



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

ESTIMACIÓN DE LA HEREDABILIDAD DE ÁCIDOS
GRASOS EN *LITOPENAEUS VANNAMEI*

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Acuicultura)

Presenta

Héctor Rodrigo Nolasco Alzaga

La Paz, Baja California Sur, Mayo del 2016

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 11:00 horas del día 22 del Mes de abril del 2016, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

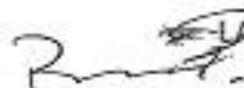
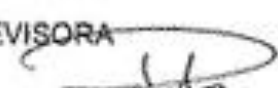
"Estimación de la heredabilidad de ácidos grasos en *Litopenaeus vannamei*"

Presentada por el alumno:

Héctor Rodrigo Nolasco Alzaga

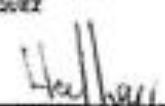
Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN Acuicultura


Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

 LA COMISIÓN REVISORA 

DR. RICARDO PÉREZ ENRIQUEZ
Co-Director de Tesis

DRA. ELENA PALACIOS MECHETNOV
Co-Directora de Tesis


M.Sc. Patricia Haffray
Directora de Tesis


Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos

COMITÉ TUTORIAL

Codirector de tesis: Dr. Ricardo Pérez Enríquez
CIBNOR, La Paz B.C.S.

Codirectora de tesis: Dra. Elena Palacios Mechetnov
CIBNOR, La Paz B.C.S.

Cotutor: MC. Pierrick Haffray
SYSAAF, Rennes, Francia

COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dr. Ricardo Pérez Enríquez
Dra. Elena Palacios Mechetnov
MC. Pierrick Haffray

JURADO DEL EXAMEN DE GRADO

Dr. Ricardo Pérez Enríquez
Dra. Elena Palacios Mechetnov
MC. Pierrick Haffray
Suplente: Dr. Francisco Javier Magallón Barajas

RESUMEN

El camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) representa un importante recurso económico para la acuicultura, debido a su valor económico y avances realizados en su domesticación. En esta especie se han realizado trabajos importantes en términos de mejoramiento genético y estimaciones de heredabilidad, los cuales involucran rasgos relacionados con crecimiento, reproducción, resistencia a enfermedades e hipoxia, principalmente. Sin embargo, hasta la fecha no se han realizado estudios sobre parámetros genéticos relacionados con contenido de ácidos grasos en *L. vannamei*. Los ácidos grasos poliinsaturados o PUFA, particularmente EPA o 20:5n-3, DHA o 22:6n-3 y ARA o 20:4n-6, tienen un efecto sobre el estado fisiológico de los camarones, tales como la respuesta inmune, sobrevivencia y respuesta a estrés. Por lo tanto, el mejoramiento genético de estas características pudiera llevarse a cabo si la heredabilidad para los PUFA fuera relevante. El propósito de este trabajo fue el estimar parámetros genéticos, tales como heredabilidad y correlaciones genéticas, para contenido de ácidos grasos dentro de hemolinfa en camarón blanco. Progenie de 81 familias de hermanos completos se cultivó bajo las mismas condiciones ambientales (alimento y parámetros fisicoquímicos) hasta que alcanzaron un peso promedio de 22 g. Se obtuvo una muestra de 700 ejemplares a los cuales se extrajo tejido muscular y hemolinfa para análisis de ADN y ácidos grasos, respectivamente. Los análisis genéticos (análisis de parentesco, asignación de familias y análisis de variabilidad genética) fueron llevados a cabo mediante un panel de 76 marcadores de Polimorfismo de Nucleótido Sencillo. Los ácidos grasos se analizaron mediante cromatografía de gases. Se estimó la heredabilidad sobre los porcentajes de ácidos grasos analizados utilizando un modelo de hermanos completos. De manera general, se observó un nivel bajo de heredabilidad para contenido de ácidos grasos en hemolinfa. Pese a esto, algunos ácidos grasos de importancia, tales como el 22:6n-3 y el 20:5n-3, demostraron tener varianza significativa entre familias, con valores de heredabilidad de 0.123 y 0.105, respectivamente. Sin embargo, el 20:4n-6, estrechamente asociado a la respuesta inmune, mostró una heredabilidad no significativa (0.003). El 22:6n-3 mostró una correlación genética positiva con el 20:5n-3 y con el 22:5n-3, 0.84 y 0.89, respectivamente. Aunque se ha propuesto que la dieta, siendo un factor ambiental, es la principal responsable de la modulación del metabolismo de lípidos e incorporación de ácidos grasos en crustáceos, los resultados obtenidos demostraron una posible influencia genética en la variación de lípidos dentro de este organismo, por lo que existe potencial para su mejoramiento genético. Estudios posteriores, particularmente relacionados con la expresión genética de enzimas involucradas en la digestión y elongación de ácidos grasos, serán requeridos para poder esclarecer el papel de la genética en este organismo.

ABSTRACT

Whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is an important economic resource in the aquaculture industry because of its economic value and domestic improvement achievements. Substantial work has been done in terms of selective breeding and heritability estimates, which mostly encompass traits such as growth rate, reproduction, and resistance to diseases and hypoxia. However, to date genetic parameters for fatty acids composition in *L. vannamei* has not been evaluated. Polyunsaturated fatty acids (PUFA), particularly EPA or 20:5n-3, DHA or 22:6n-3, and ARA or 20:4n-6, provide structural and physiological stability to cells and tissues, playing a substantial role in stress response and immune system. Thus, genetic improvement for these characteristics would be possible if heritability for PUFA is relevant. The purpose of the present study was to analyze genetic parameters such as heritability and genetic correlations for fatty acid composition in hemolymph of this species. Progeny from 81 full-sib families were reared under a common environment (food and physicochemical parameters) until they reached an average size of 22 g. A sample of 700 individuals was obtained and muscle tissue and hemolymph were sampled for DNA and fatty acids analysis, respectively. Genetic analyses (parental assignment and genetic variability) were made using 76 "Single Nucleotide Polymorphisms" molecular markers. Fatty acids were analyzed by gas chromatography. Using a full-siblings model, the heritability was estimated on fatty acids percentages. An overall low heritability for fatty acids was found; nevertheless, some important fatty acids, such as 22:6n-3 and 20:5n-3, proved to have significant variance among families with heritability values of 0.123 and 0.105, respectively. However, 20:4n-6, which is tightly linked to the immune response, showed non-significant value for heritability (0.003). The fatty acid 22:6n-3 showed a significant positive genetic correlation with 20:5n-3 and 22:5n-3 of 0.84 and 0.89, respectively. Although it has been proposed that a strong environmental influence (diet) is responsible for the modulation of fatty acid metabolism and incorporation in crustaceans, we found that genetic composition might play a role for variation of lipids within these organisms, and thus there is a potential for its genetic improvement. Further studies on genetic expression, mostly focused on enzymes associated with digestion and elongation of fatty acids will be required in order to clarify how lipid metabolism functions on shrimps.

DEDICATORIA

A Lina que ya no está conmigo

A Boris y Lola por brindarme siempre su cariño y afecto de manera incondicional

AGRADECIMIENTOS

Al CIBNOR como institución receptora, la cual me proporcionó los servicios necesarios para realizar mi trabajo durante mi estancia de maestría. Al CONACYT por la beca otorgada con número de registro 301926.

Al personal administrativo del posgrado del CIBNOR: Osvelia Ibarra Morales, Tania Verónica Núñez Valdez, Claudia Elizabeth Olaechea León y Horacio Sandoval Gómez por su atención y ayuda proporcionada en todo lo relacionado con evaluaciones y trámites durante mi estancia en el CIBNOR.

A la empresa productora de larvas “Acuacultura Mahr” por haberme proporcionado los organismos con los que se llevó a cabo este trabajo y por haber confiado en mis aptitudes para desarrollar la tesis presente.

A mis compañeros de Laboratorio de Genética Acuícola, especialmente Adriana Max Aguilar, por sus consejos y ayuda; como también al técnico encargado del laboratorio Susana Ávila, por su gran paciencia y apoyo durante mi estancia. A mis compañeros del Laboratorio de Metabolismo de Lípidos por su amistad y recomendaciones durante casi toda mi estancia dentro del laboratorio. Especialmente quiero agradecer a Olivia Arjona López por su amistad, atención, comprensión, apoyo, y sobre todo paciencia otorgada hacia mí, ya que sin su ayuda realmente no hubiera podido llevar a cabo este trabajo. Trabajar en el Laboratorio de Metabolismo de Lípidos fue verdaderamente una experiencia muy gratificante.

Al Maestro Pierrick Haffray por sus consejos y aportes importantes, los cuales contribuyeron substancialmente al desarrollo de mi tesis, sobre todo en la parte estadística y genética.

Agradecimiento especial y exhaustivo a la Doctora Elena Palacios Mechetnov; ya que sin ella este trabajo no se hubiera podido concretar en lo más mínimo; sus consejos, correcciones y guía durante la realización de mi tesis fueron cruciales para darle forma y valor a mi tesis.

Agradecer exhaustiva y profundamente a mi codirector de tesis Dr. Ricardo Pérez Enríquez por haberme dado las herramientas para formarme como Maestro, por haber sido mi guía y mentor durante mi estancia en el programa de posgrado del CIBNOR, como también por haber tenido la paciencia y la virtud de corregirme y apoyarme en todos los aspectos académicos y personales que enfrente durante el transcurso de mi carrera como estudiante de Maestría.

Especial agradecimiento a mis padres por todo su apoyo proporcionado.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Cultivo y mejoramiento genético de <i>Litopenaeus vannamei</i>	4
2.2 Heredabilidad.....	6
2.3 Marcadores moleculares SNPs.....	10
2.4 Enfermedades en camarón y tolerancia al estrés.....	11
2.5 Importancia de los lípidos/ácidos grasos en la nutrición y composición del camarón.....	12
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. HIPÓTESIS	21
5. OBJETIVO GENERAL	22
5.1. Objetivos específicos.....	22
6. MATERIALES Y MÉTODOS	23
6.1 Diseño experimental.....	23
6.2 Selección de familias.....	23
6.3 Muestreo de familias.....	26
6.4 Análisis Moleculares para la asignación de familias.....	27
6.4.1 Extracción y cuantificación de ADN.....	27
6.4.2 Obtención de SNPs.....	27
6.4.3. Análisis de Parentesco.....	27
6.5 Análisis de ácidos grasos en hemolinfa.....	28
6.5.1. Extracción de Lípidos.....	28
6.5.2.Cromatografía de gases.....	29
6.5.3. Integración FAME.....	29
6.6 Análisis de resultados/Estimación de heredabilidad y correlaciones genéticas.....	31

7. RESULTADOS	32
7.1. Obtención de frecuencias alélicas.....	32
7.2. Asignaciones de familias.....	33
7.3. Perfiles FAME.....	34
7.4. Parámetros genéticos cuantitativos.....	35
7.5. Respuesta esperada a la selección.....	39
8. DISCUSIÓN	40
9. CONCLUSIONES	47
10. LITERATURA CITADA	48
11. ANEXOS	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida del camarón blanco en cultivo (tomado de Briggs, 2006).....	5
Figura 2. Rutas de biosíntesis aeróbica para PUFA de cadena larga (tomado de Venegas-Calderón <i>et al.</i> , 2014).....	14
Figura 3. Representación esquemática de los diferentes mecanismos de regulación del sistema inmune mediados por ácidos grasos.....	16
Figura 4. Mecanismo de biosíntesis de eicosanoides (prostaglandinas) en crustáceos, modelo de estudio <i>Daphnia spp.</i> tomado de Heckmann <i>et al.</i> , 2008.....	18
Figura 5. Esquematación de la metodología para la estimación de parámetros genéticos cuantitativos para contenido de ácidos grasos en hemolinfa de camarón.....	23
Figura 6. Procedimiento enumerado por el cual se llevó acabo la inseminación artificial en los progenitores.....	24
Figura 7. Cámara de engorda de juveniles.....	25
Figura 8. Muestreo de organismos. A. Utilización de balanza digital para la medición de peso (g) en los organismos muestreados. B. Extracción de hemolinfa desde el abdomen en <i>L. vannamei</i>	26
Figura 9. Cromatograma de la muestra 91-P.....	30
Figura 10. Valores de correlación (r_G) entre ácidos grasos en hemolinfa de camarón blanco.....	38
Figura 11. Índice de determinación para ácidos grasos en hemolinfa que mostraron mayor correlación genética.....	39

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Valores de heredabilidad de rasgos fenotípicos relacionados con la producción en <i>L. vannamei</i>	7
Tabla II. Agrupación de ácidos grasos respecto a su nivel de saturación.....	13
Tabla III. Beneficios que otorga la ingesta de ácidos grasos ALA (ácido alfa-linolénico), DHA (ácido docosahexaenoico) y EPA (ácido eicosapentaenoico) a la salud humana y de otros mamíferos (tomado de Balasubramanian <i>et al.</i> , 2014).....	18
Tabla IV. Estimación de la varianza genética usando el modelo de hermanos completos.....	31
Tabla V. Variabilidad genética de una generación a otra (G ₅ -G ₆). Donde: NA, número de alelos por locus; %P, Porcentaje de polimorfismo (proporción de loci polimórficos de los SNPs utilizados); Ho, Heterocigosidad observada; He, Heterocigosidad esperada; PIC, índice de contenido polimórfico (por sus siglas en inglés). Los valores mostrados son el promedio obtenido de los 76 loci.....	32
Tabla VI. Número de individuos por familia asignados por el análisis de parentesco de los dos días de desove.....	33
Tabla VII. Porcentaje (%) de ácidos grasos por categorías de saturación en hemolinfa de camarón blanco.....	34
Tabla VIII. Comparación de las tres aproximaciones con base a distintas cantidades de individuos por familia utilizadas para la obtención de heredabilidad.....	36

Tabla IX. Niveles de heredabilidad obtenidos para ácidos grasos dentro de hemolinfa.....37

Tabla X. Valores LOD y P obtenidos en análisis de parentesco de progenie y reproductores realizados con los programas CERVUS y COLONY, respectivamente.
.....59

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años el cultivo de Peneidos, especialmente el cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), ha sido de gran atractivo para los productores debido al gran número de ventajas competitivas que presentan en términos de parámetros como: tasa elevada de crecimiento, manejo seguro a grandes densidades, tolerancia a baja salinidad, tolerancia a temperaturas frías, requerimientos proteicos relativamente bajos y la posibilidad de domesticar y realizar mejoramiento genético (Bondad-Reantaso *et al.*, 2012). El cultivo de camarón sigue en continuo crecimiento, siendo los principales productores en el mundo China, Tailandia, Vietnam, Indonesia e India, dentro del continente asiático y Ecuador, México y Brasil dentro del continente americano (Lightner *et al.*, 2012). Los camarones proporcionaron alrededor del 15% del valor total de la producción pesquera internacional en el 2012. El volumen de la producción mundial de camarón decreció en el 2012 y particularmente en el 2013, principalmente como resultado de problemas relacionados a enfermedades, tales como el síndrome de la mortalidad temprana o EMS (por sus siglas en inglés), tanto en Asia como en América Latina (FAO, 2014).

En México se observó un decremento significativo en la producción después del record de 196,456t que se obtuvo en 2009; atribuido principalmente a la pérdida de producción por mortandad, ocasionada por enfermedades relacionadas a virus y bacterias (CONAPESCA, 2013). La producción de camarón tanto en México como en otras regiones del mundo se enfrenta a la problemática de no poder responder de manera rápida y efectiva a enfermedades específicas, particularmente virus; ya que estos destacan por su grado de afección, reportada como cuatro veces más perjudicial que la ocasionada por bacterias, al ocasionar pérdidas mayoritarias y en algunos casos totales (Flegel, 2012; Lightner *et al.*, 2012).

La investigación que se ha venido realizando en los últimos años en Peneidos ha generado diversas posibilidades para incrementar y hacer más eficiente la producción. Mejoras en manejo a gran escala, cultivo larval, mantenimiento en la calidad del agua, y mejoramiento genético en rasgos de interés han sido exitosos en la industria camaronera (Andriantahina *et al.*, 2013a). En *L. vannamei* se han realizado estudios nutricionales para evaluar el rendimiento y sobrevivencia de estos organismos con base en distintos componentes dentro de la dieta del camarón blanco, que van desde uso de dietas ricas en proteína y con balance adecuado de minerales, las cuales han demostrado diferencias significativas en crecimiento y un aumento en la sobrevivencia de estos organismos bajo condiciones experimentales (Gong *et al.*, 2012), como también el uso de dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados o PUFA (por sus siglas en inglés) y altamente insaturados o HUFA (por sus siglas en inglés), los cuales han demostrado tener un papel substancial en la salud del organismo disminuyendo los niveles de lactato (molécula indicadora de estrés) en la hemolinfa (Mercier *et al.*, 2009) y modificando los niveles de HUFA en los hemocitos y la producción de eicosanoides, responsables de la respuesta inmune (Aguilar *et al.*, 2012). Particularmente, la relación de ácidos grasos n-3 (omega 3) y de n-6 (omega 6) es importante en la modulación de la repuesta inmune y producción de eicosanoides.

Pese a las ventajas que los PUFA y HUFA confieren al sistema inmune de *L. vannamei* y subsecuentemente a la salud del humano (consumidor), hasta la fecha no se han realizado estudios que evalúen el papel que desempeña el componente genético de la asimilación, incorporación y síntesis *de novo* de estos lípidos en camarón. La heredabilidad, la cual se entiende como el porcentaje de variación que tiene un determinado rasgo y que es transmitido genéticamente a la descendencia (Danchin *et al.*, 2011), es utilizada como un estimador que permite a los productores acuícolas inferir el potencial de respuesta a la selección de los organismos para un determinado rasgo (fenotipo).

En acuicultura, estudios de heredabilidad de contenido de ácidos grasos se han llevado a cabo en Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y salmón del atlántico (*Salmo salar*) obteniendo un nivel bajo de heredabilidad para tilapia y un nivel muy elevado de heredabilidad para salmón (Leaver *et al.*, 2011 Nguyen *et al.*, 2010).

De manera filogenética-comparativa se ha demostrado que *L. vannamei* posee distintas concentraciones de ácidos grasos con respecto a *Penaeus monodon* (langostino jumbo); encontrando que la proporción DHA (ácido docosapentaenoico) /EPA (ácido eicosapentaenoico) en *P. monodon* (2.15) es mayor que en *L. vannamei* (1.05), como también que la concentración de PUFA es mayor en *L. vannamei* que en *P. monodon* (Sriket *et al.*, 2007). Por lo anterior el interés de este trabajo es determinar si el contenido de ácidos grasos en hemolinfa en *L. vannamei* tiene un componente genético significativo.

2. ANTECEDENTES

2.1 Cultivo y mejoramiento genético de *Litopenaeus vannamei*

El cultivo de Peneidos es una práctica que ha venido desarrollándose y avanzando en los últimos 30 años. Dentro de las especies de Peneidos los que mayormente se cultivan son *P. monodon* y *L. vannamei*; sin embargo, a diferencia de *L. vannamei* la expansión en la producción acuícola de *P. monodon* no ha sido tan extensa como originalmente se esperaba, debido a un gran número de causas, las cuales incluyen problemas relacionados con brotes virales, escasez de reproductores, competencia en el mercado y barreras de intercambio. Añadido a esto, muchos productores que originalmente cultivaban *P. monodon* han remplazado a esta especie por *L. vannamei*, cuyas tecnologías de cultivo y domesticación son mucho más simples y accesibles. En contraste los problemas relacionados con el cultivo en *L. vannamei* son menos severos (Kongkeo, 2005).

L. vannamei es un crustáceo Decápodo perteneciente a la Familia Penaeidae. De manera silvestre habita desde la costa oriental del Océano Pacífico, Sonora (Noroeste), hasta las regiones aledañas al Centro y Sur del continente Americano; Tumbes, Perú (Briggs, 2006). De manera doméstica se encuentra distribuido en diversos lotes ubicados en distintas regiones del continente Americano y Asiático; siendo las más representativas Hawaii, Florida, Colombia, México, Venezuela, Brasil, China y Tailandia (Benzie, 2009).

Su ciclo de vida natural comprende de tres estadios larvarios (nauplio, zoea, misis), dos de maduración (postlarva, juvenil), y adultez, en la cual se reinicia el ciclo mediante reproducción selectiva; mientras que el desarrollo del camarón blanco destinado a producción comercial comprende por lo general únicamente desde huevo hasta subadulto (Fig. 1).

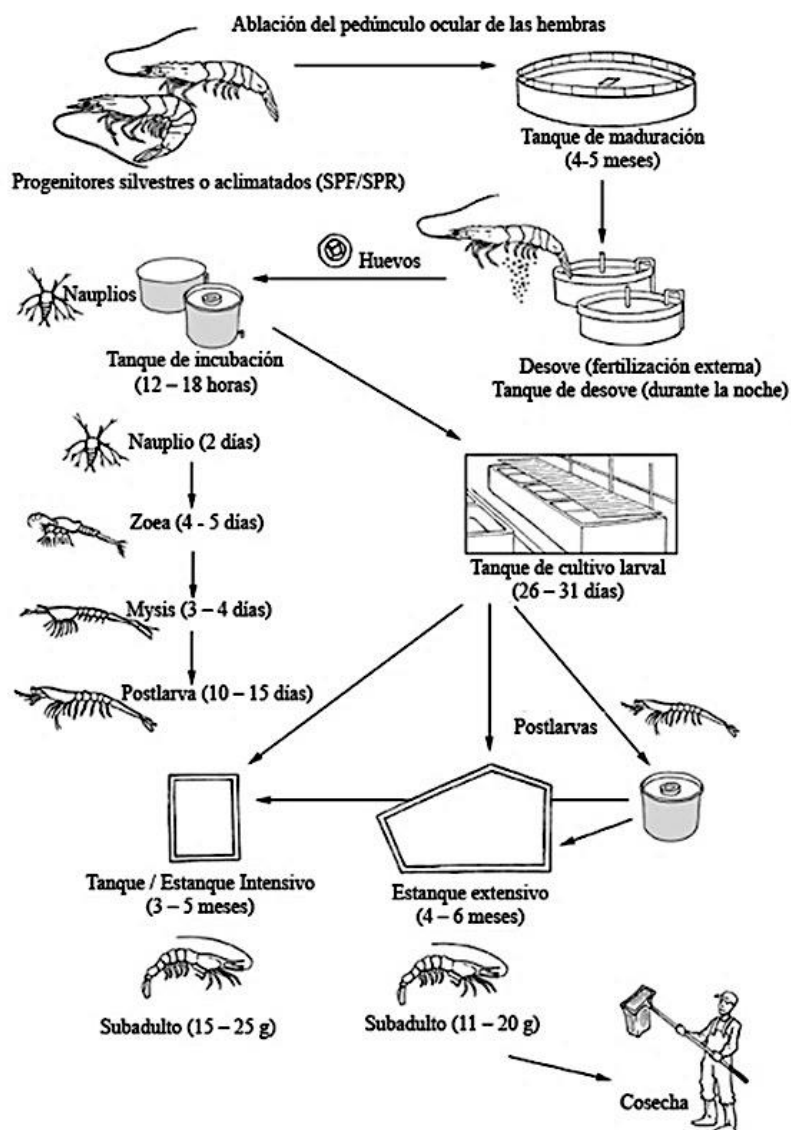


Figura 1. Ciclo de vida del camarón blanco en cultivo (tomado de Briggs, 2006).

Actualmente la industria acuícola ha logrado avances significativos en las prácticas de manejo genético de los Peneidos. El rasgo más utilizado en los programas de mejoramiento genético de Peneidos ha sido tamaño y tasa de crecimiento; en *Litopenaeus stylirostris*, *P. monodon*, *Fenneropenaeus chinensis* y *L. vannamei* se han registrado ganancias de 4-10% por generación para crecimiento (Andriantahina *et al.*, 2013b). En *L. vannamei* la selección para crecimiento ha dado buenos

resultados; sin embargo, este rasgo ha mostrado un grado substancial de plasticidad al verse afectado por la densidad de cultivo, ya que los genes que participan en el metabolismo de esta especie se ven afectados por la interacción ambiental en distintas densidades de cultivo (Ibarra y Fámula, 2008). Recientemente la industria camaronera ha venido modificando el esquema de mejoramiento genético, optando por rasgos que aporten beneficios a la salud y sobrevivencia del camarón.

2.2 Heredabilidad

La heredabilidad (h^2) se define como la medida de la variación fenotípica que es ocasionada por la variación genotípica. Es una medida que expresa la proporción total de la varianza que es atribuible a los efectos promedio de los genes que determinan un rasgo o fenotipo dado (Falconer, 1989). La heredabilidad es un parámetro genético de gran importancia para los programas de mejoramiento genético, ya que indica el porcentaje de variación total observada que es atribuible al componente genético y por lo tanto es heredable. La proporción total de la varianza genética entre la varianza fenotípica (V_G/V_P) es denominada “heredabilidad en sentido amplio” o “Coeficiente de determinación genética”, mientras que la “heredabilidad en sentido estrecho” es la proporción de la varianza genética aditiva entre la varianza fenotípica (V_A/V_P); siendo esta última la utilizada generalmente en la práctica (Sesardic, 2005).

En camarón blanco se han realizado diversas aproximaciones de heredabilidad para rasgos relacionados con la mejora en la producción; tales como crecimiento (Andriantahina *et al.* 2013; Caballero-Zamora *et al.*, 2013; Castillo-Juárez *et al.*, 2007; Pérez-Rostro e Ibarra, 2003), reproducción (Ibarra *et al.*, 2009; Ibarra *et al.*, 2005; Arcos *et al.*, 2004), resistencia a hipoxia (Ibarra *et al.*, 2007) y resistencia a enfermedades (Moss *et al.*, 2013; Gitterle *et al.*, 2006) (Tabla I).

Tabla I. Valores de heredabilidad de rasgos fenotípicos relacionados con la producción en *L. vannamei*.

Rasgo/fenotipo	Heredabilidad	Referencia
Tamaño y tasa de crecimiento	Peso corporal: 0.76 ± 0.15	Fjalestad <i>et al.</i> , 1997
	Peso corporal: 0.40 ± 0.09	Suárez <i>et al.</i> , 1999
	Longitud total: 0.15	Pérez-Rostro e Ibarra, 2003
	Longitud abdominal: 0.20	
	Peso corporal: 0.20	
	Longitud de cefalotórax: 0.17 ± 0.06	Castillo-Juárez <i>et al.</i> , 2007
	Anchura segmento abdominal: 0.22	
	Peso corporal: 0.44 ± 0.09	Andriantahina <i>et al.</i> , 2013
Rasgos reproductivos	Peso corporal en etapa de inseminación: 0.44 ± 0.08	Caballero-Zamora <i>et al.</i> , 2013
	Peso corporal a los 130 días: 0.19 ± 0.03	
	Peso corporal cuando alcanza tamaño de cosecha: 0.37-0.45	
Resistencia a hipoxia	Número de desoves durante periodo reproductivo de 30 días: 0.2	Arcos <i>et al.</i> , 2004
	Días para el primer desove, después de ablación: 0.4	Ibarra <i>et al.</i> , 2005
	Vitelogenina: 0.29 ± 0.12	Ibarra <i>et al.</i> , 2009
Resistencia a enfermedades	No. de ovocitos: 0.11 ± 0.09	
	Resistencia a hipoxia: 1.35-1.73	Ibarra <i>et al.</i> , 2007
Resistencia a enfermedades	Resistencia a WSSV: 0.01-0.07	Gitterle <i>et al.</i> , 2006
	Resistencia a TSV: 0.16-0.33	Moss <i>et al.</i> , 2013

A diferencia de *L. vannamei*, en *P. monodon* se ha observado un bajo nivel de h^2 para tamaño corporal, con un valor de 0.10 ± 0.002 (Benzie *et al.*, 1997); ya que esta especie no ha sido propiamente domesticada, además que la h^2 es un valor dependiente de la población, el cual puede variar conforme se modifique el pool genético.

Inicialmente las estimaciones de heredabilidad en *L. vannamei* fueron enfocadas a rasgos relacionados con crecimiento, mostrando parámetros genéticos con un alto grado de aplicación en la industria camaronera; ya que, de manera notoria, el mejoramiento genético tanto para tamaño como tasa de crecimiento ha dado excelentes resultados, ayudando a reducir los costos de producción e incrementando las ganancias en los cultivos comerciales (Andriantahina *et al.*, 2013a).

Las estimaciones de heredabilidad en rasgos reproductivos han dejado claro la posibilidad de realizar mejoramiento genético para incremento en número de larvas y composición de vitelogenina, ya que la hembra no sufre deterioro perceptible al realizar múltiples desoves, mostrando que el número al igual que la calidad de las larvas es consistente (Ibarra *et al.*, 2007). Al igual que tamaño y tasa de crecimiento los rasgos reproductivos son afectados por la densidad; siendo las bajas densidades las que ocasionan que los niveles de heredabilidad para desove disminuyan, aparentemente por la baja competencia reproductiva (Pérez-Rostro *et al.*, 1999).

En un distinto esquema de mejoramiento genético se ha propuesto realizar selección de camarones con una mayor resistencia a enfermedades (Cock *et al.*, 2009); sin embargo como se muestra en la tabla anterior, *L. vannamei* ha demostrado tener niveles de heredabilidad relativamente bajos para resistencia a enfermedades relacionadas con virus; siendo únicamente susceptible a selección para resistencia a TSV.

Un tipo de heredabilidad de más reciente interés en la producción animal, particularmente en la acuicultura, es la enfocada a nutrientes (proteínas,

carbohidratos, lípidos) que componen tejidos específicos de los organismos (Kause *et al.*, 2009). En lo que respecta a heredabilidad de lípidos en animales, se han hecho diversos trabajos enfocados principalmente a animales terrestres, y recientemente a peces. En peces marinos, específicamente en salmón *S. salar*, se ha reportado un mayor nivel de h^2 en LC n-3 PUFA, mostrando un valor de 0.77, lo que representa un alto potencial para mejoramiento genético (Leaver *et al.*, 2011). Sin embargo, en peces de agua dulce como la tilapia *O. niloticus* se han registrado niveles de h^2 intermedios para algunos SAFA y MUFA; tales como: 15:0 (0.27), 18:0 (0.23), 20:0 (0.24), 22:0 (0.39), 24:0 (0.32), 16:1n-7 (0.30) y 20:1n-11 (0.48). Adicionalmente se ha demostrado que los ácidos grasos saturados tienen menor concentración en machos que en hembras (Nguyen *et al.*, 2010). Se ha observado que la heredabilidad varía substancialmente respecto al tipo de ácido graso en distintas especies de ganado. La heredabilidad para contenido ácidos grasos en carne (músculo) se ha encontrado en un rango muy amplio en vaca (*Bos taurus*) y cerdo (*Sus scrofa*); con rangos de 0.00-0.78 y 0.03-0.59, respectivamente (Nogi *et al.*, 2011; Ntawubizi *et al.*, 2009).

En especies de ganado se ha sugerido la implementación de selección genética para contenido de ácidos grasos en carne; aunque, pese al nivel elevado de heredabilidad que se ha encontrado en la composición lipídica de distintos tejidos para estos organismos, no se ha podido incluir a los ácidos grasos como característica viable en los programas de mejoramiento genético, debido a que resulta ser un proceso de análisis laborioso en estas especies, como también por no existir correlación de este rasgo con un fenotipo visible para el productor (De Smet *et al.*, 2004).

2.3 Marcadores moleculares SNPs

La estimación de la heredabilidad requiere el conocimiento de la variación del parámetro a medir a nivel de familias. Cuando el desarrollo de las familias se da en un ambiente común (para reducir el efecto ambiental causado por el tanque de cultivo) es necesario identificar la familia de origen de cada individuo mediante el marcaje individual, siendo el marcaje genético una de las alternativas. Los SNPs o Polimorfismos en un solo nucleótido (por sus siglas en inglés) son ocasionados por mutaciones puntuales que dan origen a distintos alelos, conteniendo bases nitrogenadas alternativas en una posición de nucleótido dada dentro de un locus. Tales diferencias de secuencia han sido propiamente caracterizadas desde el comienzo de la secuenciación de ADN (1977); aunque la habilidad de genotipificar SNPs rápidamente en grandes proporciones no fue posible hasta el logro de distintos avances tecnológicos a finales de 1990, y actualmente en la acuicultura son una herramienta muy utilizada para análisis de parentesco y variabilidad genética de las poblaciones (Liu, 2007). La utilización de marcadores moleculares (RFLPs, AFLPs, RAPDs, microsatélites, SNPs, marcadores EST) ha sido una herramienta indispensable para la prevención de cuellos de botella y son el principal sustento en la identificación y rastreo de familias, al igual que contribuyen a la valoración de diversidad genética en los programas de mejoramiento genético (Vaseeharam *et al.* 2013). La estimación y comparación precisa de la variación genética en las poblaciones al igual que análisis de parentesco requiere de un gran número de SNPs; ya que a diferencia de otros marcadores moleculares como los microsatélites, los cuales tienen por lo general una alta cantidad de alelos (~ 5-20), los SNPs solo cuentan con loci compuestos de un nucleótido en cada cromosoma homólogo (paterno y materno) con cuatro formas de alelos posibles cada locus (A, G, C, T). Debido a esto, en cuanto a estimaciones de variación a nivel genoma, se sugiere de cuatro a diez veces más el número de loci que los que se utilizaría con otros marcadores mutialélicos (Morin *et al.*, 2004). A lo largo de la última década se ha buscado generar y alimentar bases de datos existentes para organismos de

interés comercial, ya que son una herramienta de gran ayuda en la búsqueda de polimorfismo y variabilidad genética. En el caso de *L. vannamei*, en un estudio reciente, se han genotipificado 825 SNPs y se han descubierto 1244 SNPs putativos a lo largo de los 44 pares de cromosomas que posee este organismo (Du *et al.*, 2009).

2.4 Enfermedades en camarón y tolerancia al estrés.

La industria de producción acuícola de camarón ha enfrentado diversos problemas relacionados con enfermedades ocasionadas por virus y bacterias. Recientemente, en Asia al igual que en México el fenómeno de muerte temprana ha venido causando estragos en la producción comercial de camarón blanco en los últimos años, siendo presuntamente el agente causante de este fenómeno *Vibrio parahaemolyticus* (De Schryver *et al.*, 2014). El uso de antibióticos y/o desinfectantes ha mostrado incompatibilidad en los sistemas actuales de producción acuícola de camarón; ya que no solo se han visto inefectivos en combatir enfermedades relacionadas a infecciones bacterianas, sino que también dañan y destruyen la microbiota que beneficia el sistema digestivo e inmune de estos organismos (De Schryver, 2014).

La mortalidad por enfermedades es mayor cuando los organismos se encuentran en condiciones de estrés previo (Wang y Chen 2006; Flegel, 2012), como el producido por cambios de salinidad, densidades altas, ya sea por interacciones con otros organismos o por acumulación de desechos por aglomeración de los organismos (Aguilar *et al.*, 2012). El estrés induce una respuesta que altera las variables metabólicas, tales como producción de glucosa, capacidad osmoregulatoria y producción de lactato. Mercier *et al.* (2006) observaron que las concentraciones de proteínas, triglicéridos y lípidos totales disminuían en hemolinfa al igual que la concentración de carbohidratos en músculo, al someter a *L. vannamei* bajo estrés en tanques de concreto, mientras que en sometiendo a los organismos

bajo estrés en tanques de plástico las concentraciones de glucosa y lípidos totales aumentaban en hemolinfa. La respuesta al estrés puede ser modulada por la dieta (Mercier *et al.*, 2009) y en particular, por la composición de ácidos grasos en hemocitos, dado que estos modifican la síntesis de eicosanoides en el organismo (Aguilar *et al.*, 2012).

2.5 Importancia de los lípidos/ácidos grasos en la nutrición y composición del camarón

Los ácidos grasos son un tipo de lípidos, biomoléculas que se encuentran en una amplia diversidad tanto en estructura como funciones biológicas. Los lípidos en la naturaleza se encuentran en forma de esteroides, esteroides/pigmentos, vitaminas, triglicéridos, ceras y esfingolípidos; siendo estos tres últimos los más abundantes y como característica común comparten el estar constituidos principalmente por ácidos grasos (Vance y Vance, 2008). Los ácidos grasos a su vez se clasifican con base en el nivel de saturación que presentan en su cadena carbonada (Tabla II); distinguiéndose principalmente en ácidos grasos saturados (SAFA) y ácidos grasos insaturados (UFA), los cuales a su vez se clasifican en monoinsaturados (MUFA), poliinsaturados (PUFA) y altamente insaturados (HUFA) (Kuang-Chow, 2008). Uno de los papeles de mayor importancia que desempeñan los lípidos en los organismos es formar una barrera de permeabilidad en la bicapa fosfolipídica de las células y orgánulos.

Tabla II. Agrupación de ácidos grasos respecto a su nivel de saturación.

SAFA	MUFA	PUFA	HUFA
12:0 (Ácido láurico)	14:1n-5 (Ácido miristoleico)	16:2n-7	
13:0 (Ácido tridecanoico)	16:1n-9	16:2n-4	
14:0 (Ácido mirístico)	16:1n-7 (Ácido palmitoleico)	16:3n-6	
15:0 (Ácido pentadecanoico)	16:1n-5	16:3n-4	Ácido araquidónico (20:4n-6)
16:0 (Ácido palmítico)	17:1n-8	18:2n-6 (Ácido linoleico)	20:4n-3 (Ácido eicosatetraenoico)
17:0 (Ácido margárico)	17:1n-7	18:2n-4	21:4n-6
18:0 (Ácido esteárico)	18:1n-5	18:3n-6 (Ácido gama- linolénico)	22:4n-6
19:0 (Ácido nonadecanoico)	20:1n-11	18:3n-4	20:5n-3 (Ácido eicosapentaenoico)
20:0 (Ácido araquirico)	20:1n-9	18:3n-3 (Ácido alfa- linolénico)	21:5n-3
21:0 (Ácido heneicosanoico)	20:1n-7	18:4n-3	22:5n-6
22:0 (Ácido behénico)	22:1n-11	20:2n-6 (Ácido eicosadienoico)	22:5n-3 (Ácido docosapentaenoico)
24:0 (Ácido lignocérico)	22:1n-9	20:3n-6 (Ácido dihomo-gamma-linolénico)	22:6n-3 (Ácido docosahexaenoico)
	24:1n-9	20:3n-3	

La mayor parte de los organismos pueden sintetizar ácidos grasos saturados. Sin embargo, la enzima encargada de producir omega 3 y omega 6 a partir de los ácidos grasos saturados no se encuentra activa en los animales, pero si en las plantas. Como consecuencia, los ácidos grasos PUFA omega 3 y 6 son considerados esenciales para los animales. A partir de los PUFA 18:3n-3 (ácido α -linolénico) y 18:2n-6 (ácido linoleico) sintetizados por las plantas, la mayor parte de los animales pueden sintetizar HUFA. Sin embargo, los peces marinos y el camarón no pueden sintetizar HUFA de PUFA (Fig. 2), por lo que en estos organismos se deben de proporcionar los HUFA más importantes en la dieta; tal es el caso de 20:5n-3 (ácido eicosapentaenoico o EPA) y 22:6n-3 (ácido docosahexaenoico o DHA) de la familia de los omega 3, y el 20:4n-6 (ácido araquidónico o ARA) de la familia de los omega 6. El DHA en particular, está asociado con el desarrollo del sistema nervioso de

larvas, mientras que el ARA es estimulador del sistema inmune, como se verá más adelante, y el EPA es inhibidor del sistema inmune.

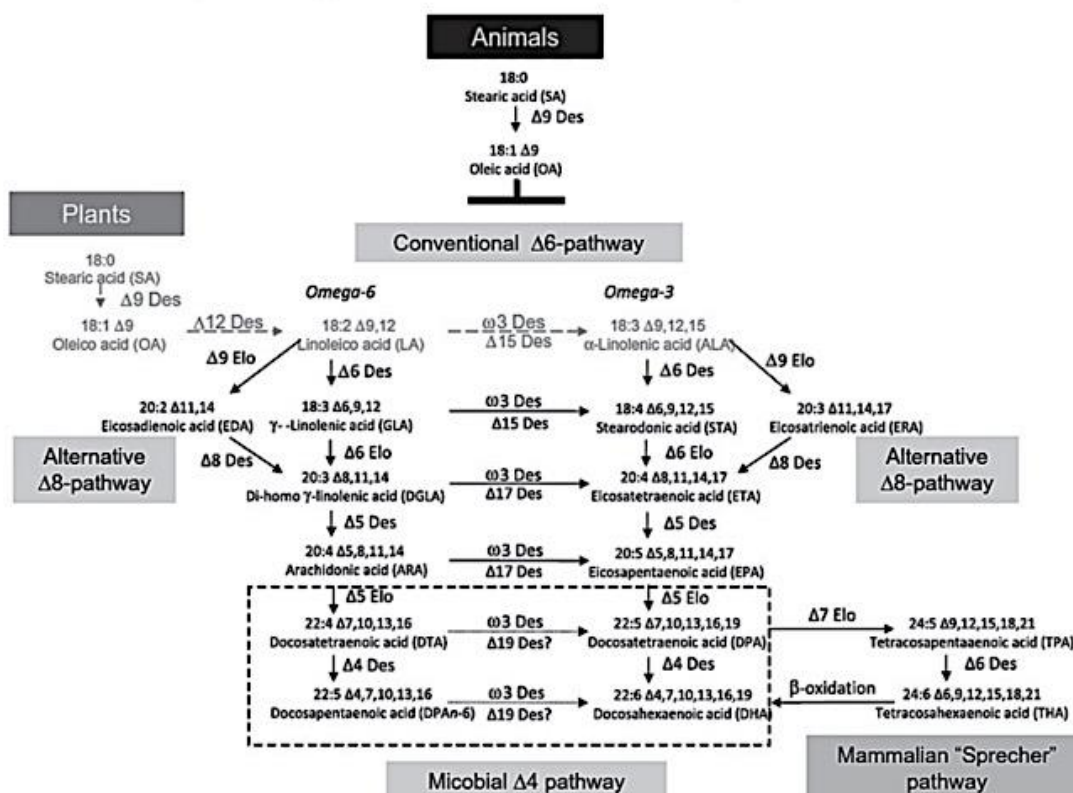


Figura 2. Rutas de biosíntesis aeróbica para PUFA de cadena larga. Las diferentes rutas de síntesis en ARA, EPA y DHA son mostradas como mediadas de la acción consecutiva de desaturasas y elongasas (enzimas encargadas de remover átomos de hidrógenos para formar dobles enlaces de carbonos y catalizar el alargamiento de la cadena de los ácidos grasos, respectivamente). La ruta predominante $\Delta 6$ (desaturasa 6) es mostrada como una ruta alternativa para $\Delta 8$ (desaturasa 8). Se muestran dos rutas para la síntesis de DHA, ruta microbiana $\Delta 4$ (desaturasa 4), y la ruta "Sprecher" en mamíferos. Donde Des, desaturasa; Elo, elongasa (tomado de Venegas-Calderón *et al.*, 2010).

La distribución tanto de clases de lípidos como composición de ácidos grasos en crustáceos varía con el hábitat (marino o agua dulce), temperatura, tejido, ciclo de vida, etapa de muda, y fácilmente es reflejada en la composición de la dieta (Wickins y Lee, 2008). Estructuralmente son responsables de la rápida adaptación a cambios bruscos de temperatura, ya que los crustáceos poseen la capacidad de cambiar las proporciones de SAT/UFA de las membranas celulares, proporcionando mayor número de UFA conforme la temperatura disminuye u otro factor que induzca un estado que sea percibido por el organismo como estrés (Pruitt, 1990). Diversos trabajos han revelado la importancia de los ácidos grasos en la salud y supervivencia y durante las distintas etapas de desarrollo del camarón blanco, ya que han demostrado ser un importante sustento estructural y fisiológico, que mantiene la homeostasis de estos organismos (Fig. 3), ya sea por proporcionar energía, por cambios estructurales de membrana o por producir cambios para enfrentar la homeostasis (Palacios *et al.*, 2002). Entre estos, ARA ha demostrado ser un ácido graso de importancia para el camarón blanco siendo un precursor de eicosanoides (Fig. 4). Los eicosanoides son moléculas biológicamente activas que actúan como señalizadores dentro del sistema parácrino y autócrino, y a su vez regulan funciones de reproducción, transporte iónico y sistema inmune tanto en vertebrados como invertebrados (Lans-Henrick *et al.*, 2008).

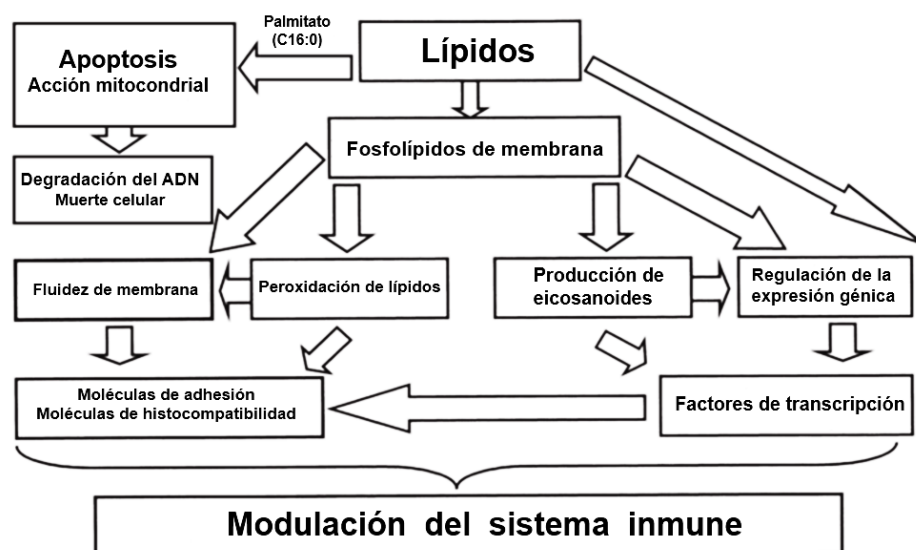


Figura 3. Representación esquemática de los diferentes mecanismos de regulación del sistema inmune mediados por ácidos grasos (tomado de De Pablo y Álvarez, 2000).

Mientras que ARA es esencial como precursor de eicosanoides y en particular de las prostaglandinas de la serie 2 que son secretadas cuando se requiere estimular el sistema inmune ante la presencia de un patógeno, Glencross *et al.* (2001) demostraron en *P. monodon* la incorporación de ARA en grandes dosis dentro de la dieta resulta perjudicial para el crecimiento de este organismo, probablemente porque se sobre-estimula el sistema inmune. Las concentraciones óptimas de ARA en la dieta para camarón aún están por dilucidarse. Por ejemplo, Aguilar *et al.* (2012) demostraron que por encima de cierto nivel, inclusiones más elevadas de ARA en la dieta del camarón blanco ya no incrementaban la cantidad de eicosanoides en los hemocitos, por lo que concluyeron que concentraciones de ARA en la dieta de 0.8% del total de ácidos grasos son suficientes para regular y mantener una producción ideal de eicosanoides en el organismo.

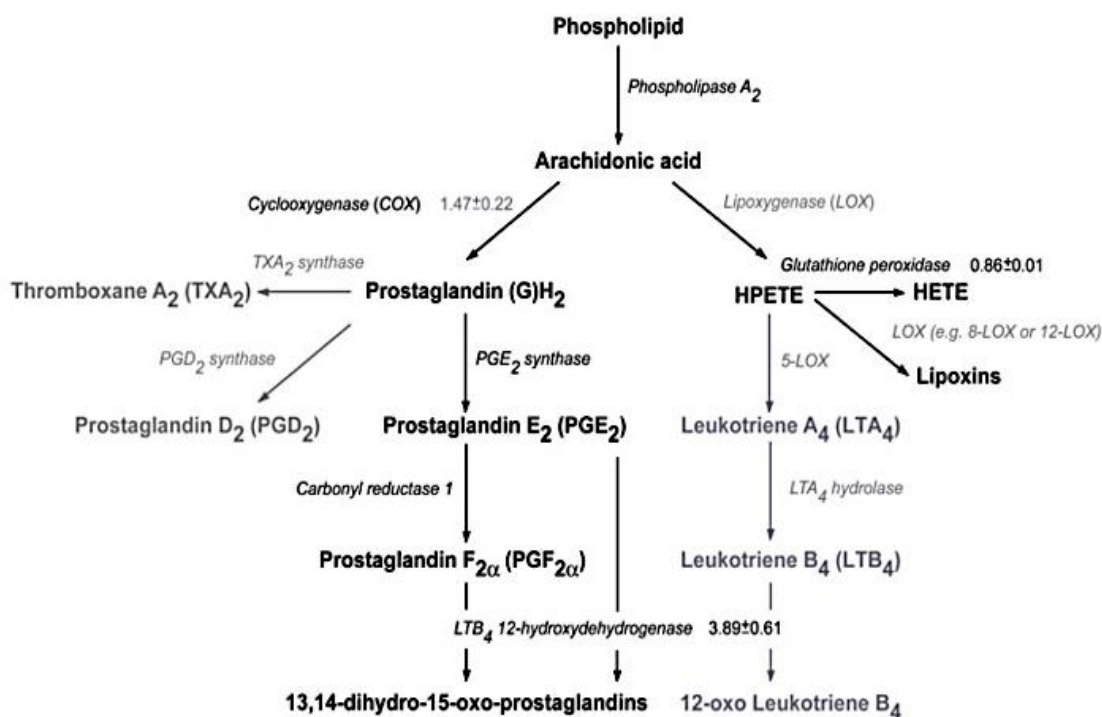


Figura 4. Mecanismo de biosíntesis de eicosanoides (prostaglandinas) en crustáceos, modelo de estudio *Daphnia spp.* (tomado de Heckmann *et al.*, 2008).

La modulación del sistema inmune, además de llevarse a cabo por niveles iniciales de ARA en hemocitos, está dada por los niveles de otros ácidos grasos HUFA, particularmente EPA y DHA. El EPA compite directamente con el ARA por las enzimas LOX y COX (Fig. 4), pero a partir del EPA se sintetizan prostaglandinas del tipo 3 que son en su mayoría, antagónicas a las prostaglandinas de la serie 2 derivadas del ARA. Por otro lado, el DHA compite con el ARA por la fosfolipasa A₂, que libera a ambos ácidos grasos de los fosfolípidos. De esta forma, la presencia de los tres ácidos grasos en hemocitos afecta la respuesta inmune de los organismos. Los efectos de EPA y DHA han sido más estudiados en humanos (Tabla III).

Tabla III. Beneficios que otorga la ingesta de ácidos grasos ALA (ácido alfa-linolénico), DHA (ácido docosahexaenoico) y EPA (ácido eicosapentaenoico) a la salud humana y de otros mamíferos (tomado de Balasubramanian *et al.*, 2014).

Beneficio	Ácido graso	Organismo de estudio
Resistencia a niveles bajos de insulina	ALA	Humano
Reducción de aterosclerosis	DHA, EPA	Humano
Promueve el desarrollo neuronal y del cerebro	ALA, DHA	Humanos, roedores y otros primates
Prevención de formación de tumores	DHA	Humano y rata
Prevención de apoptosis	DHA, EPA	Rata
Prevención de inflamación	ALA	Humano, rata
Fortificación ósea	DHA	Humano
Mitigación de inflamación quística	DHA, EPA	Humano
Combate al estrés oxidativo	DHA	Humano, gato, perro
Prevención de trombosis	EPA	Humano
Prevención de arritmia	DHA, EPA	Humano
Inmunomodulación	DHA, EPA	Humano
Aumento de capacidades neurales, visión y funcionamiento cerebral	DHA, EPA	Humano
Mitigación de muerte por enfermedades cardiovasculares	DHA, EPA	Humano

De manera conjunta se sabe que los ácidos grasos forman un papel substancial en el mantenimiento y funcionamiento de organismos tanto marinos como terrestres; sin embargo hasta la fecha poco se sabe sobre la heredabilidad y participación genética en la expresión del contenido de ácidos grasos en *L. vannamei*.

3. JUSTIFICACIÓN

En la Acuicultura la producción de Peneidos es una importante fuente de ingresos y constituye un aporte significativo a la industria alimenticia; siendo *L. vannamei* la especie de mayor interés en cuanto a producción a nivel global, constituyendo en un 68% del total de la producción (Andriantahina *et al.*, 2013a). El incremento en la demanda para la producción acuícola de Peneidos ha llevado a un incremento en la eficiencia de los sistemas de producción. El mejoramiento de la producción ha sido logrado a través de mejoramiento en el manejo, crianza larvaria, nutrición, diagnóstico y tratamiento de enfermedades, calidad del agua, y selección genética de rasgos relacionados con la producción (Andriantahina *et al.*, 2013b). A medida que la industria camaronera madura, estudios integrados serán requeridos para poder mitigar el impacto de enfermedades y de esta forma asegurar la sostenibilidad a largo plazo de la industria. Estas aproximaciones incluyen el uso de camarones libres de patógenos específicos o SPF (por sus siglas en inglés), el uso de estirpes selectivas de camarones y la adopción de bioseguridad en las prácticas acuícolas (Moss, *et al.*, 2012). La selección genética ha sido fundamental en el éxito de la industria acuícola, ya que ha permitido seleccionar rasgos económicamente importantes (Gjedrem *et al.*, 2012), lo cual la hace una herramienta crucial en la mitigación de los problemas ocasionados por las enfermedades en la producción camaronera. Sin embargo, las enfermedades en el camarón han cambiado en los últimos años, por lo que producir una estirpe tolerante a una enfermedad es una respuesta a corto plazo. Una forma de mitigar la mortalidad por enfermedades, es producir camarones que tengan un sistema inmune más robusto. Dado que la respuesta inmune se compone de muchos elementos, algunos de ellos de corta duración y difícil de analizar, seleccionar biomarcadores se vuelve complicado. Una alternativa, es seleccionar ácidos grasos específicos.

Los ácidos grasos son relativamente estables en la membrana, y afectan la respuesta inmune por síntesis de eicosanoides. Dado que se ha demostrado que dietas ricas en HUFA han sido exitosas tanto en el crecimiento (González-Félix *et al.*, 2003) como en la supervivencia de *L. vannamei* (Palacios *et al.*, 2001), existe potencial para realizar mejoramiento genético de contenido de ácidos grasos para estos organismos. En la presente tesis, se analizaron los ácidos grasos presentes en hemocitos (hemolinfa) de camarón blanco, con la finalidad analizar parámetros genéticos cuantitativos relacionados con contenido de ácidos grasos y proporcionar información sobre el potencial de mejoramiento genético que pudiera existir para dicho rasgo, que bien pudiera dar la pauta para un análisis posterior de parámetros genéticos para contenido de ácidos grasos en músculo (beneficios para el consumidor).

4. HIPÓTESIS

La composición de ácidos grasos de *L. vannamei* tiene un componente genético significativo que determina la digestión, incorporación y síntesis *de novo* por lo que se espera obtener una heredabilidad baja-intermedia para contenido de ácidos grasos en hemolinfa de *L. vannamei*.

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar el nivel de heredabilidad y parámetros genéticos de contenido de ácidos grasos en hemolinfa de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

5.1. Objetivos específicos

- Determinar los niveles de ácidos grasos saturados, poliinsaturados y altamente insaturados en hemolinfa de camarones de distintas familias.
- Estimar la heredabilidad en sentido estrecho del contenido de ácidos grasos.
- Obtener el nivel de correlación genética en rasgos lipídicos, así como también la correlación entre contenido lipídico y el peso para esta especie.
- Determinar el potencial de respuesta esperada a la selección para EPA, DHA y ARA.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Diseño experimental.

El diseño experimental de este trabajo consistió en un procedimiento de seis fases (Fig. 5).

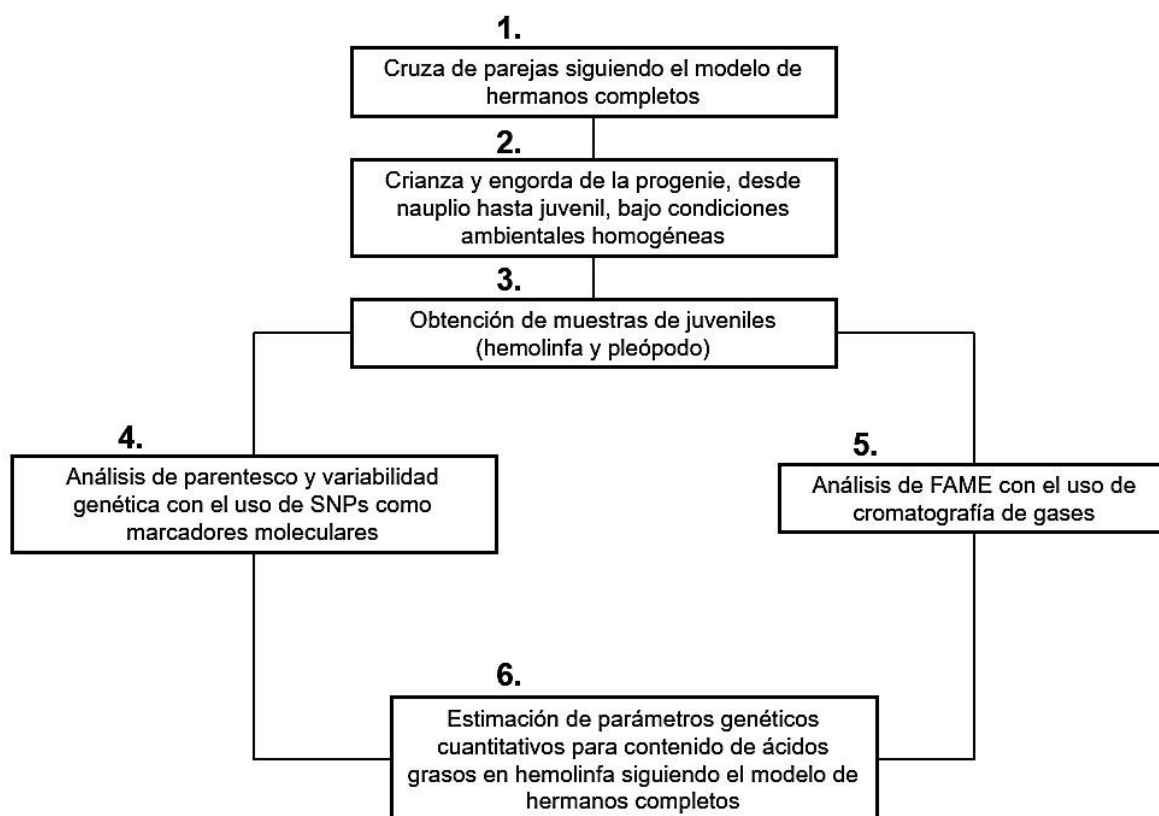


Figura 5. Esquematzación de la metodología para la estimación de parámetros genéticos cuantitativos para contenido de ácidos grasos en hemolinfa de camarón.

6.2. Selección de familias

Los reproductores utilizados en la formación de familias pertenecieron a la 5ª generación del núcleo genético de la empresa productora de larvas “Acuacultura Mahr”. Esta empresa mantiene un programa de selección masal destinado a mejorar la tasa de crecimiento. En cada generación se mantiene un lote de reproductores

de aproximadamente 3,200 ejemplares en una proporción de sexos 1:1. En cada generación el lote de reproductores se madura sexualmente sobre la base del manejo del alimento (Royal oyster entre otros) sin ablación. Los desoves de la 5ª generación utilizados para este trabajo se realizaron los días 8 y 9 de febrero de 2014. Las cruzas se hicieron mediante inseminación artificial (Fig. 6) depositando el esperma de los machos en la región ovárica de las hembras, generando 81 familias de hermanos completos de dos días de desove (40 y 41 familias, respectivamente). Las hembras inseminadas fueron colocadas en contenedores de 1,100L, desovando en un periodo aproximado de 6 hrs (Fig. 6). Los machos y hembras de cada familia fueron muestreados para la obtención de ADN mediante la extracción de un pleópodo del quinto par, que sería destinado para los análisis moleculares.



Figura 6. Procedimiento enumerado por el cual se llevó a cabo la inseminación artificial en los progenitores. 1. Extracción del espermatóforo (área circular) . 2. Descubrimiento de los sacos espermáticos. 3. Posicionamiento de los dos sacos espermáticos en el téllico de la hembra (área circular). 4. Transporte de la hembra inseminada a un tanque de desove.

La progenie de cada familia de cada día de desove, fue mezclada en la etapa de nauplio (40,000 nauplios por familia, para homogenizar las cantidades) en un tanque de 20 toneladas. La engorda desde larva a juvenil se llevó en el mismo tanque (ver Fig. 7) siguiendo procedimientos estándares comerciales: suministro de comida suministro de alimento balanceado cada cuatro horas (VIMIFOS®; de 35% proteína cruda, 7% grasa cruda, 3% fibra cruda, 12% humedad, 12% cenizas y 31% E.L.N.), revisión cada dos horas de parámetros fisicoquímicos del agua (temperatura, oxígeno y pH) y suministro de probiótico (1000 L de agua de mar, 30 L de probiótico, 30 L de melaza, 200 g de urea y 100 mL de ácido sulfúrico).



Figura 7. Cámara de engorda de juveniles. La revisión del funcionamiento del sistema se hizo de manera constante las 24h durante 3 meses.

6.3. Muestreo de familias

Una vez que los juveniles alcanzaron un peso promedio de 22 g se llevó a cabo el procedimiento de obtención de muestra (Fig. 8) de la siguiente manera:

- Se colectaron aleatoriamente 700 individuos juveniles pertenecientes al mismo tanque.
- Se pesaron todos los individuos muestreados (Fig. A).
- Se extrajo 200 μL de hemolinfa de cada ejemplar con jeringas BD ultrafinas (volumen de 1mL con aguja de 8mm de grosor) precargadas con 300 μL de anticoagulante, compuesto de solución isotónica (9g de NaCl + 1000mL H₂O) al 95% y oxalato de potasio al 5% (Fig. B). La solución se colocó en tubos de criopreservación de 1.5 mm y se conservaron en nitrógeno líquido hasta su posterior almacenamiento a -80°C en el Laboratorio de Genética Acuícola del CIBNOR.
- Se extrajeron dos pleópodos de un mismo segmento de cada individuo, colocándolos en tubos, uno en alcohol al 80% y otro en nitrógeno líquido, hasta su posterior almacenamiento a -20°C y -80°C respectivamente, en el Laboratorio de Genética Acuícola del CIBNOR.

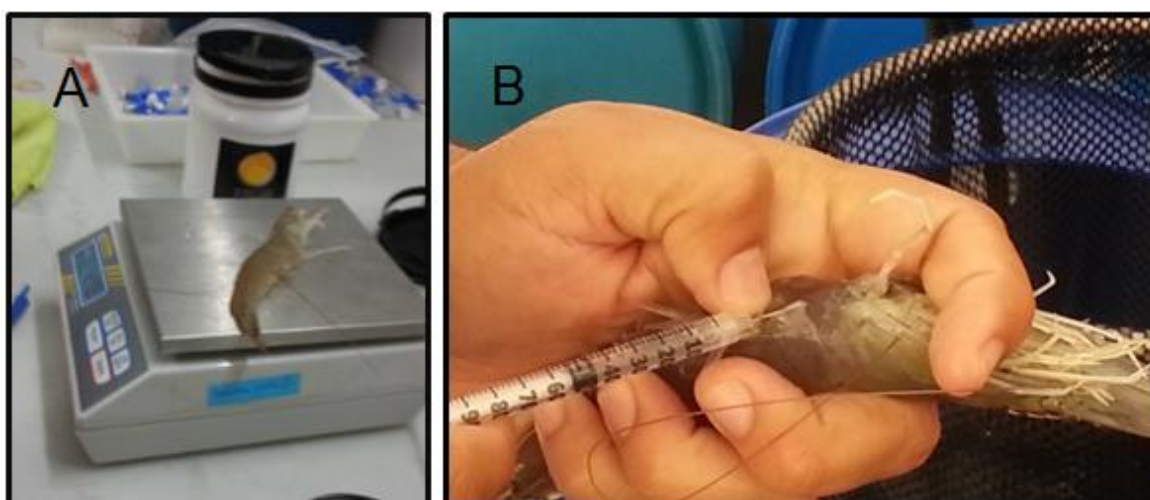


Figura 8. Muestreo de organismos. **A.** Utilización de balanza digital para la medición de peso (g) en los organismos muestreados. **B.** Extracción de hemolinfa desde el abdomen en *L. vannamei*.

6.4. Análisis Moleculares para la asignación de familias

6.4.1. Extracción y cuantificación de ADN

Para la extracción y purificación de ADN se utilizó el kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega) siguiendo las especificaciones del producto. El ADN quedó almacenado en placas de polipropileno con 96 pozos a -20°C (respaldo y alícuotas) sellados con filmes adhesivos BIO-RAD®.

Se procedió a cuantificar las extracciones utilizando el equipo Nanodrop 2000c® (Thermo Scientific). En este equipo se agregó H₂O miliQ (Promega) como blanco, y se utilizó 1 µL de ADN para cada análisis. Se prepararon geles de agarosa al 1x (TBE), para así, realizar electroforesis con las muestras y poder ver la calidad de ADN con base a la resolución obtenida. Posterior al análisis el ADN se homogeneizó a una concentración deseada (30 ± 20 ng/µL).

6.4.2. Obtención de SNPs

El ADN de los progenitores (hembras y machos) de las 81 familias y de la progenie (n=700) se utilizó para obtener los perfiles genéticos individuales, utilizando un panel de 76 loci tipo SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms o Polimorfismos de un Solo Nucleotido) mediante la utilización del sistema de circuitos fluidicos integrados o IFCs (por sus siglas en inglés) del equipo FLUIDIGIM a través de la empresa “Center for Aquaculture Technologies” (San Diego, CA, USA).

6.4.3. Análisis de Parentesco

La asignación de cada una de las progenies con sus respectivas familias se realizó mediante pruebas de Exclusión directa con el programa Vitassign (Vandeputte *et al.*, 2006), permitiendo una no coincidencia. Las asignaciones fueron corroboradas con asignaciones probabilísticas a través de los programas Colony 2.0.1.1 (Wang, 2004) y Cervus 3.0.7. (Marshall *et al.*, 1998), el cual de manera complementaria arrojó información referente a frecuencias alélicas tanto para padres como hijos.

6.5. Análisis de ácidos grasos en hemolinfa

6.5.1. Extracción de Lípidos

El análisis de ácidos grasos se realizó en el laboratorio de Metabolismo de Lípidos del CIBNOR. Se siguió el método descrito por Arjona y Palacios (2009), con las siguientes modificaciones: se midió el volumen de cada muestra de hemolinfa, considerando que cada muestra tenía 300 μL de anticoagulante precargado. Las muestras se dividieron en dos partes, respaldo y alícuota para ácidos grasos. Se agregó 6mL de solución Folch (cloroformo-metanol 2:1 v/v), basado en lo descrito por Folch *et al.* (1956). En el extracto de cada muestra se agregaron 10 μL de BHT (Butil hidroxitolueno, antioxidante) y 10 μL del estándar interno 23:0. Las muestras fueron homogenizadas por sonicación (Sonicator BRANSON 2510, Danbury, CT, USA) en baño con hielo durante 15 min y almacenadas a -20°C . Se evaporó a sequedad con N_2 (gas) y se agregó 1mL de BF_3 -metanol (Boro trifloruro-metanol) para de esta forma derivatizar (trans-esterificar) los ácidos grasos a 85°C por 15 min. Una vez terminado este procedimiento se realizó un lavado con hexano y tres lavados con H_2O mili-Q, centrifugando a 2000 rpm por 5 min a una temperatura de 5°C . Los ácidos grasos metil-esterificados (FAME) obtenidos quedaron almacenados en viales ámbar de 2mL (Agilent Technologies®) a -20°C hasta su separación en el cromatógrafo de gases.

6.5.2. Cromatografía de gases

Los FAME se separaron en el equipo de cromatografía de gases Agilent Technologies® 6890N utilizando una columna capilar DB-23 (50% Cianopropil-50% metilpolisiloxano) de 30 m de longitud x 0.25 µm de espesor de película x 0.25 mm de diámetro interno. Se usó helio como gas acarreador a un flujo de 0.8 mL/min y una rampa de temperatura de 110-220°C. Para la detección de las áreas de los FAME se usó un detector por ionización de flama (FID).

6.5.3. Integración FAME

La identificación de cada ácido graso se realizó comparando el tiempo de retención con el tiempo de retención de estándares comerciales (Sigma). La cuantificación se realizó en base al área bajo la curva, en relación al estándar interno (23:0). Las señales de las áreas bajo la curva de cada FAME (Fig. 9) fueron transformadas a porcentajes utilizando un macro de Excel desarrollado por la Dra. Elena Palacios (Fig. 9). Las muestras que presentaban indicios de oxidación de lípidos fueron descartadas.

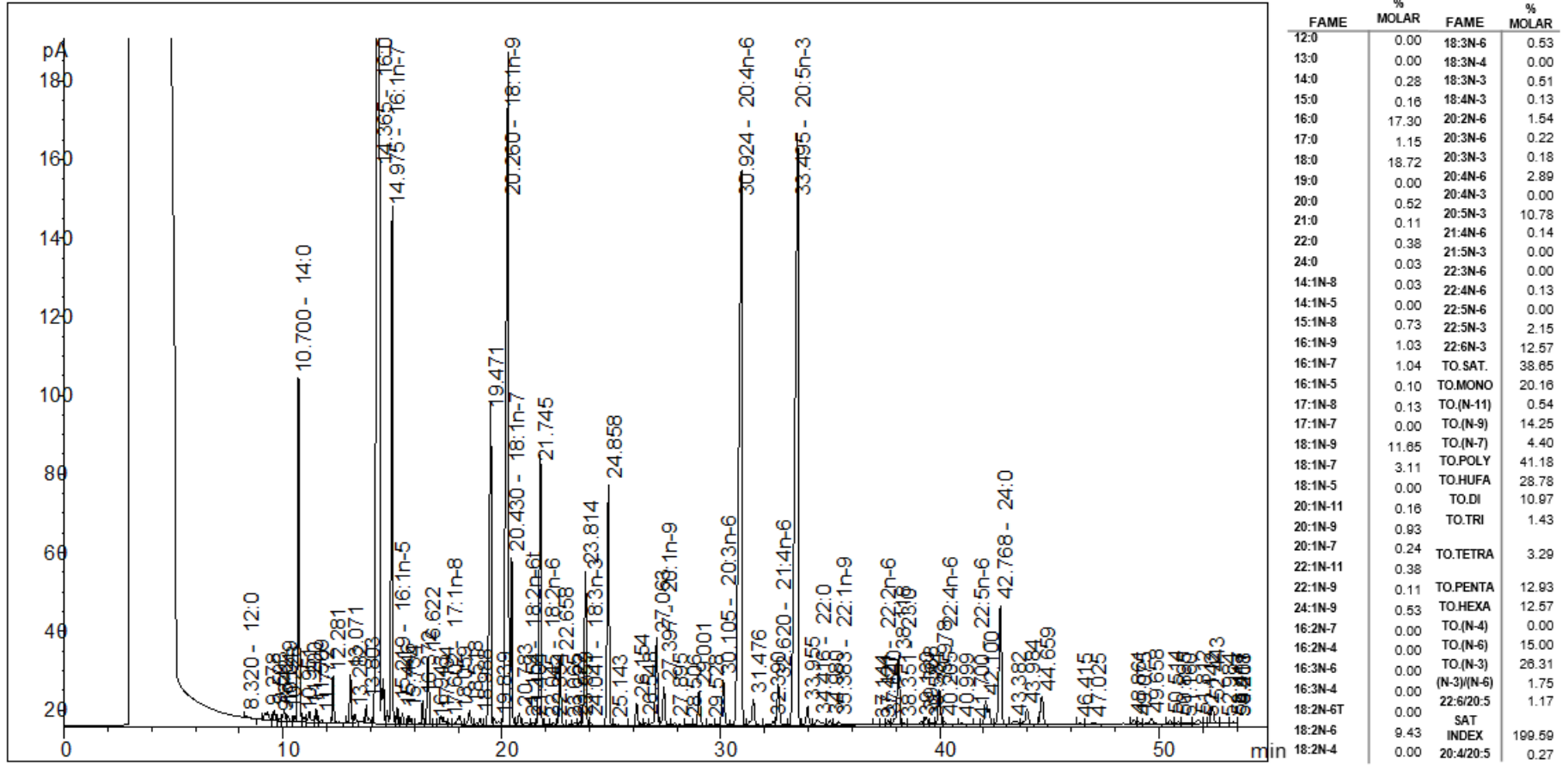


Figura 9. Cromatograma de la muestra 91-P donde se muestran los valores de cada FAME analizado en picoamperes (pA) con sus respectivos tiempos de retención. El estándar interno 23:0 se muestra a los 37.85 min. En el lado derecho de la gráfica se observa la traducción de los valores obtenidos a porcentajes, con el uso de un macro de Excel.

6.6. Análisis de resultados/Estimación de heredabilidad y correlaciones genéticas

Previo al análisis de heredabilidad, se realizó una prueba de t de Student en la población de datos utilizada, con la finalidad de corroborar la posible existencia de diferencias entre machos y hembras. La estimación de heredabilidad en sentido estrecho (Falconer, 1989) se obtuvo utilizando el modelo de hermanos completos siguiendo el modelo aleatorio $Y_{ik} = \mu + \alpha_i + e_{ik}$, donde μ es la media común, α_i es el efecto de i veces apareamientos y e_{ik} son las desviaciones ambientales y genéticas incontroladas atribuidas a los individuos dentro de las familias. Para ello se realizó un análisis de varianza de acuerdo con Roff (1997) (Tabla IV), en donde N: número de familias, T: número total de individuos, k: media ponderada de número de individuos por familia $k = \frac{\sum_{i=1}^N ni - (\sum_{i=1}^N ni \times ni) / (\sum_{i=1}^N ni)^{-1}}{N-1}$ y V: Varianza. La heredabilidad de ácidos grasos se estimó de manera relativa utilizando los porcentajes obtenidos de FAME con el uso de ANOVA de una vía, utilizando tres aproximaciones de conformación de familias: ≥ 7 individuos por familia (38 familias), ≥ 5 individuos por familia (50 familias), ≥ 3 individuos por familia (61 familias); para de esta forma evaluar el error estándar en conjunto con cada aproximación.

Tabla IV. Estimación de la varianza genética usando el modelo de hermanos completos.

Análisis de varianza ($h^2 = 2V_{AF}/V_{AF}+V_{AP}$)			
$\frac{2(MS_{AF} - MS_{AP})}{MS_{AF} + (k - 1)MS_{AP}}$			
Fuente de variación	Grados de libertad	Medias cuadráticas (MS)	Medias cuadráticas esperadas
Entre Familias (AF)	N-1	MS_{AF}	$V_{AP} + kV_{AF}$
Entre progenie (dentro de las familias; AP)	T-N	MS_{AP}	V_{AP}

Las correlaciones genéticas se hicieron siguiendo la fórmula propuesta por Falconer (1989).

La respuesta a la selección se estimó utilizando la fórmula: $R = ih^2\sigma_p$; donde i representa la intensidad de selección, h^2 es la heredabilidad y σ_p representa la desviación estándar fenotípica.

7.1. Obtención de frecuencias alélicas

Los resultados arrojados en CERVUS con los genotipos de los padres mostraron una media de heterocigosidad esperada (H_e) de 0.3387 y una media de contenido polimórfico (PIC por sus siglas en inglés) de 0.2695 (G_5). Los genotipos de los hijos mostraron una heterocigosidad esperada de 0.3360 y una media de contenido polimórfico de 0.2672 (G_6). No hubo desviaciones de equilibrio de Hardy-Weinberg en la población de padres, mientras que en la población de hijos 6 loci presentaron desviaciones significativas. Se observó una ligera pérdida de variabilidad genética principalmente en la reducción de polimorfismo (Tabla V).

Tabla V. Variabilidad genética de una generación a otra (G_5 - G_6). Donde: NA, número de alelos por locus; %P, Porcentaje de polimorfismo (proporción de loci polimórficos de los SNPs utilizados); H_o , Heterocigosidad observada; H_e , Heterocigosidad esperada; PIC, índice de contenido polimórfico (por sus siglas en inglés). Los valores mostrados son el promedio obtenido de los 76 loci.

Generación	NA	%P	H_o	H_e	PIC
G₅	1.97	97%	0.342	0.339	0.270
G₆	1.96	96%	0.329	0.336	0.267
% de pérdida	0.5%	1%	3.8%	0.9%	1.1%

7.2. Asignaciones de familias

Los resultados obtenidos en el análisis de parentesco mostraron un porcentaje de asignación satisfactorio del 96% (Tabla VI); mientras que el 4% restante no pudo ser debidamente asignado. Se piensa que los individuos que no pudieron ser identificados no formaban parte de la progenie original de nuestro estudio. Los valores de LOD y probabilidad obtenidos en las asignaciones se muestran en anexos (Tabla X, anexos).

Tabla VI. Número de individuos por familia asignados por el análisis de parentesco de los dos días de desove.

Familia Día 4	No. de individuos por familia	Familia Día 4	No. de individuos por familia	Familia Día 5	No. de individuos por familia	Familia Día 5	No. de individuos por familia
D4-F02	9	D4-F32	14	D5-F01	5	D5-F29	4
D4-F04	9	D4-F33	4	D5-F02	2	D5-F30	11
D4-F05	11	D4-F34	4	D5-F03	4	D5-F31	8
D4-F08	6	D4-F35	23	D5-F04	2	D5-F32	6
D4-F10	8	D4-F36	2	D5-F05	4	D5-F33	9
D4-F11	1	D4-F38	9	D5-F07	5	D5-F34	6
D4-F12	8	D4-F40	1	D5-F08	1	D5-F35	5
D4-F13	18	D4-F41	2	D5-F10	6	D5-F36	3
D4-F16	16	D4-F42	10	D5-F11	1	D5-F37	5
D4-F17	3	D4-F43	10	D5-F12	1	D5-F38	11
D4-F18	2	D4-F44	5	D5-F13	2	D5-F41	8
D4-F20	13	D4-F45	3	D5-F14	5	D5-F42	30
D4-F21	14	D4-F46	2	D5-F15	9	D5-F43	9
D4-F23	8	D4-F47	3	D5-F16	4	D5-F44	3
D4-F25	7	D4-F48	2	D5-F18	14	D5-F45	12
D4-F27	4	D4-F49	22	D5-F19	35	D5-F46	23
D4-F28	8	D4-F50	3	D5-F20	19	D5-F48	2
D4-F29	24	D4-F51	20	D5-F21	12	D5-F49	13
D4-F30	3	D4-F52	19	D5-F26	5	D5-F50	7
D4-F31	3	D4-F53	16	D5-F28	19		

7.3. Perfiles FAME

Tabla VII. Porcentaje (%) de ácidos grasos por categorías de saturación en hemolinfa de camarón blanco.

SAFA	%	MUFA	%	PUFA	%	HUFA	%
14:0*	0.52±0.11	14:1n-8	0.06±0.02	18:2n-6	9.38±0.89	20:4n-6	2.89±0.46
15:0*	0.24±0.03	15:1n-8	0.60±0.10	18:3n-6	0.57±0.06	20:5n-3*	9.07±1.10
16:0*	19.79±2.06	16:1n-9	0.71±0.20	18:3n-3	0.65±0.25	21:4n-6	0.73±0.32
17:0*	1.18±0.12	16:1n-5	0.19±0.06	18:4n-3	0.14±0.03	22:4n-6	0.26±0.09
18:0	16.85±1.51	16:1n-7	1.01±0.09	20:2n-6*	1.44±0.13	22:5n-6	0.17±0.07
20:0	0.55±0.06	17:1n-8	0.25±0.12	20:3n-6	0.34±0.05	22:5n-3	1.80±0.24
21:0	0.17±0.03	18:1n-9	10.86±0.76	20:3n-3	0.22±0.07	22:6n-3*	11.12±1.41
22:0	0.41±0.07	18:1n-7*	3.28±0.35				
24:0	0.37±0.23	20:1n-7	0.26±0.05				
		22:1n-11	0.74±0.52				
		20:1n-11	0.45±0.13				
		22:1n-9	0.30±0.41				
		24:1n-9	1.09±0.38				
Total	40.06±3.65	Total	21.19±1.62	Total*	38.74±3.2	Total*	26.17±2.59
n-3*	22.99 ± 2.64						
n-6	15.90 ± 0.93						
n-3/n-6*	1.44 ± 0.18						

* representa los valores que tuvieron significancia ($P < 0.05$) en el análisis ANOVA de una vía.

De manera conjunta (promedio) se observó que la hemolinfa está constituida por 40.06% ± 3.65% ácidos grasos saturados, 21.19% ± 1.63% ácidos grasos monoinsaturados y 38.74% ± 3.2% ácidos grasos poliinsaturados. Los ácidos grasos con mayor presencia dentro de la hemolinfa fueron: 16:0 (ácido palmítico),

18:0 (ácido esteárico), 22:6n-3 (ácido docosahexaenoico), 18:1n-9 (ácido oleico), 18:2n-6 (ácido linoleico), 20:5n-3 (ácido eicosapentaenoico); con valores de 19.79% \pm 2.03%, 16.85% \pm 1.49%, 11.12% \pm 1.39%, 10.86% \pm 0.75%, 9.38% \pm 0.89% y 9.07% \pm 1.10%, respectivamente (Tabla VII). La proporción de n-3/n-6 fue de 1.44 \pm 0.181 (22.991 \pm 2.644 y 15.9 \pm 0.928 respectivamente); mientras que la proporción DHA/EPA encontrada en hemolinfa fue de 1.29 \pm 0.09. No se encontraron diferencias significativas entre hembras y machos (Tabla XI, anexos).

7.4. Parámetros genéticos cuantitativos

Al evaluar los resultados obtenidos con las tres aproximaciones utilizadas para la obtención de parámetros genéticos se optó por utilizar el modelo de 38 familias (basado en la presencia de 7 o más individuos por familia), ya que, en comparación con las otras dos aproximaciones, demostró de tener en conjunto un coeficiente de variación más bajo (error estándar/heredabilidad) (Tabla VIII). Los niveles de heredabilidad obtenidos para contenido de ácidos grasos en hemolinfa en conjunto resultaron ser muy bajos (Tabla IX); no obstante, en el análisis de ANOVA se encontraron diferencias significativas por familias ($p < 0.05$) en ácido mirístico (14:0), ácido pentadecanoico (15:0), ácido palmítico (16:0), ácido margárico (17:0), ácido vaccénico (18:1n-7), 20:2n-6, ácido eicosapentaenoico (20:5n-3), ácido docosapentaenoico (22:5n-3), ácido docohexaenoico (22:6n-3), PUFA, HUFA, n-3, índice de saturación, el cual se define como la sumatoria de UFA multiplicados por su respectivo número de insaturaciones (mono, di, tri, tetra, penta y hexa-insaturados), y n-3/ n-6 (Tabla VII).

Se observaron correlaciones genéticas significativas entre distintos ácidos grasos de interés (Figs. 10 y 11). DHA y EPA, al igual que DHA y DPA (ácido docosapentaenoico) mostraron una correlación positiva muy fuerte, con valores de 0.84 y 0.89 (respectivamente). ARA no mostró correlación genética significativa con ningún ácido graso, y su nivel de heredabilidad fue de 0.003.

Tabla VIII. Comparación de las tres aproximaciones con base a distintas cantidades de individuos por familia utilizadas para la obtención de heredabilidad.

FAME	38Familias ($\geq 7n$)		50Familias ($\geq 5n$)		61Familias ($\geq 3n$)	
	h^2	ES	h^2	ES	h^2	ES
14:00	0.169	0.055	0.137	0.062	0.138	0.061
15:00	0.104	0.06	0.066	0.051	0.071	0.052
16:00	0.079	0.051	0.062	0.055	0.031	0.046
17:00	0.073	0.054	0.075	0.053	0.050	0.049
18:00	0.014	0.043	0.023	0.044	<0.001	0.040
20:00	0.065	0.071	0.033	0.046	0.015	0.044
21:00	0.053	0.06	0.027	0.045	0.053	0.050
22:00	0.057	0.051	<0.001	0.04	<0.001	0.036
15:1n-8	0.004	0.041	0.012	0.042	0.028	0.046
16 1n9	0.096	0.051	0.043	0.048	0.035	0.050
16 1n7	0.033	0.046	0.005	0.041	0.003	0.042
16:1n-5	0.039	0.048	0.027	0.045	0.005	0.042
17:1n-8	0.002	0.04	<0.001	0.037	<0.001	0.038
18: 1n9	0.008	0.04	<0.001	0.041	<0.001	0.038
18: 1n7	0.073	0.044	0.041	0.047	0.010	0.043
20: 1n11	0.067	0.035	0.036	0.046	0.031	0.05
22: 1n9	0.017	0.027	<0.001	0.039	<0.001	0.036
24:1n-9	0.044	0.049	0.023	0.044	0.007	0.042
18:2n-6	0.031	0.042	0.007	0.046	0.095	0.055
18: 3n6	<0.001	0.039	<0.001	0.04	<0.001	0.036
18:3n-3	0.044	0.049	0.025	0.045	<0.001	0.041
20:2n-6	0.129	0.064	0.109	0.058	0.121	0.050
20:3n-6	0.074	0.054	0.053	0.049	0.040	0.048
20: 3n3	0.022	0.044	<0.001	0.046	0.019	0.045
20: 4n6	0.003	0.019	0.004	0.041	<0.001	0.039
20: 5n3	0.105	0.05	0.071	0.052	0.083	0.052
22:4n-6	0.036	0.047	0.004	0.041	0.051	0.049
22:5n-3	0.074	0.052	0.08	0.053	0.080	0.057
22: 6n3	0.123	0.051	0.114	0.059	0.089	0.055
SAFA	0.064	0.052	0.056	0.05	0.025	0.046
MUFA	0.045	0.048	0.02	0.044	0.007	0.043

Tabla VIII (continuación). Comparación de las tres aproximaciones con base a distintas cantidades de individuos por familia utilizadas para la obtención de heredabilidad.

POLY	0.092	0.051	0.077	0.053	0.048	0.049
HUFA	0.115	0.047	0.098	0.056	0.069	0.051
3n	0.12	0.063	0.1	0.056	0.074	0.052
3n/6n	0.087	0.055	0.065	0.051	0.051	0.050
SI	0.101	0.051	0.09	0.055	0.060	0.059
ES/h²	109.142		308.161		368.787	

Tabla IX. Niveles de heredabilidad obtenidos para ácidos grasos dentro de hemolinfa. Dónde: SAFA, MUFA, PUFA Y HUFA representan el total de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y altamente insaturados (respectivamente), SI representa el índice de saturación. Se muestran las correlaciones genéticas obtenidas con el peso total del organismo (r_{Gp}).

FAME	h²	SE	r_{Gp}	FAME	h²	SE	r_{Gp}
14:00	0.169	0.055	-0.027	24:1n-9	0.044	0.049	0.013
15:00	0.104	0.06	-0.103	MUFA	0.045	0.048	0.077
16:00	0.079	0.051	-0.13	18:2n-6	0.031	0.042	0.033
17:00	0.073	0.054	-0.144	18:3n6	<0.001	0.039	-0.096
18:00	0.014	0.043	-0.076	18:3n-3	0.044	0.049	-0.007
20:00	0.065	0.071	0.003	20:2n-6	0.129	0.064	0.104
21:00	0.053	0.06	0.053	20:3n-6	0.074	0.054	0.053
22:00	0.057	0.051	-0.089	20:3n3	0.022	0.044	-0.048
SAFA	0.064	0.052	-0.051	20:4n6	0.003	0.019	0.038
15:1n-8	0.004	0.041	-0.082	20:5n3	0.105	0.05	0.092
16:1n9	0.096	0.051	0.016	22:4n-6	0.036	0.047	0.081
16:1n7	0.033	0.046	-0.041	22:5n-3	0.074	0.052	0.1
16:1n-5	0.039	0.048	0.017	22:6n3	0.123	0.051	-0.07
17:1n-8	0.002	0.04	0.114	PUFA	0.092	0.051	0.084
18:1n9	0.008	0.04	0.097	HUFA	0.115	0.047	0.085
18:1n7	0.073	0.044	-0.033	n-3	0.120	0.063	0.055
20:1n11	0.067	0.035	-0.042	n-3/n-6	0.087	0.055	0.094
22:1n9	0.017	0.027	-0.074	SI	0.101	0.051	-0.112

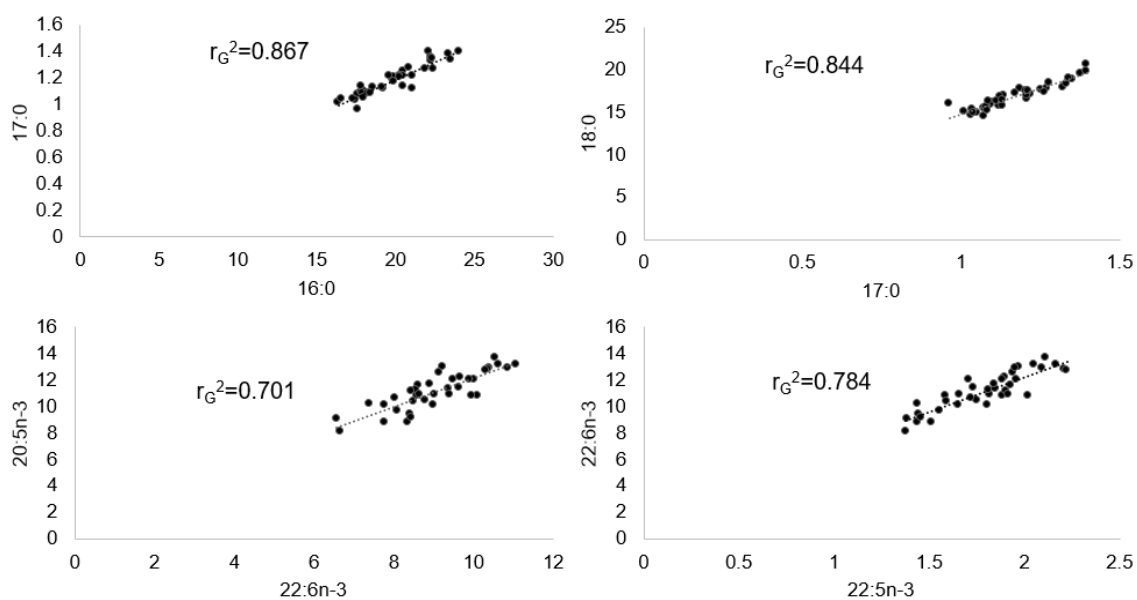


Figura 11. Índice de determinación para ácidos grasos en hemolinfa que mostraron mayor correlación genética.

7.5. Respuesta esperada a la selección

Con una intensidad de selección de 10% se observa una respuesta a selección para EPA y DHA y 20:2n-6 de 0.53 y 0.80, 0.08 y una ganancia por generación de 6.0%, 7.2% y 5.3% respectivamente.

8. DISCUSIÓN

El trabajo realizado demostró por primera vez la influencia genética en la expresión de contenido de ácidos grasos en *L. vannamei* (hemolinfa). Estudios anteriores han demostrado una presunta influencia directa de la dieta en la composición de lípidos de este organismo: Zhou *et al.* (2007) demostraron que la composición de ácidos grasos tanto de músculo como hepatopáncreas está altamente correlacionada con la composición lipídica de la dieta, siendo HUFA los ácidos grasos más afectados. Al comparar una dieta a base de aceite de pescado y manteca de cerdo, encontraron una diferencia de HUFA de 28.4% (composición corporal de 41.8% y 13.4%, respectivamente). Al comparar una dieta a base de aceite de pescado con una dieta a base de aceite de cacahuete, encontraron una diferencia de 15.9% (composición corporal de 23.1% y 39%, respectivamente) en la composición de ácidos grasos saturados.

Por otra parte en algunos artrópodos se ha encontrado que la composición nutricional de la dieta (ácidos grasos en alga) no está reflejada en la composición del organismo. Weers *et al.* (1997) de manera experimental demostraron en *Daphnia galeata* que la dieta no necesariamente determina la composición de ácidos grasos del organismo; al observar que la abundancia relativa de algunos ácidos grasos, específicamente 16:4n-3 y DHA era significativamente menor en *Daphnia* que en la dieta. Adicionalmente concluyeron que *D. galeata* tiene la capacidad para síntesis *de novo* de EPA, posiblemente derivado de 18:3n-3.

Sriket *et al.* (2007) mediante análisis bioquímicos comparativos entre *L. vannamei* y *P. monodon* encontraron diferencias significativas entre ambas especies; siendo la más sobresaliente la proporción DHA/EPA en *P. monodon* que fue mayor que en *L. vannamei*, con valores de 2.15 y 1.05 respectivamente, evidenciando una mayor abundancia de DHA en *P. monodon*. En nuestro estudio encontramos una proporción DHA/EPA de 1.29 y una correlación positiva entre estos dos ácidos grasos de 0.84, esto pudiera sugerir que la incorporación y síntesis *de novo* para DHA y EPA se lleva a cabo de manera consistente, manteniendo un balance entre

ambos ácidos grasos, o alternativamente, que el alimento provee una relación similar de estos ácidos grasos, o que están ambos incluidos en un mismo fosfolípido de la membrana de los hemocitos. Anteriormente se ha sugerido que algunos ácidos grasos de importancia nutricional, tales como DHA, EPA, y ARA, pertenecen a la categoría de EFA para *L. vannamei*; ya que no son sintetizados o su síntesis *de novo* es muy limitada dentro de este organismo y compromete otros procesos metabólicos relacionados con el crecimiento (González-Félix *et al.*, 2009). Los resultados arrojados muestran un nivel de heredabilidad, aunque bajo, significativo para DHA y EPA. Esto sugiere la existencia de una ruta metabólica especializada para la incorporación y/o la síntesis *de novo* de n-3 en estos organismos. Recientemente Chen y colaboradores (2014) demostraron mediante pruebas de estrés salínico que aparentemente *L. vannamei* puede sintetizar DHA y EPA a partir de ácido linoleico, sin embargo los factores que influyen en que esta vía metabólica sea expresada son aún desconocidos.

Por otro lado, el DPA (ácido docosapentaenoico, referido comúnmente como 22:5n-3, es un producto de la elongación de EPA y se ha demostrado que en mamíferos tiene retroconversión a 20:5n-3 en diversos tejidos, mientras que la conversión de 22:5n-3 a 22:6n-3 solo ha sido demostrada en hígado mediante experimentación *in vitro* (Kaur *et al.*, 2011). Una retroconversión similar se ha documentado para la *Artemia*, la cual retroconvierte u oxida el DHA proveniente del alimento, a EPA (Barclay y Zeller, 2007). La correlación genética ha sido señalada como una evidencia muy fuerte de que un mismo grupo de genes, que bien pudieran ser parte de un complejo metabólico, influyen directamente la expresión de ambos fenotipos (Johnson *et al.*, 2011). Dentro de las correlaciones genéticas encontradas, como se mencionó anteriormente, se observó una correlación positiva muy estrecha entre EPA y DHA (0.84), al igual que DPA y DHA (0.89); lo cual sugiere que existe un cierto nivel de biosíntesis, y que la biosíntesis de alguno de estos ácidos grasos en el organismo compromete la del otro y viceversa.

Un aspecto que es importante mencionar es que en el presente estudio se utilizó hemolinfa como tejido diana por efectos de análisis, en el supuesto donde existiera potencial para mejoramiento genético, sin tener que sacrificar al individuo. Otra razón fue que en los hemocitos (presentes en hemolinfa) se lleva a cabo la síntesis y secreción de prostaglandinas (eicosanoides), proceso que depende de la cantidad de ARA que se encuentre presente en los fosfolípidos de membrana y que pueda ser liberada en respuesta a un estresor (Aguilar *et al.*, 2012; Heckmann *et al.*, 2008); sin embargo la heredabilidad observada en ARA fue prácticamente nula (0.003), por lo que se asume que la presencia de este ácido graso dentro del organismo será atribuible a la dieta como se ha sugerido en estudios anteriores, y que sus niveles están estrechamente regulados dada su importancia fisiológica. Aun así en este estudio se encontró que 20:2n-6 posee un nivel de heredabilidad con potencial para selección; cuya importancia se atribuye al ser una molécula precursora de 20:3n-6, la cual a su vez es precursora de ARA (Venegas-Calderón *et al.*, 2010). Si bien el incremento de ARA en la dieta no ha demostrado ser un factor determinante en respuesta inmune de *L. vannamei* (Aguilar *et al.*, 2012); el incrementar selectivamente a un precursor, pudiera solventar la necesidad de producir 20:4n-6 (hemocitos) cuando la cantidad de este es reducida por síntesis de eicosanoides ante una respuesta de estrés o patogénica. Estudios posteriores sobre parámetros genéticos de contenido de ácidos grasos en otros tejidos, particularmente músculo y hepatopáncreas, serán requeridos para complementar este trabajo.

Pese al potencial para el mejoramiento genético demostrado en este estudio de algunos ácidos grasos, el beneficio de incrementar selectivamente el nivel de ácidos grasos dentro del organismo es aun controversial. Massucci-Toledo *et al.* (2014) demostraron comparativamente que dietas con alto contenido en lípidos resultan perjudiciales para la salud de *L. vannamei*; siendo las dietas con menor contenido en lípidos las que mejor nivel de supervivencia proporcionaron en sus tratamientos ($p < 0.05$). Por otra parte, dietas con mayor porcentaje selectivo de algunos ácidos grasos han demostrado ser beneficiosas en el rendimiento de estos

organismos. Huang *et al.* (2008) observaron que dietas con alto porcentaje en HUFA mejoran significativamente el rendimiento reproductivo en *P. monodon*. Mercier *et al.* (2009) demostraron que la capacidad de responder ante factores de estrés en *L. vannamei* se ve influenciada substancialmente con dietas con alto contenido en HUFA, encontrando niveles bajos de lactato en la hemolinfa en los organismos bajo el tratamiento de dietas con alto contenido en HUFA.

Una de las razones por la que se evidencia que la heredabilidad en contenido de ácidos grasos resultó muy baja es debido a que en los crustáceos las enzimas encargadas de elongar y desaturar los ácidos grasos no se encuentran expresadas (Massucci-Toledo *et al.*, 2014), o no se expresan lo suficiente para proveer al organismo de las necesidades básicas de estos ácidos grasos (Sánchez-Paz *et al.*, 2007; González-Félix *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2014), específicamente, del DHA. Esto se pudiera explicar debido a que de manera evolutiva, los crustáceos al igual que otros invertebrados, no requieren sintetizar DHA dado que tienen al alcance en su medio silvestre una gran variedad de lípidos provenientes principalmente de algas las cuales son consideradas las fuentes primarias de ácidos grasos esenciales como ALA, ARA, DHA y EPA (Arts *et al.*, 2001). Por ejemplo, el camarón blanco siendo un organismo marino tiene porcentajes relativamente altos de n-3, en comparación con camarones de agua dulce; diferencia que es proporcionalmente similar al comparar peces marinos con peces de agua dulce (Li *et al.*, 2011) y que está determinado principalmente por la dieta en ambos ambientes. Los bajos niveles de HUFA que presentan peces y crustáceos dulceacuícolas, están modulados por su capacidad de síntesis, dado que el ambiente dulceacuícola es pobre en plancton rico en HUFA. En el presente estudio se encontró un nivel de heredabilidad, aunque bajo, significativo para el total de n-3 (0.12) y proporción de n-3/n-6 (0.087), lo cual sugiere que *L. vannamei* tiene un componente genético que lo hace selectivo para la incorporación de ácidos grasos omega-3 en hemolinfa (hemocitos). Los crustáceos y otros organismos, se han adaptado para poseer plasticidad en las membranas celulares, las cuales se modifican conforme a la temperatura,

incrementando la cantidad de lípidos dentro de la bicapa fosfolipídica y modificando la proporción de UFA y SAFA al incrementar UFA dentro de la membrana cuando la temperatura desciende (Pruitt, 1990). Esta plasticidad puede ser seleccionada y podría ser determinante en camarones expuestos a patógenos. Recientemente Martínez Rubio y colaboradores (2013) caracterizaron la expresión de genes relacionados con el metabolismo de lípidos y biosíntesis de HUFA en salmón del atlántico; observando que en algunos genes, principalmente $\Delta 6$ y $\Delta 5$, la expresión es afectada o mediada por ácidos grasos contenidos en la dieta, mientras que la expresión de elongasas, específicamente Elov12 y Elov15, es más consistente. En crustáceos, particularmente *L. vannamei*, muy poco se sabe acerca de la expresión genética involucrada en el metabolismo de lípidos. Recientemente se caracterizó la expresión (cDNA) y actividad de la lipasa en camarón blanco, observando similitudes con las reportadas en otros crustáceos (Rivera-Pérez *et al.*, 2011). Estudios posteriores sobre expresión genética de enzimas relacionadas con la síntesis de ácidos grasos (desaturasas, elongasas, entre otras) serán requeridos para poder esclarecer el papel del componente genético en el metabolismo de lípidos dentro de este organismo.

En algunos peces se ha observado que ciertos ácidos grasos, particularmente PUFA, presentan correlaciones genéticas negativas con el peso corporal y rasgos corporales del organismo. Nguyen *et al.* (2010) encontraron que en tilapia (*O. niloticus*) algunos ácidos grasos pertenecientes a la categoría PUFA estaban correlacionados negativamente con algunos rasgos corporales relacionados con el crecimiento (-0.55 a -0.78). De igual manera, en salmón del atlántico (*S. salar*), Leaver *et al.* (2011) encontraron que ácidos grasos n-3 de cadena larga poseen una correlación genética negativa altamente significativa con el peso final del organismo (-0.77). Los ácidos grasos insaturados están más oxidados y proveen de menos energía que los ácidos grasos saturados, por lo que no se espera tener mayor crecimiento con dietas altas en PUFA. En este estudio, las correlaciones genéticas de ácidos grasos con peso total de *L. vannamei* que fueron obtenidas, no fueron

significativas. Por lo tanto se asume que el contenido de ácidos grasos en hemolinfa no está asociado de forma directa al crecimiento y es un rasgo que puede ser utilizado a la par en programas de mejoramiento genético en organismos que han sido seleccionados para crecimiento.

Por otro lado, un determinante que pudiera ser el responsable de la baja heredabilidad encontrada para contenidos de ácidos grasos en camarón blanco es el nivel de variabilidad genética presente en la población utilizada (G_6). Vela-Avitúa *et al.* (2013) encontraron diferencias significativas en lo que respecta a variabilidad genética comparando poblaciones en cautiverio con silvestres de *L. vannamei*. Usando 26 *loci* de microsatélites observaron un declive en la heterocigosidad esperada (0.2) y diversidad alélica (48 a 91%). En este trabajo se encontró una ligera pérdida de polimorfismo y H_e entre la generación cinco y la generación seis. Aunque la pérdida es razonable y no necesariamente afecta a las poblaciones descendientes, esta tendencia observada pudiera ser perjudicial a futuro; dejando poca selección para rasgos distintos a crecimiento, y de manera especulativa, induciendo mayor vulnerabilidad en la mortandad y afección por enfermedades. La heredabilidad es un parámetro genético intrínsecamente ligado a la variabilidad genética de una determinada población, ya que efectos de depresión por endogamia y cuellos de botella pueden ocasionar que V_G se reduzca drásticamente, sobre todo cuando las poblaciones son relativamente pequeñas. Por otro lado, el mejoramiento genético tiene como medio la reducción de variabilidad genética para conseguir heterosis en determinados rasgos (Charlesworth y Wills, 2009) por lo que una reducción de variabilidad genética no necesariamente perjudica a los organismos o genera genotipos deletéreos dentro de un pool genético.

La practicidad de realizar mejoramiento genético para contenido de lípidos en este organismo es aun cuestionable, ya que los procedimientos de extracción y análisis de lípidos implican someter a los organismos a estrés mediante la extracción de hemolinfa o la remoción de un pleópodo. En trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) Kause *et al.* (2008) demostraron de manera cualitativa que el análisis de imágenes con base a 256 niveles de tonalidad grisácea resulta confiable para la identificación y mejoramiento genético de contenido lipídico en carne. Dada la naturaleza translúcida del exoesqueleto de *L. vannamei*, y si existe una correlación entre contenido de cierto tipo de ácidos grasos y el color en vísceras y/o músculo, el análisis de imágenes pudiera ser una herramienta útil para llevar a cabo programas de mejoramiento genético en rasgos lipídicos en esta especie. En términos de costo/calidad el camarón es un producto caro con bajos niveles de EPA y DHA comparativamente a peces o moluscos (Watters *et al.*, 2012), pero tiene la ventaja de ser un producto aceptado y que contiene menos metales pesados que otros productos marinos. Se ha demostrado que con una dieta rica en HUFA, el camarón puede incrementar los niveles de DHA en músculo (Cuzon *et al.*, 2004), lo cual conlleva ventajas nutricionales para el humano, con la desventaja de que los alimentos enriquecidos con HUFA son caros (Adarme-Vega *et al.*, 2014). Una de las ventajas que conlleva el mejoramiento genético del camarón para ácidos grasos n-3 es hacerlo un producto de mayor relevancia nutricional, sin afectar los costos de producción y el precio del producto. El presente trabajo deja en claro la posibilidad de realizar mejoramiento genético para el incremento en proporción de ciertos ácidos grasos de interés, sin tener que modificar la dieta, que actualmente puede ascender hasta al 50% del costo total de producción de los camarones.

9. CONCLUSIONES

- En el presente trabajo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido por familias de los ácidos grasos 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:1n-7, 20:5n-3, 22:6n-3, n-3, la proporción n-3/n-6 y el índice de saturación.
- La heredabilidad de ácidos grasos dentro de hemolinfa en general resultó baja; sin embargo, algunos ácidos grasos de interés como 20:2n-6, 20:5n-3 y 22:6n-3 ($h^2 = 0.129$, $h^2 = 0.105$ y $h^2 = 0.123$, respectivamente), así como contenido de HUFA ($h^2 = 0.115$), n-3 ($h^2 = 0.120$) e índice de saturación ($h^2 = 0.101$), mostraron valores con potencial para mejoramiento genético.
- La respuesta esperada a la selección del contenido de EPA y DHA en hemolinfa en una generación fue de 6% y 7.2%, respectivamente.
- El 22:6n-3 mostró una correlación genética positiva significativa con 22:5n-3 y 20:5n-3, con valores de 0.89 y 0.84, respectivamente, sugiriendo una misma vía metabólica para la incorporación y posible síntesis *de novo* de estos ácidos grasos.
- El 20:4n-6 mostró un nivel de heredabilidad muy bajo ($h^2=0.003$) por lo que no es susceptible para la selección, por lo tanto su incremento de concentración será dependiente de la dieta.
- No se observaron correlaciones genéticas significativas de peso con contenido de ácidos grasos en hemolinfa, por lo que ésta característica no será afectada por el mejoramiento genético para crecimiento.

10. LITERATURA CITADA

Adarme-Vega, T. C., S. R. Thomas-Hall, P. M. Schenk. 2014. Towards sustainable sources for omega-3 fatty acids production. *Curr Opin Biotechnol.* 26: 14-18.

Aguilar V., I. S. Racotta, E. Goytortúa, M. Wille, P. Sorgeloos, R. Civera, E Palacios. 2012. The influence of dietary arachidonic acid on the immune response and performance of Pacific Whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at high stocking density. *Aquacult Nutr.* 18:258-257.

Andriantahina, F., X. Liu, H. Huang, J. Xiang. 2013. Selection for growth performance of tank-reared pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Chinese J. Oceanol Limnol.* 31 (3): 534-541.

Andriantahina, F., X. Liu, T. Feng, J. Xiang. 2013. Current Status of genetics and genomics of Reared Penaeid Shrimp: Information Relevant to Access and Benefit Sharing. *Mar. Biotechnol.* 15: 399-412.

Arjona, M. O., E. Palacios. 2009. Análisis de ácidos grasos metil-esterificados (derivatización directa) en alimento peletizado enriquecido con lípidos. Manual de Laboratorio. CIBNOR. La Paz, México. 18p.

Arts, M. T., R. G. Ackman, and B. J. Holub. 2001. "Essential fatty acids" in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58: 122-137.

Balasubramanian, G., C. Brothersen, D. J. McMahon. 2014. Fortification of foods with omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Crc Cr Rev Food Sci.* 54: 98-114.

Barclay, W., S. Zeller. 2007. Nutritional Enhancement of n-3 and n-6 Fatty Acids in Rotifers and *Artemia* Nauplii by Feeding Spray-dried *Schizochytrium* sp. *J World Aquacult Soc.* 27:314-322.

Benzie, J A. H., M. Kenway, L. Trott. 1997. Estimates for the heritability of size in juveniles *Penaeus monodon* prawns from half-sib matings. *Aquaculture.* 152:49-53.

Benzie, J. A. H. 2009. Use and exchange of genetic resources of penaeid shrimps for food and aquaculture. *Rev Aquaculture*. 1:232-250.

Bondad-Reantaso, M. G., R. P. Subasinghe, H. Josupeit, J. Cai, X. Zhou. 2012. The role of crustacean fisheries and aquaculture in global food security: Past, present and future. *J Invertebr. Pathol*. 110: 158-165.

Caballero-Zamora, A., E. G. Cienfuegos-Rivas, H. H. Montaldo, G. R. Campos-Montes, A. Martínez-Ortega, H. Castillo-Juárez. 2013. Genetic parameters for spawning and growth traits in the Pacific White shrimp (*Penaeus (Litopenaeus) vannamei*). *Aquacult Res*. 1-7.

Castillo-Juárez, H., J. C. Quintana Casares, G. Campos-Montes, C. Cabrera-Villela, A. Martínez-Ortega, H. Horacio-Montaldo. 2007. Heritability for body weight at harvest size in the Pacific White shrimp, *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*, from a multi-environment experiment using univariate and multivariate animal models. *Aquaculture*. 273: 42-49.

Charlesworth, D., J. H. Willis. 2009. The genetics of inbreeding. *Nature Rev Genet*. 10: 783-796.

Chen, K., E. Li, L. Gan, X. Wang, C. Xu, H. Lin, J. G. Qin, L. Chen. 2014. Growth and lipid metabolism of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at different salinities. *J Shellfish Res*. 33:825-832.

Cock, J., T. Gitterle, M. Salazar, M. Rye. 2009. Breeding for disease resistance of Penaeid shrimps. *Aquaculture*. 286:1-11.

CONAPESCA 2013. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. 2013. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México.

Cuzon, G., A. Lawrence, G. Gaxiola, C. Rosas, J. Guillaume. 2004. Nutrition of *L. vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*. 235: 513-551.

- Danchin, É., A Charmantier, F. Champagne, A. Mesoudi, B. Pujol, S. Blanchet. 2011. Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nature Rev. Genet.* 12:475-486.
- De Pablo, M., G. Álvarez-De Cienfuegos. 2000. Modulatory effects of dietary lipids system functions. *Immunol Cell Biol.* 78: 31-39.
- De Schryver, P., T. Defoirdt, P. Sorgeloos. 2014. Early Mortality Syndrome Outbreaks: A Microbial Management Issue in Shrimp Farming? *PLoS Pathog.* 10(4): e1003919.doi:10.1371/journal.ppat.1003919
- De Smet, S., K. Raes, D. Demeyer. 2004. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. *Anim Res.* 53: 81-98.
- Delarue, J., N. Guriec. 2014. Opportunities to enhance alternative sources of long-chain n-3 fatty acids within the diet. *Proc Nutr Soc.* 73:376-384.
- Du, Z. Q., D. C. Ciobanu, S. K. Onteru, D. Gorbach, A. J. Mileham, G. Jaramillo, M. F. Rothschild. 2009. A gene-based SNP linkage map for pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Anim Genet.* 41:286-294.
- Falconer D. S. 1989. Introduction to Quantitative Genetics. Longman Scientific & Technical. 3th Edition. New York, USA. 438pp.
- FAO. 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. Rome. 223 pp.
- Fjalestad, K. T., T. Gjedrem, W. H. Carr, J. N. Sweeney. 1997. Final report: The shrimp breeding program selective breeding of *Penaeus vannamei*. AKVAFORSK, Report no. 17/97, 85.
- Flegel, T. W. 2012. Historic emergence, impact and current status for shrimp pathogens in Asia. *J invertebr Pathol.* 110: 166-173.

Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 226: 497-509.

Gebauer, S. K., T. L. Psota, W. S. Harris, P. M Kris-Etherton. 2006. n-3 fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *Am J Clin Nutr.* 83: 1526-1535.

Gitterle, T., J. Ødegard, B. Gjerde, M. Rye, R. Salte. 2006. Genetic parameters and accuracy of selection for resistance to White Spot Syndrome Virus (WSSV) in *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* using different statistical models. *Aquaculture.* 251: 210-218.

Gjedrem, T. 2012. Genetic improvement for the development of efficient global aquaculture: A personal opinion review. *Aquaculture.* 344-349: 12-22

Glencross, B. D., D. M. Smith. 2001. A study of the arachidonic acid requirements of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Aquacult Nutr.* 7:59-69.

González-Félix, M. L., D. M. Gatlin III, A. L. Lawrence, M. Pérez-Velázquez. 2003. Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: II. Effect of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids on juvenile shrimp growth, survival, and fatty acid composition. *Aquacult Nutr.* 9:115-122.

González-Félix, M. L., M. Pérez-Velázquez, J. M. Quintero-Álvarez. 2009. Effect of various dietary levels of docosahexaenoic and arachidonic acids and different n-3/n-6 ratios on biological performance of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, raised in low salinity. *J World Aquacult Soc.* 40: 194-206.

Heckmann, L. H., R. M. Sibly, M J. Timmermans, A. Callaghan. 2008. Outlining eicosanoid biosynthesis in the crustacean *Daphnia*. *Front Zool.* 5:11

Huang, J. H., S. G. Jiang, H. Z. Lin, F. L. Zhou, L. Ye. 2008. Effects of dietary highly unsaturated fatty acids and astaxanthin on the fecundity and lipid content of pond-reared *Penaeus monodon* (Fabricius) broodstock. *Aquacult Res.* 39:240-251.

Ibarra, A. I., C. I. Pérez-Rostro, J. L. Ramírez, E. Ortega-Estrada. 2007. Genetics of the resistance to hypoxia in postlarvae and juveniles of the Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* (Boone 1931). *Aquacult Res.* 38: 838-846.

Ibarra, A. M., F. G. Arcos, T. R. Fámula. E. Palacios, I. S. Racotta. 2005. Heritability of the categorical trait number of spawns in Pacific White female shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *Aquaculture.* 250:95-101.

Ibarra, A. M., I. S. Racotta, F. G. Arcos, E. Palacios. 2007. Progress on the genetics of reproductive performance in penaeid shrimp. *Aquaculture.* 268. 23-43.

Ibarra A. M., T. R. Fámula. 2008. Genotype environment interaction for adult body weights of shrimps *Penaeus vannamei* when grown at low high densities. *Genet Sel Evol.* 40:541-551.

Ibarra, A. M., T. R. Fámula, F. G. Arcos. 2009. Heritability of vitellogenin in hemolymph, a pre-spawning selectable trait in *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*, has a large genetic correlation with ovary maturity measured as oocytes mean diameter. *Aquaculture.* 297:64-69.

Johnson, W., L. Penke, F. M. Spinath. 2011. Heritability in the Era of Molecular Genetics: Some thoughts for understanding genetic influences on behavioral traits. *Eur J. Pers.* 25: 254-266.

Jung-Park, W., K. S. D. Kothapalli, P. Lawrence, C. Tyburezy, J. T. Brenna. 2009. An alternate pathway to long-chain product Δ^8 - desaturates 20:2n-6 and 20:3n-3. *J Lipid Res.* 50:1195-1202.

Kaur, G., D. Camerón-Smith, M. Garg, A. J. Sinclair. 2011. Docosapentaenoic acid (22:5n-3): A review of tis biological effects. *Prog Lipid Res.* 50:28-34.

Kause, A., L. H. Stien, K. Rungruangsak-Torrissen, O. Ritola, K. Ruohonen, A. Kiessling. 2008. Image analysis as a tool to facilitate selective breeding of quality traits in rainbow trout. *Livest Sci.* 114:315-324.

Kause, A., C., D., Quinton, k. Ruohonen, J. Koskela. 2009. Genetic potential for the regulation of variability in body lipid and protein content of European whitefish (*Coregonus lavaretus*). *Br J Nutr.* 101:1444-1451.

Kidd, P. M. 2007. Omega-3 DHA and EPA for cognition, behavior, and mood: clinical findings and structural-functional synergies with cell membrane phospholipids. *Altern Med Rev.* 12: 207-227.

Kongkeo, H. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Penaeus monodon*. Cultured Aquatic Species Information Programme. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 29 July 2005. [Cited 08 February 2016]. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_monodon/en

Kuang-Chow, C. 2008. Fatty acids in foods and their implications. CRC Press. USA.1296pp.

Martínez-Rubio, L., S. Wadsworth, J. I. González-Vecino, J. Gordon-Bell, D. R. Tocher. 2013. Effect of dietary digestible energy content on expression of genes of lipid metabolism and LC-PUFA biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture.* 387:94-103.

Lavie, C. J., R. V. Milani, M. R. Mehra, H. O. Ventura. 2009. Omega-3 Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. *J Am Coll Cardiol.* 54: 585-594.

Leaver, M. J. J. B. Taggart, L. Villeneuve, J. E. Bron, D. R. Guy, S. C. Bishop, R. D. Houston, O. Matika & D. R. Tocher. 2011. Heritability and mechanisms of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid deposition in the flesh of Atlantic salmon. *Comp Biochem Phys, Part D.* 6:62-69.

Li, Guipu, a. J. Sinclair, D. Li. 2011. Comparison of lipid content and fatty acid composition in the edible meat of wild and cultured freshwater and marine fish and shrimps from China. *J Agric Food Chem.* 59: 1871-1881.

Lightner, D.V., R. M. Redman, C. R. Pantoja, K. F. J. Tang, B. L. Noble, P. Schofield, L. L. Mohny, L. M. Nunan, S. A. Navarro. 2012. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. *J Invertebr Pathol.* 110: 174-183.

Liu, Zhanjiang. 2007. *Aquaculture genome technologies.* Blackwell publishing. Iowa, USA. 551pp.

Marshall, T. C., J. Slate, L. E. B. Kruuk, J. M. Peberon. 1998. Statistical confidence for likelihood based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology.* 7: 639-655.

Massucci-Toledo, T., B. Corrêa-Silva, F. do Nascimento-Vieira, J. L. Pedreira-Mouriño. W. Quadros-Seiffert. 2014. Effects of different dietary lipid levels and fatty acids profile in the culture of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in biofloc technology: water quality, biofloc composition, growth and health. *Aquaculture Research.* 1-11.

Mercier, L., E. Palacios, A. I. Campa-Córdova, D. Tovar-Ramírez, R. Hernández-Herrera, I. S. Racotta. 2006. Metabolic and Immune response in Pacific Whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to a repeated handling stress. *Aquaculture.* 258:633-640.

Mercier, L., I. S. Racotta, G. Yepiz-Plascencia, A. Muhlia Almazán. R. Civera, M. F Quiñones- Arreola, M. Wille, P. Sorgeloos, E. Palacios. 2009. Effect of diets containing different levels of highly unsaturated fatty acids on physiological and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to handling stress. *Aquacult Res.* 40: 1849-1863.

- Morin, P. A., G. Luikart, R. K. Wayne, F. W. Allendorf, C. F. Aquadro, T. Axelsson, M. Beaumont, K. Chambers, G. Durstewitz, T. Mitchell-Olds, P. J. Palsbøll, H. Poinar, M. Przeworski, B. Taylor, J. Wakeley. 2004. SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends Ecol Evol.* 19: 208-216.
- Moss, S M., D. R. Moss, S. M. Arce, D. V. Lightner, J. M. Lotz. 2012. The role of selective breeding and biosecurity in the prevention of disease in penaeid shrimp. *Aquaculture. J Invertebr Pathol.* 110: 247-250.
- Moss, D. R., S. M. Moss, j. m. Lotz. 2013. Estimation of genetic parameters for survival to multiple isolates of Taura syndrome virus in selected population of Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *Aquaculture.* 416-417: 78-84.
- Ntawubizi, M., E. Colman, S. Janssens, K. Raes, N. Buys, S. De Smet. 2009. Genetic parameters for intramuscular fatty acid composition and metabolism in pigs. *J Anim Sci.* 88:1286-1294.
- Nguyen, N. H., R. W. Ponzoni, H. Y. Yee, K. R. Abu-Bakar, A. Hamzah, H. L. Khaw. 2010. Quantitative genetic basis of fatty acid composition in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) selected for high growth. *Aquaculture.* 309: 66-74.
- Nogi, T. T. Honda, F. Mukai, T. Okagaki, K. Oyama. 2011. Heritabilities and genetic correlations of fatty acid compositions in longissimus muscle lipid with carcass traits in Japanese Black cattle. *J Anim Sci.* 89: 615-621
- Palacios, E., I. S. Racotta, H. Heras, Y. Marty, J. Moal, J. F. Samain. 2002. Relation between lipid and fatty acid composition of eggs and larval survival in white pacific shrimp (*Penaeus vannamei*, Boone, 1931). *Aquacult Int.* 9:531-543.
- Perez-Enriquez, R., F. Hernández-Martínez, P. Cruz. 2009. Genetic diversity status of White shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* broodstock in Mexico. *Aquaculture.* 297:44-50.

Pérez-Rostro, C. I. J. L. Ramírez, A. M. Ibarra. 1999. Maternal effects on genetic parameters estimation for Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* Boone. 30: 681-693.

Pérez-Rostro, C. I., A. M. Ibarra. 2003. Quantitative genetic parameter estimates for size and growth rate traits in Pacific White shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone 1931) when reared indoors. *Aquacult Res.* 34: 543-553.

Pérez-Rostro, C. I. A. M. Ibarra. 2003. Heritabilities and genetic correlations of size traits at harvest size in sexually dimorphic Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) grown in two environments. *Aquacult Res.* 34:1-7.

Pruitt, N. L. 1990. Adaptations to temperature in the cellular membranes of Crustacea: membrane structure and metabolism. *J therm. Biol.* 15:1-8.

Briggs, M. Programa de información de especies acuáticas. *Penaeus vannamei*. Programa de información de especies acuáticas. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [en línea. Roma. Actualizado 7 April 2006. [Citado 16 Octubre, 2015]. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es

Rivera-Pérez, C., F. L. García-Carreño, R. Saborowski. 2011. Purification and Biochemical Characterization of Digestive Lipase in Whiteleg Shrimp. *Mar Biotechnol.* 13:284-295.

Roff D. A. 1997. *Evolutionary Quantitative Genetics*. CHAPMAN & HALL. New York, USA. 493pp.

Sánchez-Paz, A., F. García-Carreño, J. Hernández-López, A. Muhlia-Almazán, G. Yepiz-Plascencia. 2007. Effect short-term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *J Exp Mar Biol Ecol.* 30:184-193.

SanGiovanni, J. P. E. Y. Chew. 2005. The role of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Prog Retin Eye Res.* 24:87-138.

- Sesardic, N. 2005. Making sense of heritability. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 282pp.
- Sriket, P., S. Benjakul, W. Visessanguan, K. Kijiroongrojana. 2007. Comparative studies on chemical composition and thermal properties of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) meats. Food Chem. 103: 1199-1207.
- Suárez, J. A., T. Gitterle, M. R. Angarita, M Rye. 1999. Genetic parameters for harvest weight and pond survival in *Litopenaeus vannamei*. European Aquaculture Society, special publication. 27:232-233.
- Vance, D. E., J. E. Vance. 2008. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and membranes. Elsevier. Amsterdam, Netherlands. 624pp.
- Wang J. 2004. Sibship reconstruction from genetic data with typing errors. Genetics 166:1963-1979.
- Wang, F. I., J. C. Chen. 2006. The immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subs. *Damsela* under temperature stress. Aquaculture. 258: 34-41.
- Watters, C. A., C. M. Edmonds, L. S. Rosner, K. P. Sloss, P. Leung. 2012. A Cost analysis of EPA and DHA in fish, supplements and foods. J Nutr Food Sci. 2:8
- Weers, P. M. M., K. Siewertsen, R. D. Gulati. 1997. Is the fatty acid composition of *Daphnia galeata* determined by the fatty acid composition of the ingested diet?. Freshwater Biol. 38: 731-738.
- Wickins, J. F., D. O'C. Lee. 2008. Crustacean Farming: Ranching and Culture. John Wiley & Sons. Oxford, UK. 464pp.

Vandeputte, M, S. Mauger, M. Dupont-Nivet. 2006. An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage Assignment by exclusion. *Mol Ecol. Notes.* 6:265-267.

Vaseeharan, B., P. Rajakamaran, D. Jayaseelan, A. Y Vicent. 2013. Molecular markers and their application in genetic diversity of penaeid shrimp. *Aquacult Int.* 21: 219-241.

Venegas-Calderón, M., O. Sayanova, J. A. Napier. 2010. An alternative to fish oils: metabolic engineering of oil-seed crops to produce omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids. *Prog Lipid Res.* 49: 108-119.

Vela-Avitúa, S., H. H. Montaldo, L. Márquez-Valdelamar, G. R. Campos-Montes, H. Castillo-Juárez. 2013. Decline of genetic variability in a captive population of Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* using microsatellite and pedigree information. *Electron J Biotechnol.* 16: 10. <http://dx.doi.org/10.2225/vol16-issue4-fulltext-11>.

Zhou, Q. C., C. C. Li, W. Liu, S. Y. Chi, Q. H. Yang. 2007. Effects of dietary lipid sources on growth and fatty acid composition of juvenile shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult Nutr.* 13: 222-229.

11. ANEXOS

Tabla X. Valores LOD y P obtenidos en análisis de parentesco de progenie y reproductores realizados con los programas CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
D4-F02			615-P	27.3	1	246-P	28.2	1
30-P	27.2	1	619-P	26.1	1	628-P	21.8	1
57-P	24.8	1	636-P	25.8	1	686-P	23.6	1
241-P	22.5	1	691-P	25.2	1	702-P	21.8	1
316-P	23.7	1	579-P	24.6	1	231-P	20.1	1
342-P	21.6	1	D4-F08			D4-F13		
421-P	25.2	1	221-P	17.2	1	36-P	26.1	1
521-P	26.7	1	388-P	19.9	1	46-P	24.9	1
551-P	20.5	1	412-P	21.9	1	75-P	29.9	1
639-P	18.6	1	553-P	25.1	1	120-P	26.3	1
D4-F04			462-P	20.5	1	265-P	27.7	1
54-P	25.5	1	673-P	21.2	1	283-P	21.7	1
87-P	18.2	1	D4-F10			386-P	23.1	1
88-P	21.7	1	323-P	18.7	1	424-P	19.7	1
212-P	24.5	1	406-P	21.9	1	429-P	21	1
350-P	19	1	585-P	18.6	1	458-P	28	1
441-P	27.5	1	597-P	22.4	1	493-P	18.9	1
463-P	24.9	1	633-P	19	1	510-P	29.7	1
509-P	22	1	640-P	18.9	1	535-P	20.5	1
544-P	22.7	1	284-P	21.2	1	573-P	22.7	1
D4-F05			593-P	15.4	1	625-P	25.3	1
70-P	27	1	D4-F11			700-P	28.8	1
118-P	18.4	1	574-P	27.9	1	117-P	28.5	1
125-P	20.1	1	D4-F12			468-P	25.1	1
187-P	26.5	1	26-P	26.2	1	D4-F16		
248-P	28.4	1	92-P	28.4	1	375-P	30	1
612-P	22	1	239-P	23.2	1	656-P	25.4	1

Tabla X (continuación). Valores LOD y P obtenidos en CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
488-P	34.2	1	380-P	19.8	1	578-P	19.5	1
492-P	30.6	1	383-P	18.5	1	570-P	25.5	1
D4-F17			433-P	19.8	1	D4-F27		
194-P	21.6	1	480-P	22.4	1	83-P	26.5	1
542-P	19.4	1	503-P	17.7	1	238-P	17.9	1
592-P	9.8	1	505-P	23.4	1	348-P	23.3	1
D4-F18			507-P	25.3	1	565-P	18.4	1
171-P	27.8	1	558-P	25.1	1	D4-F28		
281-P	18.7	1	569-P	17.7	1	290-P	33.9	1
D4-F20			613-P	23.8	1	374-P	28.8	1
47-P	21	1	687-P	15.6	1	411-P	32.2	1
121-P	25.5	1	370-P	18.4	1	440-P	28.7	1
165-P	22.7	1	D4-F23			449-P	33.6	1
318-P	27.3	1	33-P	21.4	1	451-P	29.9	1
359-P	29.3	1	64-P	27	1	461-P	33.9	1
555-P	26.3	1	93-P	31.6	1	599-P	33	1
566-P	27.8	1	131-P	21.1	1	D4-F29		
626-P	27.9	1	701-P	28.1	1	27-P	18.3	1
658-P	29	1	472-P	26.8	1	52-P	23.6	1
660-P	22.1	1	516-P	29	1	82-P	18.5	1
681-P	25.1	1	618-P	23.8	1	116-P	19.2	1
496-P	27.9	1	D4-F25			128-P	18.5	1
698-P	18.7	1	13-P	27.4	1	181-P	12.1	1
D4-F21			23-P	25.4	1	197-P	16.3	1
28-P	24.3	1	130-P	26.2	1	217-P	19.4	1
69-P	25.5	1	140-P	28	1	230-P	13.1	1
86-P	31.3	1	546-P	21.3	1	237-P	23.9	1
488-P	34.2	1	380-P	19.8	1	578-P	19.5	1
492-P	30.6	1	383-P	18.5	1	570-P	25.5	1

Tabla X (continuación). Valores LOD y P obtenidos en CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
346-P	11.7	1	184-P	25.5	1	297-P	17.9	1
347-P	13.2	1	196-P	21.9	1	336-P	20.9	1
442-P	15.9	1	211-P	21.4	1	360-P	25.6	1
457-P	14.3	1	266-P	24.9	1	390-P	22.2	1
469-P	20.4	1	280-P	23.5	1	422-P	21.2	1
479-P	11.4	1	317-P	28.5	1	425-P	23.5	1
500-P	17.1	1	141-P	22.3	1	445-P	23.9	1
564-P	19	1	255-P	17.9	1	448-P	24.1	1
590-P	23.2	1	D4-F33			465-P	20.6	1
604-P	20	1	11-P	16.3	1	520-P	25	1
623-P	19.2	1	48-P	20.1	1	523-P	23	1
637-P	17.3	1	164-P	23.6	1	601-P	16.3	1
511-P	24.6	1	663-P	24.7	1	620-P	23.2	1
668-P	23.5	1	D4-F34			624-P	23.1	1
D4-F30			24-P	18	1	657-P	22.4	1
236-P	22.9	1	151-P	19.6	1	552-P	25.1	1
596-P	26.4	1	343-P	23.1	1	582-P	29.4	1
653-P	29.2	1	426-P	21.4	1	D4-F36		
D4-F31			D4-F35			437-P	8.9	1
364-P	13.2	1	80-P	18.5	1	464-P	12.3	1
589-P	26.9	1	122-P	20.1	1	D4-F38		
583-P	19.2	1	167-P	26	1	01-P	14.4	1
D4-F32			173-P	20.7	1	02-P	9.4	1
51-P	20.6	1	177-P	23.1	1	183-P	24.2	1
63-P	25.6	1	227-P	23.5	1	210-P	26.5	1
104-P	24.5	1	278-P	19.5	1	252-P	17.1	1
106-P	25.3	1	294-P	28.9	1	452-P	21.3	1
346-P	11.7	1	184-P	25.5	1	297-P	17.9	1
347-P	13.2	1	196-P	21.9	1	336-P	20.9	1

Tabla X (continuación). Valores LOD y P obtenidos en CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
D4-F36			671-P	23.1	1	485-P	34.1	1
437-P	8.9	1	629-P	17.7	1	319-P	22.9	1
464-P	12.3	1	D4-F43			339-P	15.8	1
D4-F38			89-P	24.5	1	D4-F48		
01-P	14.4	1	119-P	31.3	1	515-P	21.4	1
02-P	9.4	1	147-P	27.7	1	264-P	27.8	1
183-P	24.2	1	250-P	28.3	1	D4-F49		
210-P	26.5	1	334-P	26.5	1	09-P	27.1	1
252-P	17.1	1	351-P	26.3	1	37-P	25	1
452-P	21.3	1	659-P	27.4	1	42-P	32.3	1
667-P	11.7	1	677-P	27	1	72-P	33.2	1
697-P	6.6	1	501-P	16.4	1	109-P	23.5	1
490-P	14.6	1	502-P	30.3	1	161-P	21.5	1
D4-F40			D4-F44			166-P	19	1
349-P	27.9	1	85-P	27.8	1	172-P	25.3	1
D4-F41			110-P	23.3	1	222-P	26.1	1
309-P	36	1	459-P	24.5	1	228-P	23.6	1
591-P	25.3	1	524-P	27.5	1	312-P	28.7	1
D4-F42			577-P	28.7	1	325-P	27	1
31-P	16.4	1	D4-F45			345-P	27.6	1
79-P	22.1	1	489-P	23	1	352-P	29.7	1
331-P	24.9	1	162-P	17.5	1	443-P	26.1	1
401-P	21	1	644-P	19.6	1	446-P	31.7	1
415-P	19.3	1	D4-F46			454-P	20	1
439-P	26.8	1	10-P	21	1	474-P	23.3	1
518-P	14.2	1	215-P	26.8	1	536-P	26.6	1
649-P	20.7	1	D4-F47			610-P	29.6	1
D4-F36			671-P	23.1	1	485-P	34.1	1
437-P	8.9	1	629-P	17.7	1	319-P	22.9	1

Tabla X (continuación). Valores LOD y P obtenidos en CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
540-P	24.3	1	D4-F52			182-P	24.1	1
595-P	28.2	1	50-P	14	1	191-P	14	1
D4-F50			59-P	17.3	1	362-P	22.3	1
372-P	22.1	1	160-P	14.7	1	397-P	25	1
580-P	13.6	1	180-P	8	1	435-P	17.5	1
482-P	14.1	1	261-P	16.5	1	473-P	14.8	1
D4-F51			263-P	14	1	519-P	16.3	1
41-P	26.5	1	288-P	12.8	1	561-P	22.9	1
58-P	22	1	308-P	17.4	1	627-P	27.6	1
90-P	19.2	1	328-P	12.8	1	666-P	27.2	1
94-P	21.3	1	357-P	13.6	1	D5-F01		
99-P	21	1	381-P	18.1	1	14-P	32.4	1
127-P	20.6	1	391-P	19.7	1	188-P	35.3	1
185-P	21.8	1	419-P	16.1	1	224-P	25.8	1
186-P	25.9	1	432-P	12.6	1	568-P	34.6	1
193-P	20	1	494-P	12.8	1	562-P	36.3	1
299-P	14.7	1	594-P	15	1	D5-F02		
320-P	21.8	1	600-P	19.6	1	62-P	16.5	1
327-P	22.1	1	550-P	14.2	1	313-P	13	1
341-P	29.5	1	528-P	14.7	1	D5-F03		
366-P	17.3	1	D4-F53			76-P	15.9	1
394-P	19.2	1	19-P	23.3	1	332-P	16.9	1
398-P	26.8	1	101-P	25.3	1	696-P	16.5	1
487-P	10.8	1	105-P	24.4	1	305-P	22.4	1
508-P	22.9	1	152-P	22.3	1	D5-F04		
641-P	19.7	1	169-P	22.3	1	491-P	3.1	1
645-P	21.9	1	178-P	20.8	1	282-P	10.9	1
540-P	24.3	1	D4-F52			182-P	24.1	1
595-P	28.2	1	50-P	14	1	191-P	14	1

Tabla X (continuación). Valores LOD y P obtenidos en CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
D5-F05			D5-F14			295-P	26.1	1
25-P	22.8	1	168-P	25.6	1	371-P	21.8	1
102-P	27.2	1	417-P	20.5	1	373-P	20.8	1
129-P	26.4	1	530-P	23.2	1	403-P	16.8	1
571-P	25.5	1	586-P	19.8	1	456-P	27.8	1
D5-F07			662-P	20.9	1	495-P	26	1
84-P	21.8	1	D5-F15			539-P	28.2	1
201-P	38	1	154-P	27.7	1	603-P	27	1
436-P	28.4	1	175-P	20.4	1	634-P	22	1
664-P	26.4	1	203-P	20.7	1	D5-F19		
361-P	26.7	1	257-P	30.9	1	55-P	21.8	1
D5-F08			310-P	28.1	1	56-P	24.5	1
529-P	28.6	1	477-P	27.3	1	74-P	24.8	1
D5-F10			556-P	27	1	97-P	23.8	1
192-P	17	1	632-P	21.7	1	103-P	24.5	1
253-P	19.1	1	268-P	25.3	1	124-P	27.6	1
293-P	23.5	1	D5-F16			157-P	27.9	1
315-P	25.7	1	138-P	24.1	1	174-P	21.1	1
527-P	29.2	1	155-P	30.6	1	179-P	27.9	1
608-P	23.7	1	428-P	25	1	195-P	26.8	1
D5-F11			497-P	26.2	1	200-P	21.5	1
416-P	23.3	1	D5-F18			214-P	24.4	1
D5-F12			22-P	24.8	1	244-P	24.4	1
P-699	22.2	1	61-P	12.9	1	247-P	25.4	1
D5-F13			216-P	31.6	1	251-P	21.9	1
581-P	17.8	1	256-P	29.5	1	298-P	24.6	1
29-P	14.4	1	275-P	24.3	1	322-P	21.7	1
D5-F05			D5-F14			295-P	26.1	1
25-P	22.8	1	168-P	25.6	1	371-P	21.8	1

Tabla X (continuación). Valores LOD y P obtenidos en CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
324-P	20.5	1	514-P	18.8	1	229-P	24.1	1
338-P	24.9	1	543-P	18.6	1	588-P	33	1
344-P	21.9	1	547-P	28	1	688-P	23.5	1
402-P	19.3	1	602-P	31.1	1	D5-F28		
407-P	23.5	1	609-P	20.2	1	07-P	18.5	1
420-P	22.1	1	630-P	27.2	1	43-P	20	1
431-P	18.8	1	655-P	24.1	1	98-P	12.2	1
475-P	28.9	1	665-P	21.8	1	136-P	15.8	1
478-P	16.1	1	674-P	25.8	1	139-P	20.3	1
534-P	30.5	1	694-P	26.9	1	176-P	14.7	1
557-P	29.2	1	703-P	23.7	1	249-P	20.8	1
638-P	22.8	1	D5-F21			270-P	19.4	1
643-P	25.2	1	20-P	25.4	1	303-P	20.7	1
652-P	20.1	1	135-P	18.4	1	363-P	14.7	1
678-P	20.3	1	153-P	18.8	1	382-P	17.1	1
692-P	24.1	1	170-P	23.1	1	384-P	18.6	1
107-P	23.4	1	276-P	18	1	476-P	8.1	1
498-P	16.8	1	404-P	20.6	1	537-P	13.1	1
D5-F20			414-P	21.2	1	635-P	21.4	1
39-P	28.6	1	554-P	24.4	1	685-P	21	1
49-P	22.4	1	559-P	27.3	1	300-P	22.5	1
53-P	24.8	1	311-P	23.2	1	584-P	12.1	1
143-P	22.2	1	405-P	15.3	1	531-P	17.8	1
333-P	23.5	1	587-P	20.8	1	D5-F29		
389-P	30.6	1	D5-F26			220-P	26	1
392-P	26.7	1	38-P	28.5	1	260-P	19.5	1
413-P	23.1	1	111-P	29.6	1	376-P	24.4	1
324-P	20.5	1	514-P	18.8	1	229-P	24.1	1
338-P	24.9	1	543-P	18.6	1	588-P	33	1

Tabla X (continuación). Valores LOD y P obtenidos en CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
467-P	25.2	1	611-P	17.3	1	163-P	19.9	1
D5-F30			504-P	27.3	1	517-P	28.4	1
78-P	15.7	1	D5-F33			D5-F37		
189-P	27.9	1	65-P	15	1	34-P	30.1	1
258-P	31.2	1	213-P	18.2	1	240-P	33.8	1
330-P	32.2	1	232-P	20.5	1	369-P	32.8	1
335-P	36.4	1	272-P	19	1	512-P	33.3	1
410-P	25.9	1	385-P	17.5	1	301-P	34.9	1
418-P	27.8	1	423-P	17.3	1	D5-F38		
438-P	32.1	1	654-P	18.2	1	12-P	29.1	1
455-P	27.3	1	693-P	17	1	149-P	22.1	1
466-P	21.6	1	563-P	18.4	1	262-P	20.4	1
669-P	26.8	1	D5-F34			321-P	20.4	1
D5-F31			314-P	28.4	1	396-P	18.8	1
100-P	15.5	1	354-P	34.7	1	399-P	26.9	1
356-P	18	1	447-P	30.4	1	572-P	24.6	1
400-P	16.4	1	513-P	31.6	1	614-P	11.7	1
470-P	14.6	1	525-P	25.4	1	622-P	16.6	1
471-P	20.7	1	526-P	25.4	1	679-P	23.9	1
598-P	20.1	1	D5-F35			650-P	18.6	1
672-P	15.4	1	16-P	27.9	1	D5-F41		
6-P	4.3	1	123-P	19	1	71-P	28	1
D5-F32			234-P	22	1	242-P	28	1
05-P	26.3	1	506-P	21.9	1	259-P	25.5	1
150-P	27	1	642-P	22.1	1	499-P	22.6	1
204-P	29.5	1	D5-F36			680-P	27.4	1
286-P	20.6	1	21-P	25.8	1	684-P	24.7	1
467-P	25.2	1	611-P	17.3	1	163-P	19.9	1
D5-F30			504-P	27.3	1	517-P	28.4	1

Tabla X (continuación). Valores LOD y P obtenidos en CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
218-P	24.5	1	548-P	30.9	1	254-P	16.7	1
481-P	27.6	1	575-P	21.5	1	267-P	19.9	1
D5-F42			605-P	18.5	1	306-P	25.2	1
35-P	14.6	1	606-P	16.5	1	683-P	25.4	1
45-P	18.2	1	690-P	22	1	279-P	22.2	1
81-P	23.5	1	670-P	22.2	1	289-P	25.4	1
96-P	22.5	1	D5-F43			D5-F46		
112-P	20.9	1	108-P	15.1	1	17-P	13.7	1
113-P	21.7	1	208-P	25.1	1	73-P	18.1	1
115-P	26.5	1	427-P	21.8	1	77-P	13.5	1
133-P	23	1	453-P	21.2	1	146-P	21.5	1
190-P	22.9	1	522-P	24.4	1	209-P	11.5	1
198-P	17.1	1	675-P	22	1	223-P	17.7	1
206-P	19.3	1	484-P	24.7	1	292-P	17.3	1
219-P	28	1	616-P	23.6	1	355-P	30.7	1
233-P	16.8	1	661-P	27.6	1	358-P	19	1
245-P	25.8	1	D5-F44			689-P	17.6	1
269-P	22.6	1	114-P	23.9	1	695-P	19.5	1
273-P	22.8	1	337-P	23.7	1	377-P	24.5	1
285-P	27.2	1	395-P	20.9	1	D5-F47		
304-P	19.6	1	D5-F45			04-P	25.7	1
326-P	21.7	1	40-P	29.9	1	15-P	27.8	1
379-P	21.4	1	60-P	20.8	1	91-P	28.2	1
387-P	25.5	1	145-P	21	1	156-P	28.8	1
430-P	22.8	1	159-P	27.9	1	207-P	30.5	1
541-P	24.3	1	202-P	26.2	1	225-P	30.5	1
545-P	19.1	1	235-P	20.6	1	243-P	30	1
218-P	24.5	1	548-P	30.9	1	254-P	16.7	1
481-P	27.6	1	575-P	21.5	1	267-P	19.9	1

Tabla X (continuación). Valores LOD y P obtenidos en CERVUS y COLONY, respectivamente. LOD es un valor que representa el logaritmo natural (con base e) de la proporción conjunta de similitud entre los individuos (un valor positivo significa que el individuo tiene una gran probabilidad de ser el hijo verdadero de ambos padres); mientras que P representa la probabilidad de que ese individuo sea el hijo verdadero de los padres candidatos (familia).

Familia	LOD	P	Familia	LOD	P	Familia	LOD	P
274-P	28.7	1	148-P	26.5	1			
291-P	28.6	1	205-P	24.1	1			
307-P	28.9	1	367-P	25.2	1			
329-P	31	1	621-P	21.5	1			
353-P	27.4	1	651-P	22.3	1			
567-P	31.8	1						
682-P	28.4	1						
D5-F48								
483-P	18.1	1						
296-P	17.9	1						
D5-F49								
67-P	29.3	1						
126-P	22.8	1						
199-P	24.9	1						
271-P	22.1	1						

Tabla XI. Promedios obtenidos en porcentajes para contenido de ácidos grasos en hemolinfa comparando la población de hembras y machos. P (dos colas) obtenida mediante prueba t de Student. Adicionalmente se compararon miembros de las familias con mayor número de individuos (D4-F35, D5-F42, D5-F18, D4-F49, D4-F29) sin encontrar diferencias significativas en ningún ácido graso ($p>0.05$).

	Hembras	Machos	P(dos colas)		Hembras	Machos	P (dos colas)
14:0	0.490	0.544	0.054	24:1n-9	1.117	0.987	0.274
15:0	0.236	0.242	0.535	18:2n-6	9.360	9.874	0.126
16:0	19.663	19.438	0.758	18:3n-6	0.586	0.561	0.302
17:0	1.148	1.149	0.974	18:3n-3	0.652	0.619	0.644
18:0	16.639	16.518	0.839	18:4n-3	0.159	0.138	0.218
20:0	0.541	0.528	0.596	20:2n-6	1.451	1.413	0.188
21:0	0.166	0.156	0.054	20:3n-6	0.337	0.314	0.190
22:0	0.403	0.390	0.054	20:3n-3	0.214	0.238	0.480
24:0	0.346	0.374	0.054	20:4n-6	2.781	2.897	0.474
14: 1n-8	0.063	0.058	0.424	20:5n-3	9.051	9.383	0.360
15:1n-8	0.592	0.547	0.227	21:4n-6	0.841	0.577	0.057
16:1n-9	0.718	0.665	0.439	22:4n-6	0.255	0.238	0.998
16:1n-7	1.015	1.072	0.139	22:5n-6	0.187	0.159	0.556
16:1n-5	0.207	0.173	0.164	22:5n-3	1.840	1.804	0.405
17:1n-8	0.216	0.222	0.895	22:6n-3	11.307	11.338	0.687
18:1n-9	10.969	11.274	0.299	SAFA	39.632	39.340	0.720
18:1n-7	3.273	3.262	0.911	MUFA	21.342	21.107	0.577
20:1n-11	0.444	0.396	0.269	PUFA	39.027	39.554	0.926
20:1n-9	1.441	1.288	0.407	HUFA	26.427	26.535	0.648
20:1n-7	0.283	0.235	0.066	(n-3)	23.224	23.521	0.778
22:1n-11	0.614	0.766	0.435	(n-3)/(n-6)	1.480	1.436	0.238
22:1n-9	0.385	0.154	0.138	SI	187.731	189.037	0.238