 0,526 para Ho y 0,754 para He, con valores de Na y Ne similares a los obtenidos en este trabajo.

Indicadores productivos de S7-1, S6-4 y S1-1x4.

Los valores promedio de los indicadores productivos de los lotes puros de *L. vannamei* S7-1 y S6-4, así como el lote producto del cruce entre ambos S1-1x4, pueden revisarse en la Figura 3. Tanto la S6-4 como la S1-1x4, mostraron valores superiores y significativamente diferentes ($P < 0,05$) en cuanto al *peso final* en el momento de la cosecha y al *rendimiento* con respecto al lote S7-1. Por otro lado, se observa superioridad en la *supervivencia* lograda con el cruce S1-1x4.

La producción de biomasa total está estrechamente relacionada a las ganancias obtenidas en la industria acuícola y depende del número y del peso final de los organismos cultivados (Campos-Montes *et al.* 2013). Por lo tanto, los estudios relacionados con el crecimiento y la supervivencia de los animales en cultivo resultan de vital importancia para medir los impactos en la industria de la camaronicultura.

El valor del indicador productivo *supervivencia* obtenido en la primera descendencia del cruce S1-1x4, fue el más elevado significativamente ($P < 0,05$) con respecto a los otros dos lotes analizados. De manera general, S7-1 y S6-4 reportaron valores de *supervivencia* por encima del 50 % y *rendimientos* superiores a los 900 kg/ha/

ciclo. Con fundamento en lo anterior, se decidió cruzar ambos lotes con el objetivo de obtener descendientes con índices productivos similares o superiores, manteniendo un manejo adecuado de estos animales en los estanques de engorde comercial.

Los indicadores productivos, en especies acuícolas, dependen tanto de factores genéticos como ambientales y tienen una relación directa con la resistencia de los organismos a la presencia de patógenos (Trani 2007). Numerosos estudios han demostrado la influencia de los niveles de endogamia en los cultivos marinos (Rivera-García y Grijalva-Chon 2006). Entre los factores ambientales que influyen en la obtención de buenos rendimientos destacan aquellos que están relacionados con la calidad del agua, la disponibilidad del alimento y los tipos de sistema de manejo en los cultivos.

Aunque se obtuvieron valores satisfactorios de *supervivencia* y *rendimiento* para estas tres progenies evaluadas, el parámetro *peso final* mostró valores promedio entre 12,4 g y 14,6 g, más bajos que los obtenidos por Caballero-Zamora *et al.* (2015). Estos autores reportan en México, animales con *peso final* de 21 g a los 130 días de cultivo, con densidades de siembra entre 10 - 30

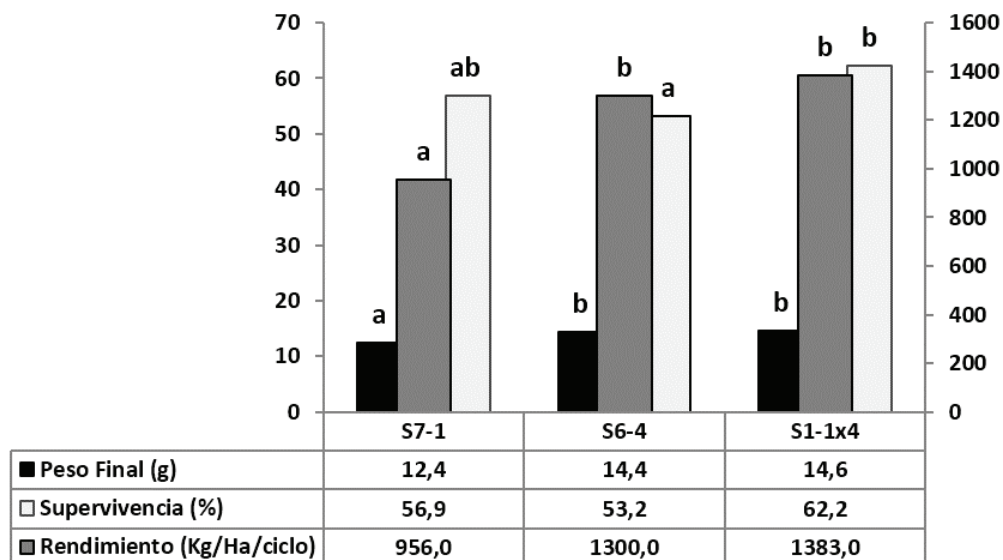


Figura 3. *Peso final* (g), *supervivencia* (%) y *rendimiento* (kg/ha/ciclo) de los lotes S7-1, S6-4 y S1-1x4 de *L. vannamei* cultivados en Cuba. Letras diferentes indican diferencias significativas.

individuos/m². Sin embargo, Campos-Montes *et al.* (2009) también en México, obtuvieron resultados inferiores de *peso final*, con camarones de 13,5 g con la misma duración de los ciclos de cultivo y con una densidad de siembra de 10 individuos/m², lo cual corrobora la importancia de la implementación de un manejo integral adecuado para el cultivo de camarones.

El valor promedio de *supervivencia* obtenido en **S1-1x4** superó el 60 %, similar al valor reportado por Artiles *et al.* (2015) para la décima generación de la primera introducción de *L. vannamei* en Cuba. Estos resultados coinciden con los obtenidos para la misma especie en Costa Rica (59 a 76%) luego de 11 generaciones sucesivas entre los años 1990 y 2001 (Valverde-Moya y Alfaro-Montoya 2014). Sin embargo, fueron inferiores a los reportados en Irán por Sareban *et al.* (2013) al trabajar con una densidad de siembra de 30 individuos/m² en dos ciclos de cultivo de 93 y 110 días, donde obtuvieron entre 80 y 85 % de supervivencia.

Por otro lado, el cruzamiento reportó un índice promedio de *rendimiento* de 1.383 kg/ha/ciclo, ligeramente superior a los 1.322 kg obtenidos en Brasil, en un ciclo de 150 días, con una densidad de siembra de 10 individuos/m² (Krummenauer *et*

al. 2010). En Texas y en Alabama existen reportes de capturas de 1.777 kg/ha/ciclo (Samocha *et al.* 2004) y 2.660 kg/ha/ciclo (Sookying *et al.* 2011) respectivamente, al trabajar en condiciones semi-intensivas de cultivo con una densidad de siembra de 17 individuos/m².

Indicadores productivos de S1-5 y S3-1x4x5.

La primera descendencia de **S1-5** en Cuba, resultó ser diferente significativamente ($P < 0,05$), en todos los indicadores productivos evaluados con respecto al lote obtenido por cruzamiento **S3-1x4x5**, como se observa en la Figura 4. Este último mostró los mayores valores de *peso final*, *supervivencia* y *rendimiento*.

El quinto lote fundador de *L. vannamei* se introduce en Cuba en octubre de 2008, procedente del Shrimp Improvement System (SIS) al igual que las introducciones anteriores. La diferencia con las cuatro introducciones fundamental entre este lote y los precedentes fue la disminución de la variabilidad genética. Numerosos estudios han demostrado que los niveles de heterocigosidad influyen directamente en factores como supervivencia, resistencia a enfermedades y velocidad de crecimiento de organismos en cultivo (Allendorf y Leary 1986, Zouros y Mallet 1989).

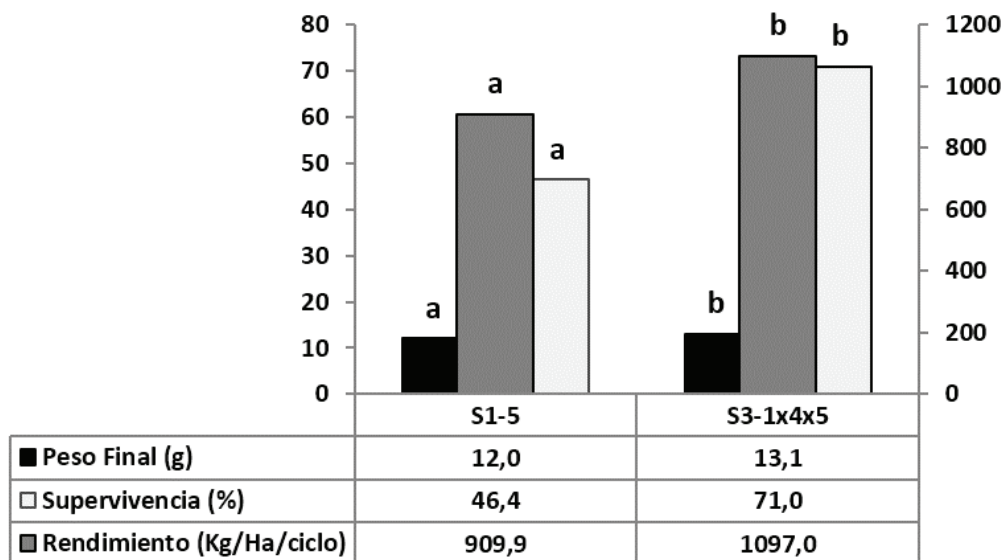


Figura 4. *Peso final* (g), *supervivencia* (%) y *rendimiento* (kg/ha/ciclo) de los lotes **S1-5** y **S3-1x4x5** de *L. vannamei* introducido y cultivado en Cuba. Letras diferentes indican diferencias significativas.

De esta manera, todos los indicadores productivos evaluados del cruce **S3-1x4x5** fueron superiores a los del lote **S1-5**. No obstante, el valor promedio del indicador *peso final* para **S3-1x4x5** fue de 13,1 g. Esto evidencia la repercusión que pueden tener los factores ambientales y antrópicos en los resultados de los indicadores productivos en los cultivos camarónicolas, más allá de la disminución de la diversidad genética de estos lotes. No obstante, al comparar estos valores con los obtenidos por Valverde-Moya y Alfaro-Montoya (2013), al establecer un adecuado plan de manejo en estanques comerciales de Costa Rica, se observa la coincidencia en cuanto a la media del peso final (11,0 g - 13,2 g).

En este estudio, se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) para el indicador productivo *supervivencia*, entre los dos lotes evaluados, el cruce **S3-1x4x5** reportó valores superiores al 70 %. En un experimento controlado, en Ecuador, con condiciones similares de densidad de siembra (12 animales/m²), en 100 días de cultivo de *L. vannamei*, obtuvieron un 64,8 % de supervivencia (Bayot *et al.* 2013). Por otro lado, Shakir *et al.* (2014) al trabajar con el camarón tigre *Penaeus monodon*, con la misma densidad de siembra, en 120 días de cultivo alcanzó una supervivencia de 51,8 %.

El índice de *rendimiento*, en el caso de **S3-1x4x5**, superó los 1.000 kg/ha/ciclo, por encima de los 746 kg/ha/ciclo reportados por Bayot *et al.* (2013). Sin embargo, Krishna *et al.* (2015) obtuvieron a los 120 días de cultivo, con el empleo del sistema semi-intensivo, 3.541,2 kg/ha/ciclo. En México, Mena-Herrera *et al.* (2006), durante dos temporadas de cultivo de 98 y 140 días, obtuvieron rendimientos por encima de los 7.000 kg/ha/ciclo.

CONCLUSIONES

La baja diversidad genética en los loci analizados en el primer lote fundador, así como en la primera descendencia de los cuatro lotes de *L. vannamei* posteriormente introducidos en Cuba no influyó de manera significativa en sus indicadores productivos. Por otro lado, la primera descendencia del cruce **S1-1x4**, incrementó

los índices de variabilidad genética, así como los parámetros de desempeño productivo de la quinta introducción **S1-5** de *L. vannamei* cultivado en Cuba. Se evidenció, además, que la repercusión de los efectos ambientales y antropogénicos en el cultivo del camarón blanco *L. vannamei* tuvo más influencia sobre el desempeño productivo que la pérdida de variabilidad genética de los lotes evaluados en este estudio.

LITERATURA CITADA

- Allendorf, FW; Leary RF. 1986. Heterozygosity and fitness in natural populations of animals. *In* Soulé ME (ed.). Conservation Biology. The Science of Scarcity and Diversity. Sunderland, Massachusetts, EE.UU, Sinauer Associates. p. 57-76.
- Andriantahina, F; Liu, X; Feng, T; Xiang, J. 2013. Current Status of Genetics and Genomics of Reared Penaeid Shrimp: Information Relevant to Access and Benefit Sharing. *Marine Biotechnology* 15:399-412.
- Artiles, A; Rodríguez, I; Pérez, A; Pérez, L; Espinosa, G. 2011a. Limitada variabilidad genética de la quinta introducción en Cuba de *Litopenaeus vannamei* estimada con el uso de marcadores microsatélites. *Biología Aplicada* 28:142-146.
- Artiles, A; Rubio, M; González, E; Raico, L; Silveira, R. 2011b. Comportamiento de los virus de crustáceos de declaración obligatoria de la OIE en *Litopenaeus vannamei* de cultivo en Cuba en el período 2003 - 2009. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras* 28:12-18.
- Artiles, A; Cobo, R; Benítez, L; Pérez, L; Espinosa, G. 2015. Assessment of genetic variation and productive markers through four progenies of the first introduced stock of cultured shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* in Cuba. *International Journal of Aquaculture* 5(23):1-12.
- Bayot, B; Rodríguez, J; Arguello, W; Cornejo-Rodríguez, MH; Sonnenholzner, S. 2013. An evaluation of intraspecific competition for Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*

- (Boone) in extensive/semi-intensive ponds. *Aquaculture International* 22(3):1025-1039.
- Borrell, YJ; Espinosa, G; Vázquez, E; Sánchez, JA; Blanco, G. 2006. Variabilidad genética de loci microsatélites en los primeros lotes de *Litopenaeus vannamei* introducidos en Cuba para la acuicultura. *Revista Cubana de Investigaciones Marinas* 27(3):237-244.
- Caballero-Zamora, A; Montaldo, HH; Campos-Montes, GR; Cienfuegos-Rivas, EG; Martínez-Ortega, A; Castillo-Juárez, H. 2015. Genetic parameters for body weight and survival in the Pacific White Shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* affected by a White Spot Syndrome Virus (WSSV) natural outbreak. *Aquaculture* 447:102-107.
- Campos-Montes, GR; Montaldo, HH; Martínez-Ortega, A; Castillo-Juárez, H. 2009. Genotype by environment interaction effects for body weight at 130 days of age in the Pacific white shrimp [*Penaeus (Litopenaeus) vannamei*]. *Veterinaria México* 40 (3):255-267.
- Campos-Montes, GR; Montaldo, HH; Martínez-Ortega, A; Martínez-Jiménez, A; Castillo-Juárez, H. 2013. Genetic parameters for growth and survival traits in Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* from a nucleus population undergoing a two-stage selection program. *Aquaculture International* 21:299-310.
- Cruz, P; Mejía-Ruiz, C; Pérez-Enriquez R; Ibarra, A. 2002. Isolation and characterization of microsatellites in Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus vannamei)*. *Molecular Ecology Notes* 2:239-241.
- Donato, M; Manrique, R; Ramírez, R; Mayer, L; Howell, C. 2005. Mass selection and inbreeding effects on a cultivated strain of *Penaeus (Litopenaeus)* in Venezuela. *Aquaculture* 247:159-167.
- FAO. 2018. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 250p.
- Goyard, E; Arnaud, S; Vonau, V; Bishoff, V; Mouchel, O; Pham, D; Wyban, J; Boudry, P. 2003. Residual genetic variability in domesticated populations of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) of New Caledonia, French Polynesia and Hawaii and some management recommendations. *Aquatic Living Resources* 16:501-508.
- Graur, D; Wen-Hsiung, L. 2000. *Fundamentals of Molecular Evolution*. 2 ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates, 439 p.
- Krishna, PV; Bhanu, PK; Hemanth, KV; Prabhavathi, K. 2015. Growth, Survival and Production of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* at different stocking densities under semi intensive culture systems in Andhra Pradesh. *International Journal of Advanced Research* 3(9):446-452.
- Krummenauer, D; Cavalli, RO; Ballester, ELC; Wasielesky, WJr. 2010. Feasibility of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* culture in southern Brazil: effects of stocking density and a single or a double CROP management strategy in earthen ponds. *Aquaculture Research* 41(2):240-248.
- Machado, RJ. 2006. Assessment of genetic variability in two lots of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) introduced to Cuba. Tesis presentada para la obtención del título de Maestro Internacional en Ciencias y Manejo de Pesquerías. 42 p.
- Maggioni, RM; Coimbra, MRM; Costa, RB; Diniz, FM; *et al.* 2013. Genetic variability of marine shrimp in the Brazilian industry. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48(8):968-974.
- Mena-Herrera, A; Gutiérrez-Corona, C; Linan-Cabello, M; Sumano-López, H. 2006. Effects of Stocking Densities on Growth of the Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Earthen Ponds. *Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh* 58(3):205-213.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.

- Peakall, R; Smouse, P. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6:288-295.
- Pérez-Beloborodova, A; Artiles-Valor, A; Pérez-Jar, L; Hernández-Martínez, D; Guerra-Aznay, M; Espinosa-López, G. 2012. Genetic Characterization of Six Stocks of *Litopenaeus vannamei* used in Cuba for Aquaculture by means of Microsatellite Loci. *International Journal of Zoology* 2012:1-7.
- Pérez-Beloborodova, A; Hernández-Martínez, D; Pérez-Jar, L. 2015. Análisis de la variabilidad genética de la decimoprimer descendencia de la cuarta introducción (F11-4) y de los cruces F3-1x4x5 y F11-4 x F11-2 de *Litopenaeus vannamei* de cultivo en Cuba. La Habana, Cuba. 7p. Informe técnico.
- Pérez-Enríquez, R; Max-Aguilar, A. 2016. Rastreabilidad del pedigrí en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) mediante marcadores genéticos: Una comparación entre microsatélites y SNP. *Ciencias Marinas* 42(4).
- Rivera-García, M; Grijalva-Chon, JM. 2006. Variabilidad y diferenciación genética en camarón blanco *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* de bajo y alto crecimiento. *Ciencias Marinas* 32(1A):1-11.
- Samocha, TM; López, IM; Jones, ER; Jackson, S; Lawrence, AL. 2004. Characterization of intake and effluent waters from intensive and semi-intensive shrimp farms in Texas. *Aquaculture Research* 35(4):321-339.
- Sareban, H; Davoodi, R; Bozorgi, E; Sahu, B; Esmaeilzadeh, A. 2013. Successful Production of Two Crops Per Year of *Litopenaeus vannamei* in Hormozga Province, Iran. *Journal of Applied Aquaculture* 25(1):66-70.
- Shakir, C; Lipton, AP; Manilal, A; Sugathan, S; Selvin, J. 2014. Effect of Stocking Density on the Survival Rate and Growth Performance in *Penaeus monodon*. *Journal of Basic and Applied Sciences* 10:231-238.
- Silveira, R; Pozo, M; Prats, F; Pérez, A; Hernández, D; Medel, M. 2016. Surveillance for the prevention and control of diseases in Cuban aquaculture. *Journal of Aquaculture Research & Development* 7(6) (Supl).
- Sookying, D; Soller, F; Davis, DA; Hanson T. 2011. Effects of stocking density on the performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured under pond and outdoor tank conditions using a high soybean meal diet. *Aquaculture* 319:232-239.
- Souza de Lima, AP; Lira-dos Santos, AC; Leite-Dantas, H; Gomes-Filho, MA; Maggioni, R; Moura Coimbra, MR. 2008. Genetic monitoring of broodstocks of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* in a closed rearing system in Pernambuco, Brazil. *Aquaculture Research* 39:1461-1466.
- Souza de Lima, AP; Bezerra-Cabral-Da-Silva, SM; Cavalcanti-Oliveira, KK; Maggioni, R; Moura-Coimbra, MR. 2010. Genetics of two marine shrimp hatcheries of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in Pernambuco, Brazil. *Ciência Rural* 40:325-331.
- Trani, EC. 2007. Efectos genéticos y ambientales en la sobrevivencia del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* de los 70 a los 135 días de edad. Tesis presentada para obtener el grado de Maestra en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal. D.F., México, Universidad Nacional Autónoma de México. 45 p.
- Treece, G. 2015. Florida Shrimp Aquaculture 2015. Florida, USA, Disponible en <http://bit.ly/2TJBTsA>
- Valles, R. 2005. Estudios de estructura genética del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) del Pacífico Oriental inferidos mediante análisis de microsatélites y ADN mitocondrial. Estudios postgraduados. La Paz. México, Centro de Investigaciones biológicas del Noroeste. 74p.
- Valverde-Moya, JA; Alfaro-Montoya, J. 2013. La experiencia del cultivo comercial de camarones marinos en estanques de producción

- en Costa Rica. *Revista Ciencias Marinas y Costeras* 5:87-105.
- Valverde-Moya, JA; Alfaro-Montoya, J. 2014. Productivity and profitability of shrimp mariculture in the Gulf of Nicoya, Costa Rica. *Revista Ciencias Marinas y Costeras* 6:37-53.
- Walsh, P; Metzger, D; Higuchi, R. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10:506-510.
- Wolfus, G; García, G; Alcivar-Warren, A. 1997. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. *Aquaculture* 152:35-47.
- Zhang, K; Wang, W; Li, W; Zhang, Q; Kong, J. 2014. Analysis of genetic diversity and differentiation of seven stocks of *Litopenaeus vannamei* using microsatellite markers. *Journal of Ocean University of China* 13(4):647-656.
- Zouros, E; Mallet, AL. 1989. Genetic explanations of the growth/heterozygosity correlation in marine mollusks. In Ryland, S; Tyler, PA (eds.). *Reproduction, Genetics and Distribution of Marine Organisms. Proceedings of the XXIII European Marine Biology Symposium, Olsen and Olsen, Fredensborg, Denmark*, p. 317-324.