

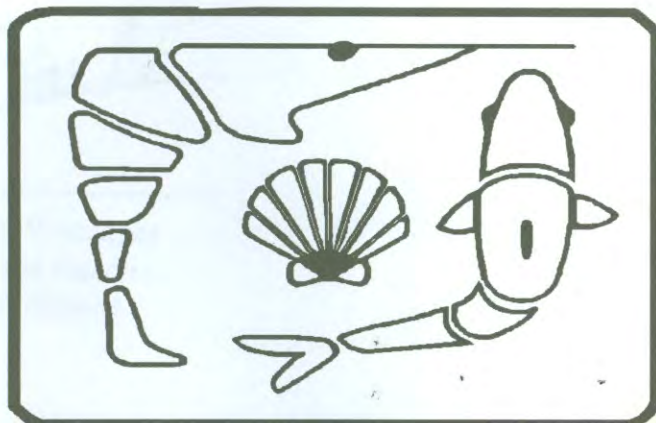


UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS

"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ACUACULTURA



HIBRIDACIÓN INTERESPECÍFICA DE CAMARÓN BLANCO
Litopenaeus vannamei Y CAMARÓN AZUL *L. stylirostris*.

T E S I S

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS
presenta:

MANUEL DE JESÚS ZÚÑIGA PANDURO.

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

CONTENIDO

PÁGINA

APROBACIÓN	<i>i</i>
DEDICATORIA	<i>ii</i>
AGRADECIMIENTOS	<i>iii</i>
CONTENIDO	<i>v</i>
RESUMEN	<i>ix</i>
ABSTRACT	<i>x</i>
ÍNDICE FIGURAS	<i>xi</i>
ÍNDICE DE TABLAS	<i>xiii</i>
I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
I.1 La acuicultura en México	1
I.2 Importancia de la camaronicultura	2
I.3 La camaronicultura en México	3
I.4 Reproducción de camarones peneidos en cautiverio	4
I.4.1 Sistema reproductivo de hembras	4
I.4.2 Sistema reproductivo de machos	5
I.4.3 Maduración y apareamiento	5
I.4.4 Inseminación artificial	6
I.4.5 Desove, eclosión y desarrollo larvario	7
I.4.6 Mecanismo de fertilización en camarones peneidos	8
I.5 Hibridación interespecífica en acuicultura	12
I.6 Hibridación interespecífica en camarones peneidos	14
I.7 Justificación	15
II. OBJETIVOS	17
II.1 Objetivo General	17
II.2 Objetivos Particulares	17
III. MATERIAL Y MÉTODOS	18
III.1 Especies Utilizadas	18

III.2 Transporte y aclimatación	18
III.3 Maduración de reproductores	20
III.3.1 Oculotomía	21
III.3.2 Dieta de maduración	22
III.4 Tratamientos experimentales	22
III.4.1 Cruzas intraespecíficas	22
III.4.2 Cruzas interespecíficas	23
III.5 Inseminación artificial	24
III.6 Desove	24
III.6.1 Colecta de nauplios	25
III.7 Larvicultura	25
III.7.1 Siembra de nauplios en tanques de cultivo larvario	25
III.8 Desempeño Reproductivo	26
III.9 Detección de agentes patógenos	27
IV. RESULTADOS	28
IV.1 Parámetros físico-químicos	28
IV.1.1 Tanques de maduración	28
IV.1.2 Tanques de desove	32
IV.1.3 Tanques de cultivo larvario	33
IV.2. Oculotomía	38
IV.3. Desempeño Reproductivo	38
IV.3.1. Cruzas intraespecíficas	39
IV.3.1.1 Cruza ♂ LSx ♀LS	39
IV.3.1.2 Cruza ♂ LVx ♀LV	40
IV.3.2 Cruzas interespecíficas	43
IV.3.2.1 Cruza ♂LV x ♀LS	43
IV.3.2.1.1 Hembras inseminadas con el espermatóforo compuesto de un solo macho	43
IV.3.2.1.2 Hembras inseminadas con los espermatóforos compuestos de dos machos	43
IV.3.2.1.3 Esperma homogenizado	43

IV.3.2.1.4 Hembras que anteriormente fueron inseminadas en cruza intraespecíficas y que produjeron nauplios viables	44
IV.3.2.1.4.1 Primera cruza: cruza intraespecífica	44
IV.3.2.1.4.2 Segunda cruza: cruza interespecífica	44
IV.3.2.1.4.3 Tercera cruza: cruza interespecífica	44
IV.3.2.2 Cruza ♂LS x ♀LV	47
IV.3.2.2.1 Hembras inseminadas con el espermátforo compuesto de un solo macho	47
IV.3.2.2.2 Hembras inseminadas con los espermátforos compuestos de dos machos	47
IV.3.2.2.3 Esperma homogenizado	47
IV.3.2.2.4 Hembras que anteriormente fueron inseminadas en cruza intraespecíficas y que produjeron nauplios viables	47
IV.3.2.2.4.1 Hembra No. 1	48
IV.3.2.2.4.1.1 Primera cruza: cruza intraespecífica	48
IV.3.2.2.4.1.2 Segunda cruza: cruza interespecífica	48
IV.3.2.2.4.2 Hembra No. 2	48
IV.3.2.2.4.2.1 Primera cruza: cruza intraespecífica	48
IV.3.2.2.4.2.2 Segunda cruza: cruza interespecífica	48
IV.3.2.2.4.2.3 Tercera cruza: cruza interespecífica	48
IV.4 Detección de agentes patógenos	51
V. DISCUSIÓN	52
V.1 Parámetros físico-químicos	52
V.1.1 En tanques de maduración	52
V.1.2 En tanques de desove	52
V.1.3 En tanques de cultivo larvario	53
V.2 Oculotomía	53
V.3 Desempeño Reproductivo	54
V.3.1 Cruzas intraespecíficas	55
V.3.1.1 Cruza ♂ LSx ♀LS	55
V.3.1.2 Cruza ♂ LVx ♀LV	56

V.3.2 Cruzas interespecíficas.....	57
V.3.2.1 Cruza ♀LS x ♂LV.....	57
V.3.2.1.1 Hembras inseminadas con el espermátforo compuesto de un solo macho.....	57
V.3.2.1.2 Hembras inseminadas con los espermátforos compuestos de dos machos.....	58
V.3.2.1.3 Esperma homogenizado.....	58
V.3.2.1.4 Hembras que anteriormente fueron inseminadas en cruzas intraespecíficas y que produjeron nauplios viables	59
IV.3.2.2 Cruza ♀LV x ♂LS.....	59
V.4 Barreras que impiden la hibridación interespecífica.....	60
V.5 Detección de agentes patógenos.....	62
VI. CONCLUSIONES.....	63
VII. RECOMENDACIONES.....	65
VIII. LITERATURA CITADA.....	66
ANEXO 1	75

RESUMEN

Se llevó al cabo un experimento para evaluar la factibilidad de hibridación de reproductores domésticos de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* y de reproductores silvestres de camarón azul *L. stylirostris*, mediante el método de inseminación artificial. Se realizaron cruzas entre individuos de la misma especie (cruzas intraespecíficas), para dar lugar a los tratamientos control 1) macho x hembra de *L. stylirostris* (♂LS x ♀LS); y 2) macho x hembra de *L. vannamei* (♂LV x ♀LV). Con el fin de obtener organismos híbridos, se realizaron cruzas entre individuos de especies diferentes (cruzas interespecíficas), tratamientos 3) ♂LV x ♀LS; y 4) ♂LS x ♀LV. Con el fin de aumentar las posibilidades de éxito de hibridación, se incluyeron cuatro modalidades de inseminación: a) Hembras inseminadas con el espermátforo compuesto de un solo macho; b) Hembras inseminadas con los espermátforos compuestos de dos machos; c) Esperma homogenizado, en el que la hembra fue inseminada con el espermátforo compuesto de un macho y, después de haber sido transferida a un tanque de desove, el espermátforo compuesto de otro macho fue homogenizado en un macerador de tejido y agregado a la columna de agua; d) Hembras que anteriormente habían sido inseminadas con machos de su misma especie y que produjeron nauplios viables, fueron subsecuentemente utilizadas en cruzas interespecíficas. Para la crusa control 1) ♂LSx ♀LS, se realizaron 14 inseminaciones. El promedio de huevos desovados por hembra fue de 164,177. Tres de estas hembras produjeron huevos fertilizados, lo que representa un porcentaje de éxito de inseminación artificial de 23%. Estas tres oviposiciones totalizaron 99,031 huevos fertilizados, de donde eclosionaron 73,764 nauplios, lo que correspondió a un promedio del porcentaje de fertilización de 17.2% y de eclosión de 12.8%, respectivamente. Para la crusa control 2) ♂LV x ♀LV, se realizaron 12 inseminaciones. El promedio de huevos desovados por hembra fue de 100,957. El éxito de inseminación artificial fue de 41.6%, obteniéndose 86,153 huevos fertilizados, de los que surgieron 71,205 nauplios, correspondientes a porcentajes de fertilización y de eclosión de 14.3 y 11.7%, respectivamente. En contraste, en el caso las cruzas interespecíficas, con 25 inseminaciones para la crusa 3) ♂LV x ♀LS y 19 inseminaciones para la crusa 4) ♂LS x ♀LV, y aunque la cantidad y calidad de huevos producidos por hembra se encontraron dentro de los parámetros normales, la hibridación no fue exitosa bajo ninguna de las modalidades de inseminación. Debido a que la obtención de nauplios en las cruzas intraespecíficas control comprobó fehacientemente la capacidad reproductiva de los organismos empleados, los resultados del presente estudio indican que la hibridación entre *L. stylirostris* y *L. vannamei* no es posible, al menos a través del método tradicional de inseminación artificial. Con base en que no existió división celular aparente de los huevos producto de las cruzas interespecíficas, es posible que el resultado sea atribuible a barreras precigóticas, que son mecanismos de aislamiento reproductivo que impiden que la fecundación ocurra.

ABSTRACT

This study evaluated the suitability of hybridization of domestic white shrimp *Litopenaeus vannamei* and wild blue shrimp *L. stylirostris* by means of artificial insemination. As control treatments, intra-specific crosses were performed: 1) male x female *L. stylirostris* (σ LS x ϕ LS); and 2) male x female *L. vannamei* (σ LV x ϕ LV). Inter-specific crosses were 3) σ LV x ϕ LS and 4) σ LS x ϕ LV. In order to enhance the possibilities of hybridization success, four types of insemination were tested: a) Females inseminated with the compound spermatophore of one male; b) Females inseminated with the compound spermatophores of two males; c) Females inseminated as in a), which after being transferred to a spawning tank, received a sperm homogenate directly in the water, obtained from the compound spermatophore of a second male; and d) Females that previously produced fertile offspring in intra-specific crosses and were subsequently utilized in inter-specific crosses. For the control treatment 1) σ LSx ϕ LS, 14 inseminations were performed. The mean number of eggs per spawning was 164,177. Three out of these females produced fertilized eggs, which represents an artificial insemination success of 23%. Of these spawnings, 99,031 fertilized eggs and 73,764 nauplii were obtained, corresponding to fertilization and hatching rates of 17.2% and 12.8%, respectively. For the control treatment 2) σ LV x ϕ LV, 12 inseminations were performed. The mean number of eggs per spawning was 100,957. Five out of the 12 inseminations produced viable nauplii, which corresponded to an artificial insemination success of 41.6%. Of these spawnings, the number of fertilized eggs was 86,153, from which 71,205 nauplii emerged, corresponding to fertilization and hatching rates of 14.3 and 11.7%, respectively. In contrast, in spite of the adequate quantity and quality of the eggs produced by females, none of the inter-specific crosses, with 25 inseminations for the cross 3) σ LV x ϕ LS, and 19 inseminations for the cross 4) σ LS x ϕ LV, was successful. Because the viable nauplii obtained from both of the intra-specific crosses undoubtedly demonstrated the reproductive competence of the organisms employed, the present study indicates that hybridization of white and blue shrimp is not possible, at least not by means of the traditional method of artificial insemination. Taking into account that no cell division was apparent in eggs produced in the inter-specific crosses performed, the result may be attributable to pre-zygotic barriers, which are mechanisms of reproductive isolation that prevent fertilization from taking place.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Tanques de fibra de vidrio con capacidad de 10,000 L con separación de malla plástica, utilizados para la maduración de los reproductores.....	20
2	Remoción del tallo ocular del ojo derecho practicado a hembras de ambas especies.....	21
3	Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal de la temperatura en el tanque de maduración de <i>L. stylirostris</i> durante las 11 semanas del experimento.....	29
4	Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal de la salinidad en el tanque de maduración de <i>L. stylirostris</i> durante las 11 semanas del experimento.....	29
5	Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal del oxígeno disuelto en el tanque de maduración de <i>L. stylirostris</i> durante las 11 semanas del experimento.....	30
6	Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal de la temperatura en el tanque de maduración de <i>L. vannamei</i> durante las 11 semanas del experimento.....	31
7	Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal de la salinidad en el tanque de maduración de <i>L. vannamei</i> durante las 11 semanas del experimento.....	31
8	Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal del oxígeno disuelto en el tanque de maduración de <i>L. vannamei</i> durante las 11 semanas del experimento.....	32
9	Comportamiento de la temperatura en tanques de cultivo larvario de <i>L. stylirostris</i> durante los 15 días de cultivo.....	35
10	Comportamiento de la salinidad en tanques de cultivo larvario de <i>L. stylirostris</i> durante 15 días de cultivo.....	35
11	Comportamiento del oxígeno disuelto en tanques de cultivo larvario de <i>L. stylirostris</i> durante 15 días de cultivo.....	36

12	Comportamiento de la temperatura en tanques de cultivo larvario de <i>L. vannamei</i> durante 15 días de cultivo.....	36
13	Comportamiento de la salinidad en tanques de cultivo larvario de <i>L. vannamei</i> durante los 15 días de cultivo.....	37
14	Comportamiento del oxígeno disuelto en tanques de cultivo larvario de <i>L. vannamei</i> durante los 15 días de cultivo.....	37
15	Huevo fértil con la formación de nauplio normal de <i>L. stylirostris</i> a 4 horas después del desove.....	41
16	Nauplios de <i>L. stylirostris</i> producto de la crua intraespecífica (♂LS x ♀LS).....	41
17	Nauplios de <i>L. vannamei</i> producto de la crua intraespecífica (♂LV x ♀LV).....	42
18	Huevos no fertilizados producto de la crua interespecífica (♂LV x ♀LS).....	46
19	Huevos no fertilizados producto de la crua interespecífica (♂LS x ♀LV).....	49

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
I	Hibridación interespecífica en camarones peneidos.....	15
II	Valores promedio semanales (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en el tanque de maduración de <i>L. stylirostri</i>	28
III	Valores promedio semanales (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en el tanque de maduración de <i>L. vannamei</i>	30
IV	Valores promedio (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en tanques de desove de la craza intraespecífica ♂LS x ♀LS.....	33
V	Valores promedio (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en tanques de desove de la craza intraespecífica ♂LV x ♀LV.....	34
VI	Valores promedio (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en tanques de desove de la craza interespecífica ♂LV x ♀LS.....	34
VII	Valores promedio (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en tanques de desove de la craza interespecífica ♂LS x ♀LV.....	34
VIII	Resultados de inseminación artificial de hembras de <i>L. stylirostris</i> y <i>L. vannamei</i> durante el desarrollo del experimento....	39
IX	Desempeño reproductivo de la craza intraespecífica control (♂LS x ♀LS) para <i>L. stylirostris</i>	40
X	Desempeño reproductivo de la craza intraespecífica control (♂LVx ♀LV) para <i>L. vannamei</i>	42
XI	Desempeño reproductivo de la craza interespecífica (♂LV x ♀LS) aplicando inseminación artificial con el espermátforo compuesto de un solo macho.....	45

XII	Desempeño reproductivo de la craza interespecífica (♂LV x ♀LS) aplicando inseminación artificial con espermátforo compuesto de dos machos.....	45
XIII	Desempeño reproductivo de la craza interespecífica (♂LV x ♀LS) aplicando inseminación artificial con esperma homogenizado.....	46
XIV	Desempeño reproductivo de una misma hembra de <i>L. stylirostris</i> inseminada en cruza intra e interespecíficas.....	46
XV	Desempeño reproductivo de la craza interespecífica (♂LS x ♀LV) aplicando inseminación artificial con el espermátforo compuesto de un solo macho.....	50
XVI	Desempeño reproductivo de la craza interespecífica (♂LS x ♀LV) aplicando inseminación artificial con los espermátforos compuestos de dos machos.....	50
XVII	Desempeño reproductivo de la craza interespecífica (♂LS x ♀LV) aplicando inseminación artificial con esperma homogenizado.....	50
XVIII	Desempeño reproductivo de hembras de <i>L. vannamei</i> inseminadas en cruza intra e interespecíficas.....	51

I.- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

La contribución de la acuicultura al suministro mundial de peces, crustáceos, moluscos y otros animales acuáticos aumentó de 3.9% de la producción total en peso en 1970 a 27.1% en 2000 y a 32.4% en 2004 (FAO, 2006a), estimándose que para 2007 su contribución sería de alrededor de 50% de la producción total (FAO, 2006b). Sin duda, este crecimiento es mayor que el logrado en cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal. Por ejemplo, la tasa media de crecimiento de este sector a nivel mundial ha sido del 8.8% desde 1970 a 2004. Durante el mismo período, la pesca de captura ha crecido solamente a razón de 1.2%, mientras que los sistemas de producción de carne de cría en tierra, lo hicieron en solo 2.8% (FAO, 2006a). Considerando el aumento de la población mundial proyectado durante las próximas dos décadas, se estima que al menos serán necesarias 40 millones de toneladas adicionales de alimentos acuáticos en el año 2030 para mantener el consumo *per capita* a nivel mundial (FAO, 2006c).

I.1.-La acuicultura en México.

Con aproximadamente 12,000 km de litoral, México se identifica como un país con gran potencial de desarrollo acuícola debido a su clima, recursos naturales y especies nativas con potencial de cultivo. En 2004 ocupó el lugar 25 a nivel mundial con 235,845 toneladas y se encuentra entre los principales países con producción acuícola del continente americano. En ese año, esta actividad generó más de \$5,773,502 millones de pesos, provenientes de una producción de 90,041 toneladas de camarón, 102,917 toneladas de peces (mojarra, bagre, carpa, trucha, lobina, atún y charal), 41,701 toneladas de ostión y 1,108 toneladas de otras especies (Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, 2005). Dicha producción fue equivalente a 0.2% del Producto Interno Bruto (PIB) nacional, pero representó cerca de 1% del PIB si se toman en cuenta la industrialización y comercialización de los productos y más de 300,000 personas empleadas en el sector (Cepal, 2006).

I.2.-Importancia de la camaronicultura.

El camarón ha sido cultivado durante siglos en Asia, usando métodos tradicionales de baja densidad en cuerpos de agua salobre naturales. Este cultivo se inició en pequeña escala en charcas, en monocultivos o junto con otras especies como *Chanos chanos* (Chamberlain, 2004).

Los orígenes del cultivo industrial se remontan a los años 1930s, cuando el camarón kuruma (*Marsupenaeus japonicus*) fue desovado y cultivado por primera vez en Japón (Hudinaga, 1942). El cultivo comercial de camarón comenzó a finales de los años 1960s y a principios de los años 1970s, con avances tecnológicos que permitieron formas intensivas de cultivo. La disminución de las capturas del camarón silvestre y la demanda creciente de consumo, particularmente de los mercados de EE.UU., Japón y Europa Occidental, originó un auge significativo de la industria camaronera a principios de los años 1980s (Rosenberry, 2005).

En Sudamérica, el cultivo comercial de camarón fue desarrollado en Ecuador, extendiéndose a partir de 1975 a otros países como Brasil, EE.UU. y México, entre otros. Sin embargo, a partir de 1995, la presencia de enfermedades virales y bacterianas ha frenado el desarrollo de esta actividad en todo el mundo (FAO, 2006c).

Prácticamente todos los camarones cultivados son peneidos (i. e., pertenecen a la familia Penaeidae), entre los cuales dos especies principales representan aproximadamente 80% de todo el camarón cultivado, el camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) y el camarón tigre negro gigante (*Penaeus monodon*) (Rosenberry, 2005).

La producción total mundial de camarón alcanzó alrededor de 2.4 millones de toneladas en 2004 (Anuario Estadística de Acuicultura y Pesca, 2005), representando un valor de casi 13,500 millones de dólares estadounidenses. Aproximadamente 75% del camarón cultivado es producido en Asia, particularmente en China y Tailandia; el 25% restante se produce principalmente en América Latina, donde Brasil es el principal productor (Rosenberry, 2005).

1.3.-La camaronicultura en México.

En México, el camarón es la especie de cultivo más importante, pues representa más del 70% del peso vivo y más del 80% del valor de cultivo de toda la producción acuícola del país. México se posiciona como el 7° dentro de los países que hoy día cultivan camarón (Rosenberry, 2005). En 2007, la producción fue de alrededor de 114,317 toneladas, provenientes de 66,468 ha de producción en 7 estados de la república, donde Sonora actualmente es el líder con 68,510 toneladas, lo que representa el 60 % de la producción total en este país (COSAES, 2007).

El cultivo de camarón en gran escala en México comenzó a finales de los 1980s y creció durante los 1990s utilizando el camarón azul del Pacífico, *L. stylirostris*. En 1998 y 1999 los cultivos fueron gravemente afectados por una posible mutación o la introducción de la enfermedad viral denominada virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHNV, por sus siglas en inglés). Esto causó que la industria cambiara al cultivo de la especie *L. vannamei*, el camarón blanco del Pacífico, que ha mostrado mayor tolerancia a esta y otras infecciones como las causadas por el virus del Síndrome de Taura y por el virus de la mancha blanca (FAO, 2006c). Actualmente, todas las granjas camaroneras en México cultivan camarón blanco, con producciones que han crecido considerablemente desde 1988 hasta la fecha. En contraste, durante el mismo período, la captura del crustáceo se ha mantenido estable en alrededor de 60,000 toneladas anuales, a pesar de los importantes esfuerzos realizados en este sector. En los últimos tres años, la camaronicultura mexicana ha crecido en promedio 16% por año (Anuario Estadística de Acuicultura y Pesca, 2005). El cultivo de *L. vannamei* se practica tanto en las costas del Océano Pacífico como en el Golfo de México. La mayor parte de la camaronicultura en México es semi-intensiva y los sistemas de cultivo generalmente son desarrollados de acuerdo a las características de cada zona. Por ejemplo, en áreas más cercanas al sur de la República se realizan dos ciclos de cultivo al año, con una duración entre 90 y 120 días cada uno, por el hecho de disponer de temperatura estable. El primer ciclo se realiza de marzo a junio y el segundo de julio a octubre. La densidad de cultivo varía de 8 a 15 postlarvas/m² y la producción varía de 700 a 1,800 kg/ha/año, con organismos de 12 a 15 g. Este sistema es típico de los estados de Sinaloa y Nayarit. Las granjas en estos

estados pueden ser privadas, o pueden pertenecer a grupos sociales organizados en cooperativas. En el norte de Sinaloa y sur de Sonora se utiliza un sistema de cultivo parcial. Las postlarvas se siembran en abril a una densidad de 18 a 25/m². La primera cosecha parcial se realiza en junio, cuando el camarón alcanza un peso de 12 a 14 g. El camarón restante se deja crecer hasta octubre, pudiendo alcanzar de 26 a 30 g. La producción alcanza de 2,000 a 3,000 kg/ha/año. En la región norte de Sonora, el sistema es similar al descrito anteriormente, pero la densidad de cultivo es más alta (25 a 35 postlarvas/m²) y la cosecha final no se realiza sino hasta noviembre, cuando el camarón alcanza los 36 g. El rendimiento en estos sistemas puede ser tan alto como 5,000 kg/ha/año. Estas granjas se manejan como sofisticados agro negocios y pueden comprender varios cientos de hectáreas de estanques con manejos muy adecuados (Chamberlain, 2004).

I.4.- Reproducción de camarones peneidos en cautiverio.

I.4.1.-Sistema reproductivo de hembras.

El sistema reproductivo en los camarones peneidos hembras está constituido por un par de ovarios que se extienden en posición dorsal desde el cefalotórax hasta el último segmento abdominal, así como oviductos, apertura genital y téllico (Heinen, 1976; Chamberlain y Lawrence, 1981). Tradicionalmente, la siguiente caracterización de los diversos estadios de maduración ovárica de camarones peneidos, descrita por Brown y Patlan (1974) y Silas (1978), ha sido de gran utilidad en la selección de hembras maduras listas para el desove: Estadio I. Sin desarrollo, solo se encuentra en camarones jóvenes, los ovarios son pequeños y translúcidos; Estadio II. Hay un alargamiento importante, reconociéndose un lóbulo anterior con lobulaciones digitiformes que cubren el hepatopáncreas, además se observa la región abdominal más engrosada y bien diferenciada del intestino. Son transparentes y con muchos cromatóforos; Estadio III. Casi maduro o estadio amarillo, en esta fase los ovarios son grandes de color amarillo o amarillo-naranja y son visibles a través del exoesqueleto. Se diferencian tres regiones, una anterior con dos lóbulos, otra región media con varias lobulaciones y otra posterior, que se continúa hasta el telson; Estadio IV. Ovarios maduros y llenos, los cuales cubren todos los espacios entre otros órganos y son visibles a través del tegumento. La

coloración es verde oliva con cromatóforos. La región anterior compuesta por dos lóbulos doblados en forma de gancho que llegan al extremo de la región cefálica, la región media con seis lobulaciones laterales digitiformes y una región posterior abdominal que se extiende hasta el telson; Estadio V. Desovado. La consistencia de los ovarios es muy flácida y cremosa, deshaciéndose al tratar de removerlo, su coloración es verde rojizo.

I.4.2.-Sistema reproductivo de machos.

El sistema reproductivo está compuesto por un par de testículos y vasos deferentes, de color lechoso, que se extienden de la parte posterior de los testículos y que se conectan con las ámpulas terminales, las que contienen a los espermátóforos o paquetes de esperma, y a su vez, éstos a los espermatozoos no móviles. Las ámpulas terminales abren al exterior a través de un gonóporo en la coxa del quinto par de periópodos. Los múltiples lóbulos de los testículos están localizados abajo del corazón, situado en posición dorsal con respecto a la glándula digestiva (Bray y Lawrence, 1992). En machos maduros, el espermátóforo, con un color verde-lechoso, es claramente visible a través del exoesqueleto en la parte ventro-lateral a nivel del quinto par de periópodos, excepto en especies con exoesqueleto extremadamente oscuro como *P. monodon*. Así mismo, los machos adultos tienen una estructura especializada llamada petasma, que tiene apariencia triangular y plana y que une entre sí al primer par de pleópodos, con la que se presume realizan la transferencia del espermátóforo a la hembra en el momento de la cópula (Bray y Lawrence, 1992).

I.4.3.-Maduración y apareamiento.

En áreas geográficas donde las fluctuaciones estacionales de temperatura son muy marcadas, la maduración en cautiverio se debe realizar en instalaciones cerradas con control de temperatura e intensidad de luz, en tanques que pueden ser redondos o rectangulares con el área suficiente para no interrumpir el proceso natural de cortejo. Por lo general, con el fin de estimular la maduración ovárica de los organismos, se aplica la oculotomía o remoción del tallo ocular de las hembras, que puede ser a través de cauterización, enucleación, ligación o

corte de tallo ocular con tijeras (Wyban y Sweeney, 1991). Como consecuencia, la remoción de este órgano reduce la producción de la hormona inhibidora de la gónada y permite, de forma concomitante, la liberación de la hormona estimuladora de la gónada, logrando con esto la maduración continua de las hembras. Este fenómeno, apoyado con la temperatura adecuada para la maduración ovárica y el suministro de alimentos frescos o congelados con el perfil óptimo de ácidos grasos para tal fin, tales como anélidos poliquetos, ostras, calamar, pescado, adultos de *Artemia* sp. y krill, logran la maduración ovárica y el apareamiento en cautiverio, que regularmente se desarrolla de forma natural (Bray y Lawrence, 1992). El apareamiento ocurre en horas del atardecer, puede durar entre 3 y 16 segundos y es dividido en cuatro fases, acercamiento, avance lento, persecución y, finalmente, el acoplamiento (Wyban y Sweeney, 1991). Tras el acoplamiento, el macho deposita en el télico de la hembra tanto el espermátforo izquierdo como el derecho, que se unen longitudinalmente para formar lo que se conoce como espermátforo compuesto (Bray y Lawrence, 1992).

I.4.4.-Inseminación artificial.

La inseminación artificial es una técnica que implica el extirpar los espermátforos de un macho maduro de forma mecánica, ya sea mediante presión manual, estimulación eléctrica o disección, para colocarlos en el télico de una hembra madura. Este procedimiento fue reportado para especies de camarones peneidos, de télico abierto y patentado por Persyn (1977).

La inseminación artificial es una herramienta utilizada con mucho éxito tanto a nivel comercial como en investigación, que ha permitido el incremento de la producción de nauplios cuando la reproducción natural no es suficiente (Ottogalli, 1989; Goguenheim et al., 1987), desarrollar líneas genéticas de organismos en cautiverio como los que actualmente se desarrollan en el Oceanic Institute en Hawai, EE.UU. (Arce et al., 1991), así como la obtención de organismos híbridos, que en algunos casos han demostrado tener rasgos específicos de utilidad en acuicultura (Bénzie et al., 2001).

1.4.5.-Desove, eclosión y desarrollo larvario.

El desove o expulsión de los huevos en hembras que ya se han apareado generalmente ocurre durante la noche, tanto en especies de tético abierto como cerrado. Los huevos son expulsados al agua a través del oviducto y dispersados por un movimiento suave y continuo de los pleópodos (Primavera et al., 1982).

La fertilización de los huevos aparentemente ocurre a medida que éstos son expulsados, ya que en camarones de tético abierto, la masa de esperma se encuentra muy cerca del gonoporo de la hembra, por lo que se ha llegado a la conclusión de que el espermátforo es manipulado momentos antes del desove para la dispersión del esperma en el agua, y que por atracción química, ambos gametos entran en contacto en el momento de la expulsión, ocurriendo la fertilización en la columna de agua (Bray y Lawrence, 1992). En camarones de tético cerrado, donde la masa de esperma es interna, se cree que la fertilización igualmente es externa y que ocurre al momento de la expulsión de los huevos o segundos después (Treece, 2000).

Después de la eclosión del huevo, las larvas de camarones peneidos presentan tres estadios sucesivos de desarrollo conocidos como nauplio (N), zoea (Z) y mysis (M), caracterizados por importantes cambios morfológicos y fisiológicos. En condiciones óptimas la duración del ciclo larvario es de 10 a 12 días para *L. vannamei* y *L. stylirostris* (Treece y Yates, 1993).

Cada estadio se divide en varios subestadios, de tal manera que se pueden encontrar de 5 a 6 estadios para el caso de nauplio, dependiendo de la especie, 3 para el de zoea y 3 para el de mysis, antes de que el organismo alcance la fase de postlarva (PL) (Heinen, 1976).

La larva nauplio no presenta partes bucales, por lo tanto no se alimenta de fuentes externas. Sobrevive y se desarrolla mediante sus reservas vitelinas acumuladas durante la formación del huevo. Para *L. vannamei*, se han reconocido 5 subestadios naupliares y 6 para *L. stylirostris*. Además de los cambios en los apéndices, es posible observar en el último subestadio naupliar un tracto digestivo rudimentario, y en los últimos estadios se puede ver, aunque no muy claramente, el inicio del desarrollo de las maxilas y los maxilípedos.

Durante la metamorfosis, cuando la larva alcanza el primer subestadio de zoea, se observa el cuerpo dividido en una región cefalotorácica y una región abdominal, y claramente se puede observar un tracto digestivo que se extiende de manera longitudinal desde la boca al ano, que ya es funcional, aunque no está completamente maduro.

En las zoeas, los ojos aparecen en el primer subestadio y se elevan por encima del carapacho. En el tercer subestadio aparecen los urópodos.

Durante el desarrollo de los estadios de mysis, la morfología externa es ya más o menos parecida a la de un camarón adulto. En el subestadio de mysis I prosigue el desarrollo del telson y de los urópodos. Comienza el desarrollo de los pleópodos, que son más evidentes en mysis II, y en el subestadio de mysis III, ya se encuentran segmentados.

Las postlarvas presentan una morfología similar a la de los camarones adultos con todos sus apéndices desarrollados, con excepción de las estructuras sexuales. De la misma forma en que se observan cambios drásticos en la morfología externa durante el desarrollo larvario, el sistema digestivo se encuentra en un constante desarrollo que alcanza su condición madura hasta después de algunas semanas de que ha concluido la metamorfosis.

I.4.6.- Mecanismo de fertilización en camarones peneidos.

La embriología es la ciencia biológica que estudia el origen y procesos que se llevan a cabo desde la fertilización o fecundación, segmentación, gastrulación, organogénesis, crecimiento, desarrollo y función de un organismo hasta su nacimiento (Moore, 1990).

La definición tradicional indica que la fertilización es un proceso de unión de los pronúcleos femeninos y masculinos para la formación de un nuevo organismo. Pero no se trata sólo de la penetración de una célula pequeña (espermatozoide) en una grande (oocito), si no de una interacción intercelular, altamente especializada, en la cual un gameto activa al otro (Primavera y Posadas, 1981). La interacción oocito-espermatozoide es un complejo proceso secuencial, que se inicia con el reconocimiento de receptores complementarios en la superficie de ambos gametos y que finaliza con la unión de los cromosomas paternos y maternos.

Durante este proceso, el momento crucial es la fusión de las membranas plasmáticas de ambos gametos. Moore (1990) indicó que la fertilización es un proceso que incluye muchos eventos, tales como la maduración del oocito y espermatozoos, unión, reacción acrosómica, penetración, fusión, reacción cortical, zona de reacción y fusión nuclear de ambos gametos.

En camarones peneidos, como en la mayoría de los metazoarios, i.e., animales pluricelulares de nutrición heterótrofa, que necesitan el oxígeno para vivir y cuyas células se agrupan en forma de tejidos, órganos y aparatos, los oocitos secundarios o huevos maduros están formados por algunas capas celulares tales como la corona radiada, zona pelúcida, espacio perivitelino y la membrana plasmática que cubre el citoplasma, cuerpo polar y cromosomas del pronúcleo que están detenidos en la primer metafase meiótica.

Los espermatozoos de los crustáceos decápodos tienen forma de una sombrilla invertida y no son móviles pues no tienen flagelos, y por tanto, no pueden nadar hacia los huevos. Kruevaisayawan et al. (2008) y Clark et al. (1981) encontraron que los espermatozoos de *P. monodon*, *Sycionia ingentis*, así como los de los grupos Penaeoidea, Astacidea, Palinura, Anomura y Brachyura, estaban constituidos por una punta anterior, un acrosoma, una región subacrosomal y el núcleo. En camarones carideos, los espermatozoos no cuentan con una región acrosomal, por lo que la penetración del ovulo la hacen a través de la punta anterior (Lynn y Clark, 1983 y Chow y Sandifer, 2001).

De forma general, el proceso de fecundación en camarones peneidos puede resumirse de la siguiente forma:

Activación. Puesto que la fertilización es un proceso de activación entre ambos gametos (Rojas y Alfaro, 2007), la activación o preparación de ambos se da durante los primeros 60 segundos al contacto con el agua. En el caso del huevo, las barras corticales (la corona radiada) emergen del huevo sobre la capa vitelina. Esta corona desaparece formando una capa gelatinosa alrededor del huevo ya fecundado.

Capacitación. Los espermatozoos contenidos en el espermatóforo colocado en el túbulo de la hembra no pueden fecundar oocitos secundarios sin antes pasar por un proceso de activación o capacitación, que ocurre en el agua, donde una serie de enzimas eliminan o diluyen las

glucoproteínas de la superficie del acrosoma, aunque Rojas y Alfaro (2007) mencionan que el receptáculo de la hembra proporciona una preparación primaria al enlace del espermatozoo con el huevo. Una vez capacitado, el espermatozoo puede pasar a través de la corona radiada, cuya dispersión de células es resultado de la acción que ejercen las enzimas liberadas por el acrosoma del espermatozoo.

Reacción acrosómica. Cuando el espermatozoo capacitado entra en contacto con la corona radiada o membrana externa, el acrosoma sufre cambios que le producen perforaciones, lo que es conocido como reacción acrosómica (Wallis et al., 1995), que se relaciona con la liberación de enzimas, como la hialuronidasa, que disocian a las células foliculares de la corona radiada. Posteriormente, se liberan otras enzimas del acrosoma, e.g., acrosina, que rompen la zona pelúcida a través de la cual el espermatozoo se dirige al ovulo. El espermatozoo entra en contacto con el óvulo aproximadamente 10 minutos después del desove.

Reacción cortical. Al contacto con el espermatozoo ocurre la reacción cortical o de zona, por efecto de la liberación de los gránulos corticales, que hace que la membrana del ovocito se torne impermeable para otros espermatozoides.

El oocito secundario reanuda su división meiótica y una de las células hijas no recibe citoplasma y se denomina segundo cuerpo polar, la otra célula u ovocito definitivo dispone sus cromosomas en un núcleo vesicular denominado pronúcleo femenino, y por último, se produce la activación metabólica del huevo, aproximadamente 20 minutos después del desove.

El espermatozoo entra al citoplasma del óvulo donde se agranda y es llamado pronúcleo masculino. Finalmente, el pronúcleo femenino y el masculino establecen contacto y pierden sus envolturas nucleares, se ubican en el ecuador y se inicia una división mitótica, cuya metafase recibe el nombre de anfimixis, restableciendo el número diploide de la especie. Ahora, la nueva célula diploide es llamada cigoto u ovocito ya fecundado. Este estado dura muy poco tiempo por la inestabilidad del ácido desoxirribonucleico, que pronto inicia la formación de blastómeros. El cigoto está constituido por el citoplasma, plasma formativo o

idioplasma, vitelo, plasma nutritivo o deutoplasma y núcleos femeninos y masculinos o pronúcleos.

Luego de aproximadamente 40 minutos después del desove, se inicia la segunda fase embriológica llamada segmentación, con la primera división celular que da lugar a dos células hijas denominadas blastómeros. La segmentación es la repetida división por mitosis del óvulo fecundado, donde cada una de estas células recibe una serie completa de cromosomas que le corresponde según la especie en 2, 4, 8, 16, 32, 64, y 128 células, hasta llegar al estado de blástula, dando lugar a numerosos blastómeros. Puede ser, según la participación de todo el vitelo o la distinción en formativo y nutritivo, total o parcial; la primera puede ser igual o desigual, y la segunda discoidal o superficial. En el caso de los peneidos, la primera es desigual y la segunda superficial, ya que la cantidad grande de vitelo conduce a un retardo en las divisiones celulares en el polo vegetativo del embrión. De forma general, en la segmentación se distingue la formación de blastómeros y de la fase de mórula, a partir de la cuarta división y llamada así por la semejanza con una mora, 1 hora y 30 minutos después del desove (Primavera y Posadas, 1981). Cuando se ha formado la mórula se produce un aumento de tamaño, adoptándose la forma de una pelota. Los blastómeros han emigrado hacia la periferia, quedando un hueco en el centro o blastocele, lleno de líquido o líquido blastocélico, producido por los mismos blastómeros a través de entrada de líquido externo. El blastocele o cavidad primaria nunca está en contacto con el exterior. A esta fase se le llama blástula (primeras fases del desarrollo embrionario), seguido posteriormente por la gastrulación, proceso de formación de la gástrula, donde ocurre la formación del endodermo y el mesodermo. La gástrula comprende una invaginación o embolia, que es la forma ordinaria de la gastrulación de la blástula, consistente en que una parte de la misma se introduce en la otra, como sucede cuando se comprime una pelota de goma pinchada hasta formar con ella un casquete hemisférico, la parte que queda fuera es el ectodermo de la gástrula, y la parte invaginada el endodermo. Algunos animales, como los celentéreos, terminan su desarrollo en esta fase, carecen por tanto, de cavidad general o celoma, que es una cavidad o cavidades mesodérmicas, y son los acelomados diploblásticos, con sólo dos capas blastodérmicas. En los anélidos, equinodermos y cordados, el celoma es la cavidad donde se halla el tubo digestivo,

mientras que en los crustáceos y moluscos se halla reducido a las cavidades de las gónadas y del aparato excretor. Posterior a esto, ocurre la organogénesis, que es la formación de los esbozos de órganos y diferenciación de los mismos. Terminado el desarrollo embrionario, el animal eclosiona y surge al exterior.

I.5.- Hibridación interespecífica en acuicultura.

La hibridación interespecífica es el apareamiento entre individuos o grupos genéticamente diferenciados y puede implicar cruzas de organismos con géneros o especies diferentes (Bartley et al., 2001).

Uno de los mayores atractivos del empleo de esta técnica en acuicultura es que puede obtenerse una descendencia de organismos con rasgos específicos deseables, con un funcionamiento y desempeño productivo superior al que suelen presentar por separado las especies que les dieron origen, el denominado vigor híbrido o heterosis positiva. Ejemplos de estos rasgos son mayor crecimiento y mejor tolerancia ambiental. Además, la hibridación interespecífica también puede ser usada para transferir otras características deseables, e.g., la resistencia a enfermedades de un grupo o especie al otro y buena calidad de carne. Características no menos importantes a menudo observadas tras la aplicación de esa técnica son la producción de individuos estériles, así como la manipulación de las proporciones sexuales, características todas ellas con aprovechamiento potencial en acuicultura (Bartley et al., 2001 y Dunham et al., 2000).

Un ejemplo exitoso de hibridación interespecífica está constituido por la perca híbrida listada en EE.U.U., producto de la hibridación de la hembra de *Morone chrysops*, que es un pez de agua dulce miembro de la familia de las percas marinas, y el macho de *M. saxatilis*, una perca marina que migra a ríos y lagos en época de desove. Esta cruce produce la perca híbrida listada, también denominada “Sunshine bass”, que se diferencia de uno de sus padres por la línea lateral quebrada que corre a lo largo del cuerpo. La perca híbrida listada es un pez con gran tolerancia a condiciones extremas de temperatura y de oxígeno disuelto, no observada en sus padres, haciéndola más apta para el cultivo. Por esa razón, la perca híbrida listada ocupa la

cuarta posición más valiosa en cuanto a producción acuícola en el mercado actual de los EE.UU, lo que no ha sido logrado con la cruce híbrida recíproca llamada Palmetto, i.e., macho *M. crysops* x hembra *M. saxiltilis*, o con las especies puras de forma separada (Smith,1988; Cotter et al., 2008).

Otro organismo donde la hibridación interespecífica ha aportado avances importantes en acuicultura es la tilapia. Este en un término genérico que ha sido designado a un grupo de peces comercialmente importantes de la familia Cichlidae (Fryer y Iles, 1972; Cnaani et al., 2000). Este grupo de cultivo es el segundo a nivel mundial, siendo China el principal productor, con 897,276 toneladas en 2004, seguida por Egipto y Filipinas con 199,038 y 145,869 toneladas, respectivamente (FAO, 2006a). Estos peces han sido introducidos a muchos países, por lo que ahora se cultiva en todo el mundo (Bartley et al., 2001). En los Estados Unidos, el cultivo comercial de tilapia se concentra en Arizona, California y Florida, donde una producción importante de híbridos actualmente constituye la mayor parte de la producción comercial. La hibridación ha sido dirigida básicamente a la producción de poblaciones mono sexo, con individuos machos únicamente, ya que éstos crecen más que las hembras y se evita la reproducción no deseada en los cultivos. Por otra parte, ha sido posible comprobar el vigor híbrido o heterosis positiva para las siguientes cruces: *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, en la que toda la descendencia son machos fértiles, con mayor tolerancia al frío y a salinidad alta (Lahav y Lahav, 1990; Rosenstein y Hulata, 1993; Wohlfarth, 1994); *O. urolepis hornorum* x *O. mossambicus*, que originó tilapia roja con tolerancia importante a la salinidad (Head et al., 1994) y *O. mossambicus* x *O. niloticus*, también tilapia de color rojo y con algunas variantes de colores con tolerancia a la salinidad y mayor crecimiento (Lim et al., 1993).

Un ejemplo más de hibridación interespecífica exitosa es el del bagre en EE.UU., en el que el bagre híbrido, producto de la cruce entre la hembra del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) y el macho del pez gato azul (*I. furcatus*), presenta mayores rendimientos que los obtenidos en cultivos tradicionales de las especies puras por separado. En los organismos híbridos, el porcentaje de carne, sin cabeza y sin vísceras, es más alto que en el bagre de canal y que en el pez gato azul. Con base en estos datos, que confirman la heterosis positiva con

respecto a este rasgo, los productores en los últimos años han incrementado sus producciones con el uso de bagres híbridos (Argue et al., 2003). En otros trabajos, Dunham (1987), Dunham y Smitherman, (1983) y Dunham et al. (1990) encontraron, con esta misma cruce, híbridos con mayor crecimiento en altas densidades de cultivo, buena resistencia a las enfermedades y tolerancia a niveles bajos de oxígeno.

En Tailandia, el pez gato híbrido africano Thai (*Clarias gariepinus* x *C. macrocephalus*) es usado extensamente, ya que combina aspectos muy deseables de su carne con excelente crecimiento (Suresh, 1991). En Asia, por último, el pez gato gigante híbrido, producto de la cruce de *Pangasiodon gigas* y *Pangasius sawitsongai*, presenta heterosis positiva al crecimiento en los cultivos y es usado para satisfacer la demanda y disminuir la presión de pesca que se ejerce sobre el pez gato gigante nativo, que actualmente se encuentra en peligro de extinción en el río Mekong en Tailandia.

I.6.- Hibridación interespecífica en camarones peneidos.

En el caso de camarones peneidos, se han realizado pocos intentos de producir híbridos, debido, en gran parte, al limitado control del apareamiento y la reproducción de estos organismos (Hedgecock, 1987; Benzie, 1991; Lawrence et al., 1984; Lin et al., 1988 y Bray et al., 1990), en comparación con peces y moluscos, que pueden ser más manejables. A pesar de ello, se ha abordado la hibridación interespecífica de algunos camarones peneidos comercialmente importantes (Benzie, 1998 y Redon et al., 1997). La primera hibridación exitosa de dos especies de camarones peneidos, *L. stylirostris* x *L. setiferus*, fue reportada por Lawrence et al. (1984). A este estudio le siguió el de Bray et al. (1990), quienes pudieron obtener híbridos de *L. setiferus* x *L. schmitti*. De manera interesante, se demostró la presencia de ova y esperma maduros en estos híbridos. Lamentablemente, no se observó maduración sexual ni apareamiento de hembras híbridas a las que se les aplicó oculotomía. Por su parte, Lin et al. (1988) realizaron cruces recíprocas de *P. monodon* x *P. penicillatus*, obteniendo híbridos que, sin embargo, tuvieron porcentajes de desove, eclosión y supervivencia larval más bajos que los observados en las cruces entre una misma especie (cruzas intraespecíficas)

(Benzie et al., 1995). Heterosis positiva o vigor híbrido fue reportado por Benzie et al. (1995, 2001) para la cruce de *P. monodon* x *P. esculentus*. Los híbridos producto de las cruces recíprocas registraron mayor crecimiento que el de las formas parentales, situación de gran interés para productores e investigadores. Otros autores también han evaluado la hibridación de otras especies (Tabla I).

Tabla I.- Hibridación interespecífica en camarones peneidos.

Cruza	Fuente
<i>Litopenaeus setiferus</i> x <i>L. stylirostris</i>	Lawrence et al. (1984)
<i>L. setiferus</i> x <i>L. Schmitti</i>	Bray et al.(1990)
<i>Fenneropenaeus penicillatus</i> x <i>F. chinensis</i>	Ting et al. (1991)
<i>Penaeus monodon</i> x <i>F. chinensis</i>	Ting et al. (1991)
<i>F. penicillatus</i> x <i>F. indicus</i>	Ting et al. (1991)
<i>P. monodon</i> x <i>P. esculentus</i>	Benzie et al. (1995)
<i>P. kerathurus</i> x <i>Marsupenaeus japonicus</i>	Redon et al. (1997)
<i>L. vannamei</i> x <i>L. Setiferus</i>	Misamore y Browdy (1997)

Fuente: Redon et al. (1997)

I.7.-Justificación.

La elección de especies utilizadas en experimentos de hibridación interespecífica de camarones peneidos se ha basado en criterios tales como facilidad de cultivo, alta fecundidad y rápido crecimiento, entre otros (Maguire y Allan, 1992; Dall et al., 1990; Redon et al., 1997). En el caso del presente estudio, como se ha indicado anteriormente, el cultivo comercial de camarón en nuestro país se ha sustentado en dos especies, *L. stylirostris*, precursor en esta actividad y que se caracteriza por su rápido crecimiento y por alcanzar grandes tallas, pero que es altamente susceptible a IHHNV (FAO, 2006c), razón por la que fue sucedida por *L. vannamei*, especie más resistente a enfermedades y que tolera mucho mejor las condiciones de cultivo comercial y una relativamente menor calidad de agua. En la actualidad, *L. vannamei* no solo es la principal especie de cultivo comercial en el continente americano,

sino que por sus características deseables, ha sido introducida con tal éxito a diversos países asiáticos, que la producción de esta especie en China, por ejemplo, supera la lograda por todos los países latinoamericanos juntos (Rosenberry, 2005). Ambas especies son nativas de nuestras costas del Océano Pacífico, con hábitat y distribución muy similares, desde el Golfo de California hasta el Perú (Instituto Nacional de Pesca, 2001), donde se encuentran disponibles prácticamente todo el año (Sagarpa, 2006). Son especies de télico abierto pertenecientes al mismo género, cuyas estructuras del espermatóforo y télico son muy parecidas, con solo algunas diferencias anatómicas externas (Perez Farfante y Kensley, 1997). Ambas especies emplean estrategias reproductivas similares no solo en cuanto al comportamiento de apareamiento, sino también con respecto a la época de maduración, apareamiento, desove y abundancia relativa de postlarvas, que ocurre de abril a septiembre en ambos casos (Sagarpa, 2004, 2006). No menos importante es el hecho de que, de acuerdo con las investigaciones de Benzie (1998), Gutiérrez-Millán et al. (2002) y Arenas et al. (2003) las distancias genéticas entre estas especies son cortas.

Tomando en cuenta este cúmulo de antecedentes, resulta interesante evaluar la factibilidad de hibridación entre estas dos especies, aspecto no abordado hasta la fecha. El interés en la producción de híbridos de estas especies a través de la inseminación artificial no es solo científico, sino también práctico, en función de la posibilidad de observación de las características más deseables de ambas especies en un solo organismo. De ser posible, tales hallazgos tendrían una contribución potencialmente significativa en el desarrollo de la camaronicultura.

II. OBJETIVOS.

II.1. Objetivo general.

Evaluar la factibilidad de hibridación de camarón blanco *L. vannamei* y camarón azul *L. stylirostris* mediante el método de inseminación artificial.

II.2- Objetivos particulares.

Para cumplir con el planteamiento general, se establecieron los siguientes objetivos particulares:

II.2.1. Realizar cruza interespecíficas entre machos de *L. stylirostris* y hembras de *L. vannamei*, así como las cruza recíprocas, i.e., entre machos de *L. vannamei* y hembras de *L. stylirostris*.

II.2.2. Evaluar los parámetros de desempeño reproductivo: número de hembras inseminadas por noche, porcentaje de hembras inseminadas por noche, porcentaje de desove, número de huevos desovados, número de huevos fertilizados, porcentaje de fertilización, porcentaje de eclosión y número de nauplios producidos.

III. MATERIAL Y MÉTODOS.

El presente estudio se llevó al cabo en la Unidad Experimental Kino (UEK) del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS), ubicada en Bahía de Kino, Sonora, México, en el período comprendido de noviembre de 2007 a abril de 2008.

III. 1.- Especies utilizadas.

Para la realización de esta investigación, se utilizaron reproductores de camarón azul *L. stylirostris* y camarón blanco del Pacífico *L. vannamei*. Los reproductores de *L. stylirostris* fueron organismos silvestres, 50 machos y 56 hembras, con un peso promedio de 47.8 ± 9.5 g, capturados en el sur de Bahía de Kino, entre San Nicolás y el Cardonal, a una profundidad entre 8 y 10 m. Para la colecta se utilizó una lancha con motor fuera de borda de 75 Hp, equipada con tanques y difusores de oxígeno.

Los reproductores de *L. vannamei* fueron organismos domésticos, 50 machos y 50 hembras con un peso promedio de 44.8 ± 4.8 g, obtenidos del laboratorio comercial de reproducción “El Camarón Dorado S.A de C.V”, ubicado en el estero Santa Bárbara, Huatabampo, Sonora, México.

III.2.- Transporte y aclimatación.

Para el transporte de ambas especies, se utilizaron tubos de cloruro de polivinilo (PVC) con una longitud de 30 cm cada uno, provistos con una serie de orificios a lo largo de los mismos y malla plástica mosquitera en los extremos que permitieron la entrada y salida de agua para un adecuado suministro de oxígeno para los camarones. Los organismos se colocaron individualmente en los tubos para garantizar un manejo más adecuado y menos estrés. En el caso de *L. stylirostris*, los organismos transportados se seleccionaron entre aquellos individuos capturados que tenían apariencia saludable. Para su transporte se utilizaron

3 botes de plástico con capacidad de aproximadamente 200 L c/u, con recambio constante de agua, en los que se llevaron a la UEK para su aclimatación.

Para los organismos de *L. vannamei*, el transporte a la UEK se realizó en un tanque de plástico con capacidad de 750 L con revestimiento térmico a base de poliuretano y provisto con inyección de oxígeno y aireación a través de un compresor de 12 volts. La temperatura fue mantenida entre 20 y 22 °C mediante la adición de hielo.

La aclimatación de ambas especies se hizo directamente en dos tanques de maduración utilizados para la ejecución del presente estudio, colocados dentro de un invernadero. Las medidas del invernadero fueron: longitud total de 9 metros por 6 metros de ancho y 5 metros de alto, forrado con hule transparente de invernadero (Grosor # 47, Qualyplast, Culiacán, México). El interior del invernadero fue cubierto con polietileno negro con el fin mantener los tanques en penumbra, requisito indispensable para el proceso de maduración de los organismos (Chamberlain y Lawrence, 1981, Wyban y Sweeney, 1991). Se asignó un tanque de maduración para cada especie, cada uno se dividió en dos partes iguales mediante una separación de malla plástica con el fin de mantener separados machos y hembras. Los tanques utilizados para la maduración fueron de fibra de vidrio y de forma ovalada, las dimensiones de cada tanque fueron: 8 metros de largo, 1.25 metros de ancho y 1 metro de profundidad, con capacidad de 10,000 L cada uno (Fig. 1). Durante la aclimatación, según la especie, se agregó agua del tanque de maduración correspondiente al tanque donde se transportaron los organismos, de tal modo que el cambio de temperatura fue de 1.5 a 2 °C/hr hasta que las temperaturas de los tanques se igualaron. Enseguida, aún en los tubos individuales de transporte, los organismos fueron colocados al interior del tanque de maduración y minutos después, liberados tomando en cuenta la separación de sexos.

Durante el experimento, la temperatura del agua de los tanques de maduración fue mantenida aprovechando el calor producido por el efecto de invernadero y con apoyo de calentadores eléctricos sumergibles de 300 Watts (modelo RH 300W, marca Regent, Fujian, China). Se aplicó aireación a los tanques de maduración mediante un soplador de 1 HP (modelo VFC40, marca Fuji, Saddle Brook, Nueva Jersey, EE.UU.). El recambio diario de agua para ambos tanques fue del 100%, utilizando agua previamente filtrada a través de un

filtro de arena de 19" (modelo L-190-7, marca Jacuzzi, Little Rock, Arkansas, EE.UU.). El agua filtrada, fue finalmente esterilizada utilizando a una cámara de luz ultravioleta de 120 Watts, (modelo UV97, marca Rainbow Lifeguard, El Monte, California, EE.UU.). La temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en el agua de los tanques de maduración fueron registrados dos veces al día (08:00 y a las 18:00 hrs), utilizando un oxímetro de función múltiple (modelo Y85, marca YSI, Yellow Springs, Ohio, EE.UU.).

III.3.- Maduración de reproductores.

Una vez transcurridos diez días de haber sido aclimatados en los tanques de maduración, se dio inicio a la inducción de la maduración de los reproductores mediante la aplicación de oculotomía en hembras, así como del suministro de una dieta de maduración, como se explicará más adelante.

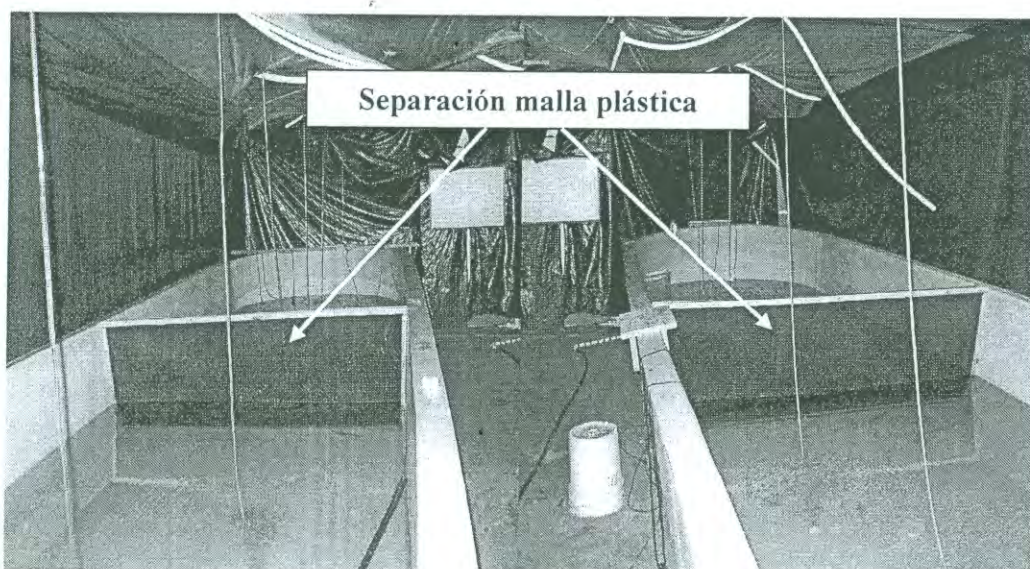


Figura.1. Tanques de fibra de vidrio con capacidad de 10,000 L con separación de malla plástica, utilizados para la maduración de los reproductores.

III.3.1.- Oculotomía.

Con el fin de inducir la maduración y considerando la teoría aceptada de que la hormona inhibidora de la gónada (GIH, por sus siglas en inglés), se encuentra en el tallo ocular (Bray y Lawrence, 1992), se practicó oculotomía, i.e., remoción del tallo ocular, del ojo derecho de todas las hembras de ambas especies (Fig. 2), utilizando una técnica de extirpación del ojo y cauterización simultánea del tallo ocular con un cautín eléctrico de 90 Watts (Marca Weller, Modelo SP80, China) (Bray y Lawrence, 1992). Se monitoreó la supervivencia de las hembras 2 y 5 días después de practicada esta técnica, así como al final del estudio.



Figura.2. Remoción del tallo ocular del ojo derecho practicado a hembras de ambas especies.

III.3.2.- Dieta de maduración.

Una vez practicada la oculotomía, los camarones de ambos sexos fueron alimentados con una dieta típica de maduración compuesta de organismos frescos y alimento balanceado comercial con un contenido de proteína de 40% (Camaronina, Agribrands Purina®, Ciudad Obregón, Sonora, México). Los organismos frescos utilizados fueron anélidos poliquetos (*Nereis virens*), calamar fresco (*Loligo* sp.) y almejas (*Argopecten circularis*), utilizados en proporción 50: 25: 25, respectivamente. Los organismos frescos representaron el 75% de la ración total diaria, mientras que el alimento balanceado comercial constituyó el 25% restante. Los camarones fueron alimentados a una tasa diaria de 20 a 25% de la biomasa total de su peso húmedo, ración administrada en dos porciones, la primera a las 08:00 hrs y la segunda a las 16:00 hrs.

III.4.- Tratamientos experimentales.

III.4.1.- Cruzas intraespecíficas.

Se adoptó la siguiente notación para la descripción de las distintas cruzas realizadas.

♂LV: macho de *L. vannamei*.

♀LV: hembra de *L. vannamei*.

♂LS: macho de *L. stylirostris*.

♀LS: hembra de *L. stylirostris*.

Se realizaron cruzas entre machos y hembras de una misma especie, i.e., cruzas intraespecíficas, para dar lugar a dos tratamientos control, siguiendo la técnica de inseminación artificial (ver **III.5.- Inseminación artificial**) y utilizando los espermátóforos izquierdo y derecho (espermátóforo compuesto) de un solo macho.

1) ♂LS x ♀LS

2) ♂LV x ♀LV

III.4.2.- Cruzas interespecíficas.

Para la obtención de los híbridos propiamente dichos, se realizaron cruzas entre organismos de especies distintas, i.e., cruzas interespecíficas, para dar lugar a los tratamientos:

3) ♂LV x ♀LS y

4) ♂LS x ♀LV.

Con el propósito de aumentar las posibilidades de éxito de hibridación, se incluyeron las siguientes modalidades:

a) Hembras inseminadas con el espermátforo compuesto de un solo macho.

b) Hembras inseminadas con los espermátforos compuestos de dos machos.

c) Esperma homogenizado. En este caso, la hembra fue inseminada con el espermátforo compuesto de un macho y, 2.5 horas después de haber sido transferida a un tanque de desove (ver **III.6.- Desove**), se agregó a la columna de agua de dicho tanque el espermátforo compuesto de otro macho, el cual fue homogenizado en un macerador de tejido de 3 ml (modelo 7725-13, marca Pyrex, Lowell, Massachusetts, EE.UU.), de acuerdo con el método descrito por Leung-Trujillo y Lawrence (1987). El tiempo de espera de 2.5 horas antes de la adición del esperma homogenizado a la columna de agua del tanque de desove es una estimación del tiempo en que una hembra de *L. vannamei* en cautiverio generalmente tarda en liberar sus huevos después de la inseminación (Bray y Lawrence, 1992; Pérez-Velázquez, comunicación personal¹). Por tanto, el propósito de este procedimiento fue maximizar la presencia de esperma en el momento de la ovoposición.

d) Hembras que anteriormente fueron inseminadas en cruzas intraespecíficas y que produjeron nauplios viables. En esta modalidad, se utilizaron hembras que anteriormente habían sido inseminadas con machos de su misma especie, i.e., en cruzas intraespecíficas, y que produjeron nauplios viables. Estas hembras fueron subsecuentemente utilizadas en cruzas interespecíficas, siendo inseminadas con el espermátforo compuesto de un macho, y además, recibiendo el esperma homogenizado de otro macho en el tanque de desove como se indicó en el inciso (c). La intención de esta modalidad de hibridación fue la de asegurar la competencia reproductiva de las hembras utilizadas.

1. Pérez-Velázquez. 2008. D.I.C.T.U.S. Apartado Postal 1819, Hermosillo, Sonora, México.

III.5.- Inseminación artificial.

Una vez alcanzada la madurez sexual de ambas especies, se seleccionaron organismos con un estadio de desarrollo gonadal IV, de acuerdo a lo descrito por Brown y Patlan (1974) y Silas (1978), para aplicárseles inseminación artificial.

Este proceso consistió en la extirpación manual del espermatóforo compuesto (lado izquierdo y derecho) de un macho (o de dos, según la modalidad de inseminación descritas en el capítulo: **III.4.2 Cruzas interespecíficas**), que se colocó sobre el télico de la hembra madura seleccionada, de acuerdo con lo descrito por Misamore y Browdy (1997) y por Bray et al. (1990).

Con el fin de mantener un control y seguimiento adecuado de las cruzas y desoves, hembras y machos se marcaron con un anillo plástico numerado, que se colocó en el pedúnculo ocular izquierdo de cada organismo.

La inseminación artificial se llevó al cabo entre las 19:00 y 19:30 hrs, hora crepuscular en la época del año en que se realizó el presente estudio, y tuvo una duración de 56 días a partir del momento en que se practicó la oculotomía de hembras hasta la evaluación del desempeño reproductivo de la última craza realizada.

III.6.- Desove.

Inmediatamente después de la inseminación, las hembras fueron transferidas a tanques individuales de desove en el Laboratorio Húmedo de Nutrición y Biotecnología Acuícolas de la UEK. Los tanques de desove, con capacidad de 250 L cada uno, fueron clasificados para recibir las diferentes cruzas.

A cada tanque de desove se agregaron 200 L de agua de mar, previamente filtrada y esterilizada, tal y como fue tratada para llenar los tanques de maduración (ver **III.2.- Transporte y aclimatación**). Los tanques de desove se acondicionaron con aireación suave utilizando un soplador de 1 HP (modelo VFC40, marca Fuji, Saddle Brook, Nueva Jersey, EE.UU), se agregó ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) a una concentración de 10 mg/L

como agente quelante de metales pesados posiblemente presentes en el agua de cultivo (Bray y Lawrence, 1992), así como Trifluralin (Treflan) a una concentración de 10 µg/L con el fin de evitar infecciones causadas por hongos. En estos tanques y por estar en un área al interior, la temperatura fue mantenida con el apoyo de calentadores eléctricos ambientales que variaron de 600 a 1500 Watts (modelo HO301, marca Home Essentials, China).

III.6.1.- Colecta de nauplios.

A la mañana siguiente al desove, las hembras fueron regresadas a sus tanques de origen. La colecta de los nauplios se realizó entre 14 y 16 horas después del desove utilizando un sifón (manguera transparente de ½”) y colectándolos en una cubeta de plástico 20 L de capacidad a la que se le hicieron dos aperturas de forma rectangular en los costados y que se cubrieron con malla con luz de 100 µm para filtrar el agua. Los nauplios fueron contados de forma volumétrica y observados en un microscopio óptico.

III.7.- Larvicultura.

III.7.1.- Siembra de nauplios en tanques de cultivo larvario.

Los nauplios fueron sembrados en tanques de plástico iguales a los utilizados como tanques de desove (250 L de capacidad), ubicados dentro del Laboratorio Húmedo de Nutrición y Biotecnología Acuícolas, a los que se les agregó agua de mar filtrada (mecánica y biológicamente) y esterilizada. La temperatura del agua fue mantenida con calentadores eléctricos ambientales como los utilizados durante los desoves. La densidad de siembra en los tanques de cultivo larvario fue de 100 nauplios/L, con un volumen inicial de 100 L, que fue aumentando de forma paulatina según el desarrollo de las larvas. Para la alimentación larvaria, antes de la siembra fueron inoculadas en los tanques dos tipos de microalga: *Chaetoceros muelleri* (60,000 células/ml) e *Isochrysis galbana* (10,000 células/ml). Mediante inoculaciones diarias, estas densidades fueron mantenidas constantes durante el cultivo hasta que los organismos alcanzaron el estadio MIII. Cada tanque se equipó con lámparas de luz blanca

como apoyo para el desarrollo de las microalgas. Las larvas recibieron, además, alimento microencapsulado y nauplios vivos de *Artemia* sp. (Marca Salt Creek[®], Salt Creek, Inc., Salt Lake City, Utah, EE.UU.).

La alimentación se realizó de la siguiente manera. Del estadio de Z1 a M1, fueron alimentados simultáneamente con dos tipos de alimento microencapsulado: Progresión 1 y Microfeast[®] PZ-20, en proporción de 50% cada uno. Ambos alimentos tuvieron 45% de contenido proteico y un tamaño de partícula entre 5 y 20 μm . El alimento larvario se suministró dos veces por día (08:00 y 16:00 hrs), a razón de 4 g de alimento por tonelada de agua por día, para una densidad de siembra de 100 larvas/L. Del estadio larvario Z3 al estadio PL1, también se alimentó con dos tipos de alimento microencapsulado: Progresión 2 y Microfeast[®] MY-100 (en proporción de 50% cada uno), ambos con un 50% de proteína y un tamaño de partícula entre 50 y 100 μm . Estos alimentos se suministraron dos veces por día (08:00 y 16:00 hrs), a razón de 6 g de alimento por tonelada de agua por día (densidad de siembra de 100 larvas/L). Para los estadios larvarios M3 a PL5, se alimentó como en los dos casos anteriores, con dos tipos de alimento microencapsulado: Progresión 3 y Microfeast PL-200, en proporción de 50% cada uno, ambos con un 50% de proteína y un tamaño de partícula de 100 a 250 μm . Al igual que en los casos anteriores, fueron suministrados en dos ocasiones durante el día (08:00 y 16:00 hrs), a razón de 10 g por tonelada de agua por día (misma densidad de siembra anterior). La alimentación con nauplios vivos de *Artemia* sp. fue a partir del estadio MIII y hasta el estadio PL5, dos veces por día (12:00 y 20:00 hrs), en proporción de 5 a 20 nauplios de *Artemia* sp. por larva por día.

III.8.- Desempeño Reproductivo.

El desempeño reproductivo de los organismos se realizó con base en los siguientes parámetros:

- 1) Número de hembras inseminadas por noche.
- 2) Porcentaje de hembras inseminadas por noche.

- 3) Porcentaje de desove. Es una estimación del grado en que una hembra ha vaciado sus ovarios tras la ovoposición.
- 4) Número de huevos desovados.
- 5) Número de huevos fertilizados.
- 6) Porcentaje de fertilización. Es el porcentaje de huevos fertilizados con respecto al total de huevos desovados.
- 7) Porcentaje de eclosión. Es el porcentaje de huevos que efectivamente hicieron eclosión con respecto al total de huevos desovados.
- 8) Número de nauplios.

III.9.- Detección de agentes patógenos.

En vista de que se ha reportado que tanto los organismos silvestres de *L. stylirostris* como los domésticos de *L. vannamei* pueden ser portadores del patógeno IHHNV, mismo que pudiera tener un efecto negativo sobre el desempeño reproductivo de los organismos, se realizó una prueba de detección de este virus en muestras de hemolinfa de tres organismos de cada especie. La detección se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), que se basa en la amplificación del ácido desoxirribonucleico (ADN) para identificar con muy alta probabilidad virus y bacterias (Arnheim y Erlich, 1992). Estos análisis se realizaron en el laboratorio del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) en Hermosillo, Sonora.

IV.- RESULTADOS.

IV.1.- Parámetros fisicoquímicos.

IV.1.1.- Tanques de maduración.

La temperatura, salinidad y oxígeno disuelto obtenidos en el tanque de maduración de *L. stylirostris*, presentados en la tabla II, fueron mantenidos entre 25.5 y 28.1°C (Fig. 3), 35.8 y 37.0 ‰ (Fig. 4) y entre 5.4 y 6.0 mg/l (Fig. 5), respectivamente.

Para *L. vannamei*, los valores de estos parámetros (Tabla III) se mantuvieron entre 26.6 y 28.7°C para la temperatura (Fig. 6), entre 35.8 y 37.1 ‰ para la salinidad (Fig. 7) y entre 5.5 y 6.0 mg/l para el oxígeno disuelto (Fig. 8).

Tabla II.- Valores promedio semanales (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en el tanque de maduración de *L. stylirostris*.

Semana	Temperatura (°C)	Salinidad (‰)	Oxígeno Disuelto (mg/L)
1	26.5 \pm 0.9	37.0 \pm 0.1	5.4 \pm 0.5
2	26.5 \pm 1.2	37.0 \pm 0.1	6.0 \pm 0.2
3	25.5 \pm 1.1	36.9 \pm 0.4	5.8 \pm 0.6
4	27.0 \pm 1.4	36.1 \pm 0.6	5.9 \pm 0.2
5	27.7 \pm 0.5	36.2 \pm 0.4	5.7 \pm 0.1
6	27.9 \pm 1.5	35.8 \pm 0.2	5.8 \pm 0.2
7	28.2 \pm 1.7	36.0 \pm 0.6	5.9 \pm 0.5
8	28.0 \pm 1.5	36.4 \pm 0.5	5.7 \pm 0.4
9	28.2 \pm 1.4	36.1 \pm 0.2	5.7 \pm 0.6
10	28.0 \pm 1.6	36.1 \pm 0.3	5.8 \pm 0.3
11	28.0 \pm 1.7	36.1 \pm 0.8	6.0 \pm 0.4

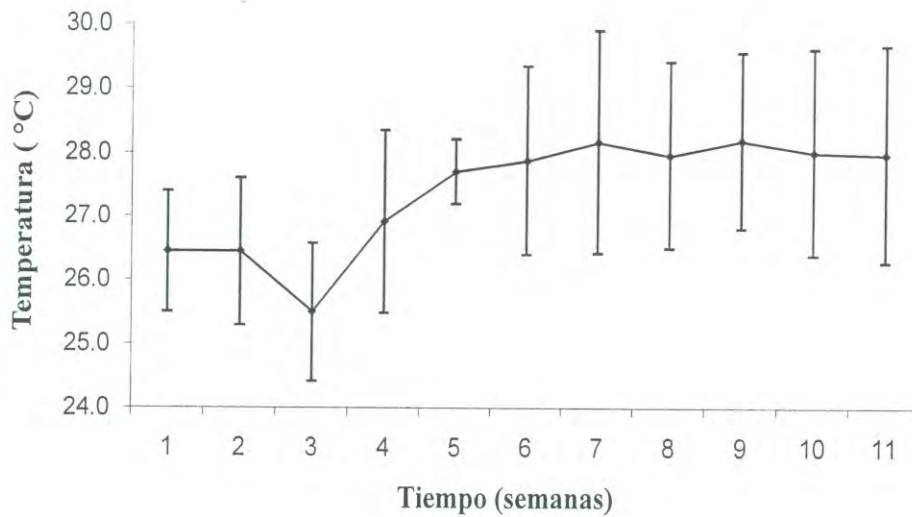


Figura 3. Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal de la temperatura en el tanque de maduración de *L. stylirostris* durante las 11 semanas del experimento.

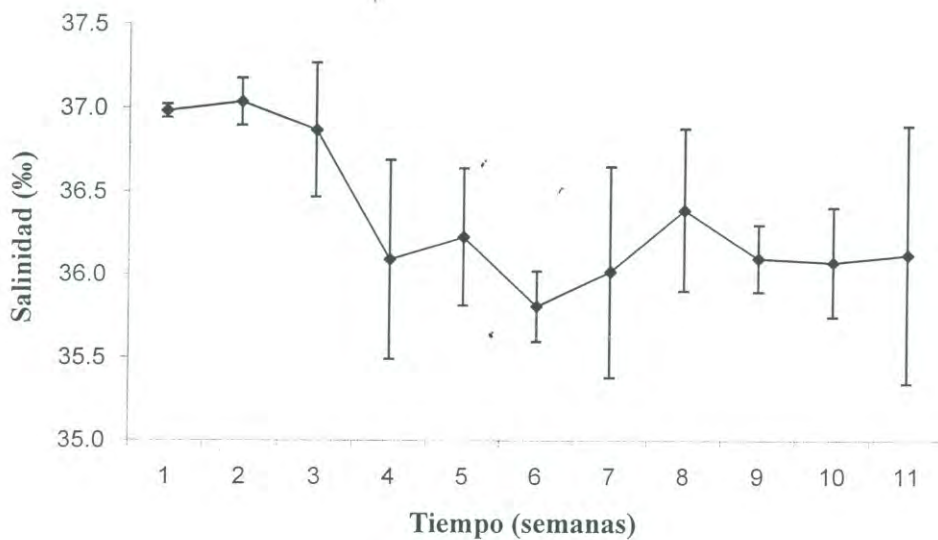


Figura 4. Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal de la salinidad en el tanque de maduración de *L. stylirostris* durante las 11 semanas del experimento.

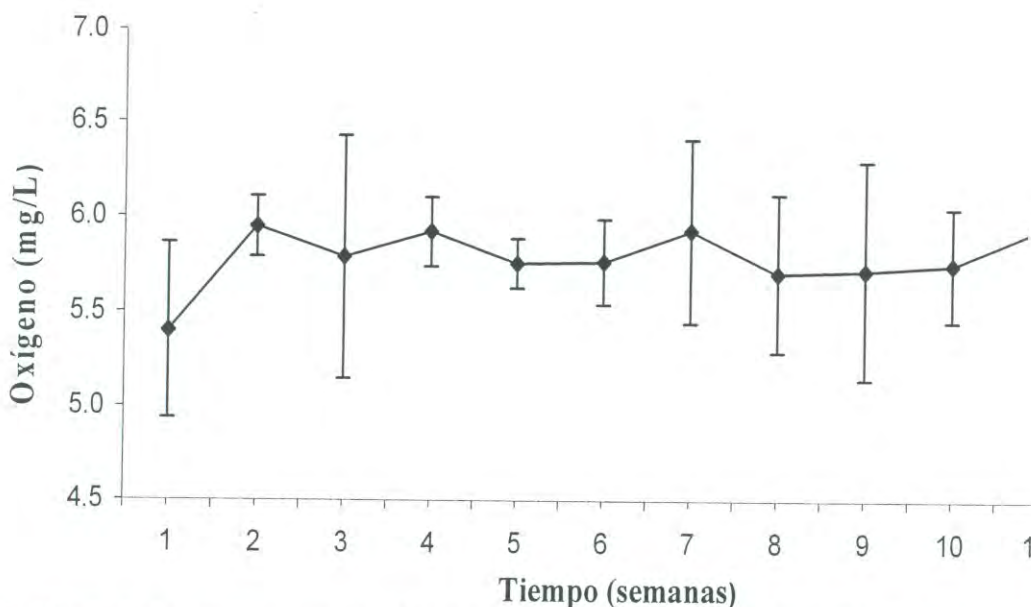


Figura 5. Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal del oxígeno disuelto en el tanque de maduración de *L. stylirostris* durante las 11 semanas del experimento.

Tabla III. Valores promedio semanales (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en el tanque de maduración de *L. vannamei*.

Semana	Temperatura (°C)	Salinidad (‰)	Oxígeno Disuelto (mg/L)
1	26.8 \pm 1.2	37.0 \pm 0.1	5.5 \pm 0.5
2	26.6 \pm 1.7	37.1 \pm 0.2	6.0 \pm 0.4
3	27.0 \pm 1.2	36.6 \pm 0.6	5.6 \pm 0.8
4	26.8 \pm 1.5	35.9 \pm 0.5	5.9 \pm 0.3
5	27.5 \pm 0.7	35.9 \pm 0.1	5.8 \pm 0.4
6	28.2 \pm 1.1	35.8 \pm 0.1	5.8 \pm 0.3
7	28.3 \pm 1.8	36.1 \pm 0.3	5.8 \pm 0.3
8	28.0 \pm 1.5	36.5 \pm 0.5	5.8 \pm 0.3
9	28.5 \pm 1.4	36.5 \pm 0.5	5.9 \pm 0.3
10	28.0 \pm 1.4	35.9 \pm 0.3	5.8 \pm 0.4
11	28.7 \pm 1.7	36.7 \pm 0.3	5.7 \pm 0.4

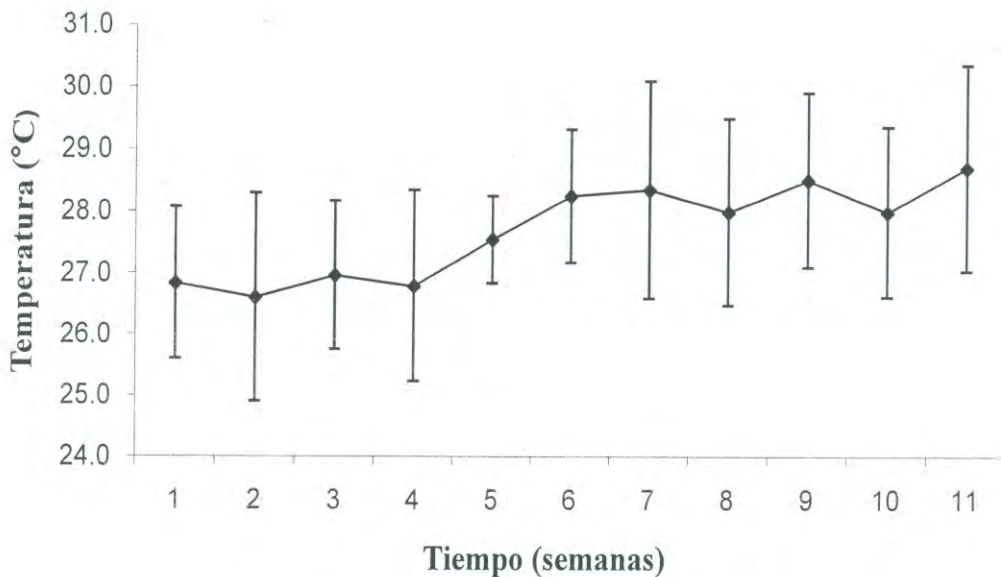


Figura 6. Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal de la temperatura en el tanque de maduración de *L. vannamei* durante las 11 semanas del experimento.

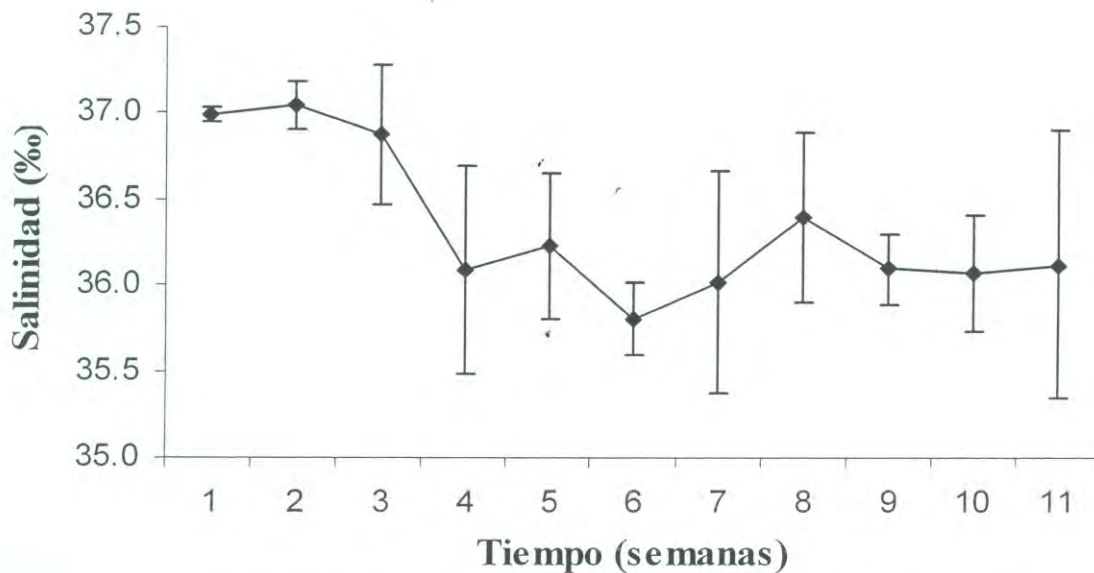


Figura 7. Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal de la salinidad en el tanque de maduración de *L. vannamei* durante las 11 semanas del experimento.

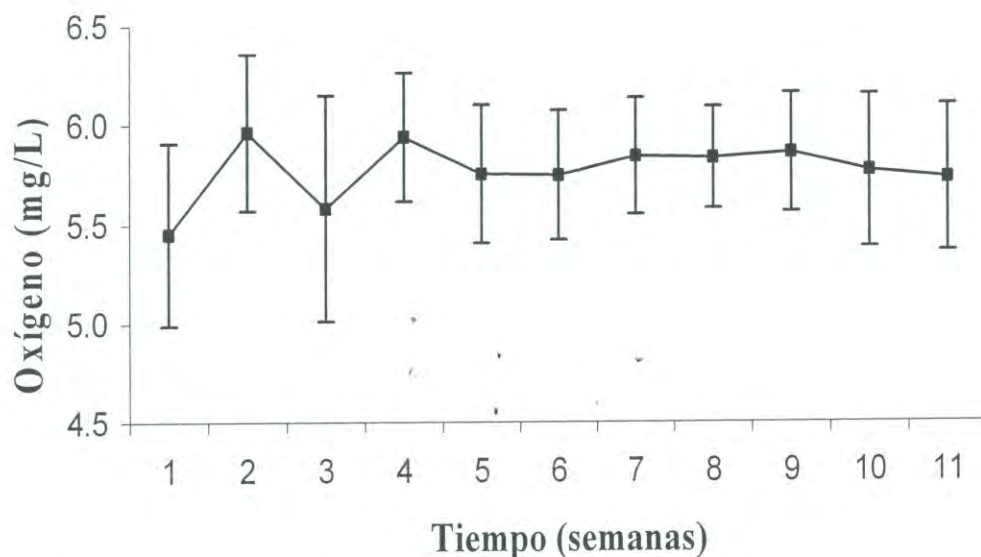


Figura 8. Comportamiento promedio (\pm d.e.) semanal del oxígeno disuelto en el tanque de maduración de *L. vannamei* durante las 11 semanas del experimento.

IV.1.2.- Tanques de desove.

Para los tanques de desove del primer tratamiento control, i.e., cruce intraespecífica ♂LS x ♀LS, la temperatura promedio varió de 28.2 a 29.0°C, mientras que la salinidad lo hizo de 35.3 a 35.8‰ y el oxígeno disuelto entre 4.5 y 5.3 mg/L (Tabla IV).

Para el segundo tratamiento control, cruce intraespecífica ♂LV x ♀LV, los valores de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto oscilaron entre 27.5 y 28.6°C, 35.2 y 35.7‰ y de 4.5 a 5.0 mg/L, respectivamente (Tabla V).

En los tanques de desove de la cruce híbrida (cruce interespecífica) ♂LV x ♀LS, la temperatura varió de 27.8 a 28.5°C, la salinidad 35.2 a 36.0‰ y el oxígeno disuelto de 4.4 a 4.9 mg/L (Tabla VI).

Finalmente, para la cruce híbrida, i.e., cruce interespecífica ♂LS x ♀LV, la temperatura fue mantenida entre 27.9 y 28.7°C, la salinidad entre 35.1 y 35.7‰ y el oxígeno disuelto entre 4.4 y 5.0 mg/L (Tabla VII).

IV.1.3.- Tanques de cultivo larvario.

En el tanque de cultivo larvario con camarón azul, proveniente de la cruce intraespecífica ♂LS x ♀LS, el valor promedio de la temperatura fue de $28.9 \pm 0.5^\circ\text{C}$, con un intervalo de variación de 27.5 a 29.5°C. El valor promedio de salinidad fue de $36.0 \pm 0.25\text{‰}$ y varió de 35.5 a 36.5‰, mientras que para el oxígeno disuelto el promedio fue de 5.5 ± 0.23 mg/L, con un intervalo de variación de 5.0 a 5.8 mg/L (Figs. 9, 10 y 11).

En el tanque de cultivo larvario de camarón blanco, con organismos de la cruce intraespecífica ♂LV x ♀LV, el valor promedio de la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto fueron de $29.2 \pm 0.9^\circ\text{C}$ (27.5-30.5°C), $36.4 \pm 0.5\text{‰}$ (35.5 y 37.0‰) y de $5.4 \text{ mg/L} \pm 0.4 \text{ mg/L}$, (4.9-6.0 mg/L) respectivamente (Figs. 12, 13 y 14). Estos valores son el resultado de mediciones diarias durante 15 días, periodo que fue mantenido el cultivo, cuando los organismos alcanzaron el estadio de PL5.

Tabla IV. Valores promedio (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en tanques de desove de la cruce intraespecífica ♂LS x ♀LS.

Tanque	Temperatura (°C)	Salinidad(‰)	Oxígeno Disuelto (mg/L)
6	28.7 ± 0.9	35.5 ± 0.4	4.7 ± 0.5
7	29.0 ± 0.5	35.3 ± 0.6	4.5 ± 0.5
8	28.2 ± 1.0	35.5 ± 0.5	4.6 ± 0.6
9	28.5 ± 0.1	35.8 ± 0.4	4.6 ± 0.8
10	28.3 ± 0.4	35.8 ± 0.2	5.3 ± 0.4

Tabla V. Valores promedio (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en tanques de desove de la craza intraespecífica ♂LV x ♀LV.

Tanque	Temperatura (°C)	Salinidad (‰)	Oxígeno Disuelto (mg/L)
16	27.9 \pm 0.8	35.7 \pm 0.6	5.0 \pm 0.2
17	28.6 \pm 0.1	35.5 \pm 0.5	4.9 \pm 0.2
18	28.3 \pm 0.9	35.2 \pm 0.3	4.9 \pm 0.4
18	27.5 \pm 0.7	35.5 \pm 0.7	4.5 \pm 0.7

Tabla VI. Valores promedio (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en tanques de desove de la craza interespecífica ♂LV x ♀LS.

Tanque	Temperatura (°C)	Salinidad (‰)	Oxígeno Disuelto (mg/L)
1	27.8 \pm 0.8	35.3 \pm 0.4	4.7 \pm 0.4
2	28.3 \pm 0.6	35.2 \pm 0.4	4.8 \pm 0.4
3	28.3 \pm 0.3	35.6 \pm 0.6	4.9 \pm 0.1
4	28.5 \pm 0.7	32.3 \pm 0.5	4.7 \pm 0.5
5	28.3 \pm 0.6	36.0 \pm 0.0	4.4 \pm 0.6

Tabla VII. Valores promedio (\pm d.e.) de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en tanques de desove de la craza interespecífica ♂LS x ♀LV.

Tanque	Temperatura (°C)	Salinidad (‰)	Oxígeno Disuelto (mg/L)
11	28.5 \pm 0.8	35.4 \pm 0.5	4.9 \pm 0.1
12	28.7 \pm 0.2	35.7 \pm 0.5	4.4 \pm 0.5
13	28.2 \pm 0.4	35.1 \pm 0.2	5.0 \pm 0.4
14	27.9 \pm 0.5	35.4 \pm 0.6	4.6 \pm 0.4

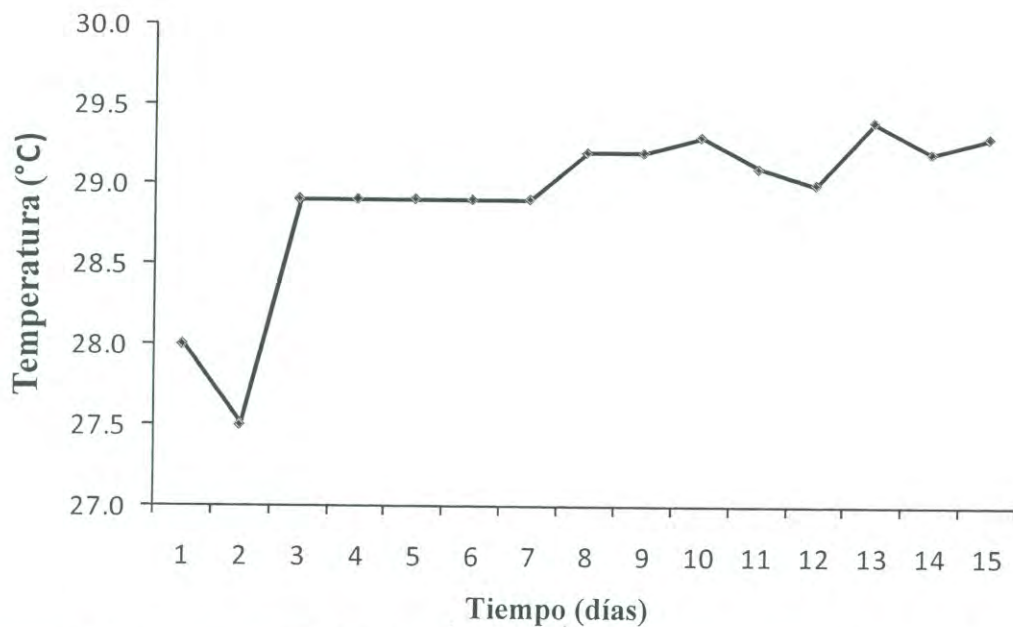


Figura 9. Comportamiento de la temperatura en tanques de cultivo larvario de *L. stylirostris* durante los 15 días de cultivo.

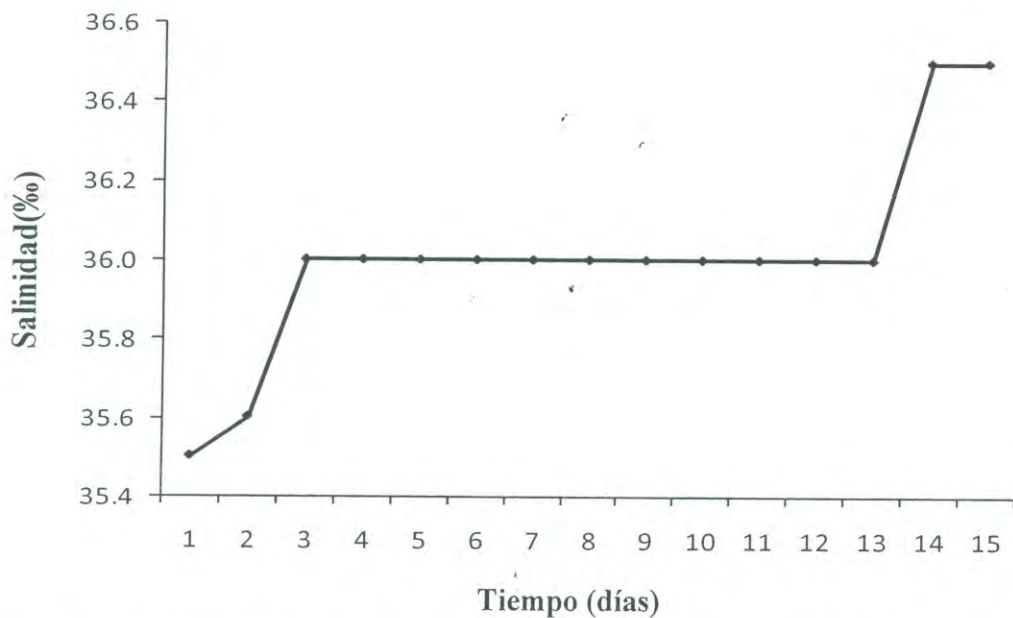


Figura 10. Comportamiento de la salinidad en tanques de cultivo larvario de *L. stylirostris* durante 15 días de cultivo.

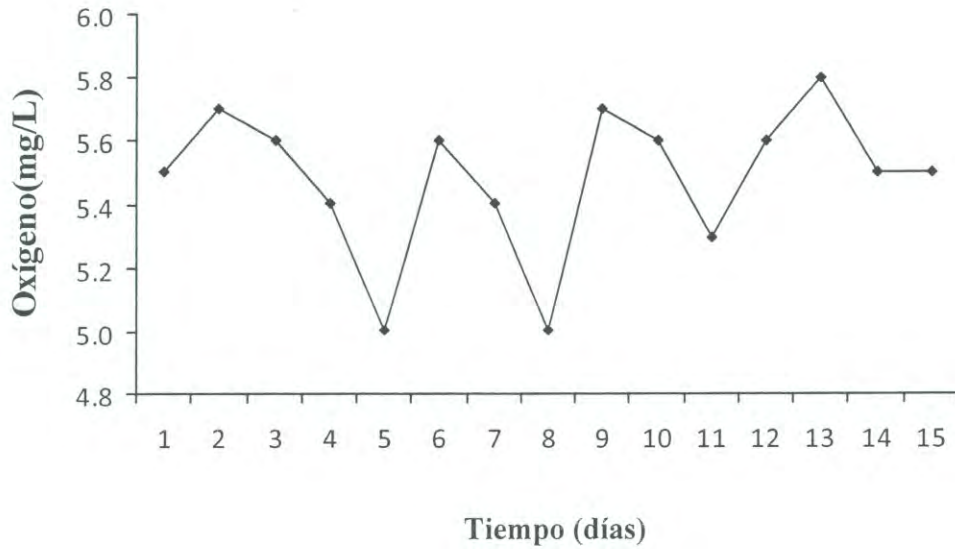


Figura 11. Comportamiento del oxígeno disuelto en tanques de cultivo larvario de *L. stylirostris* durante 15 días de cultivo.

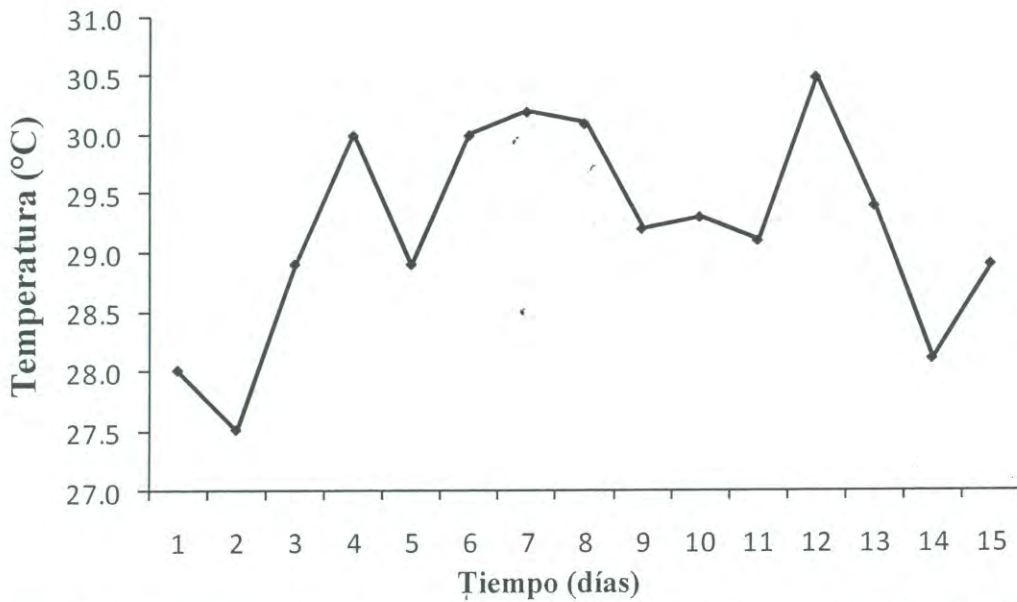


Figura 12. Comportamiento de la temperatura en tanques de cultivo larvario de *L. vannamei* durante 15 días de cultivo.

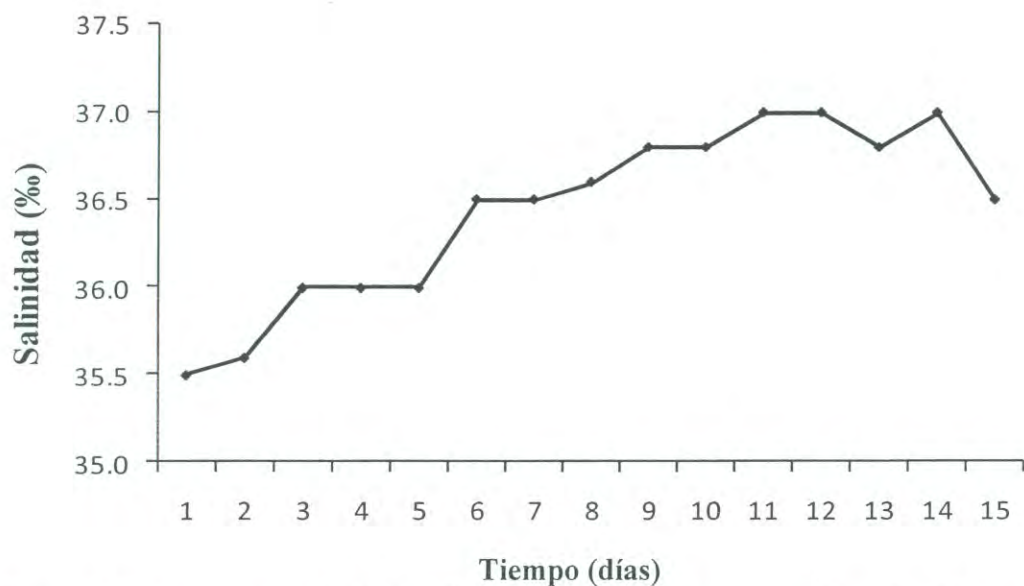


Figura 13. Comportamiento de la salinidad en tanques de cultivo larvario de *L. vannamei* durante los 15 días de cultivo.

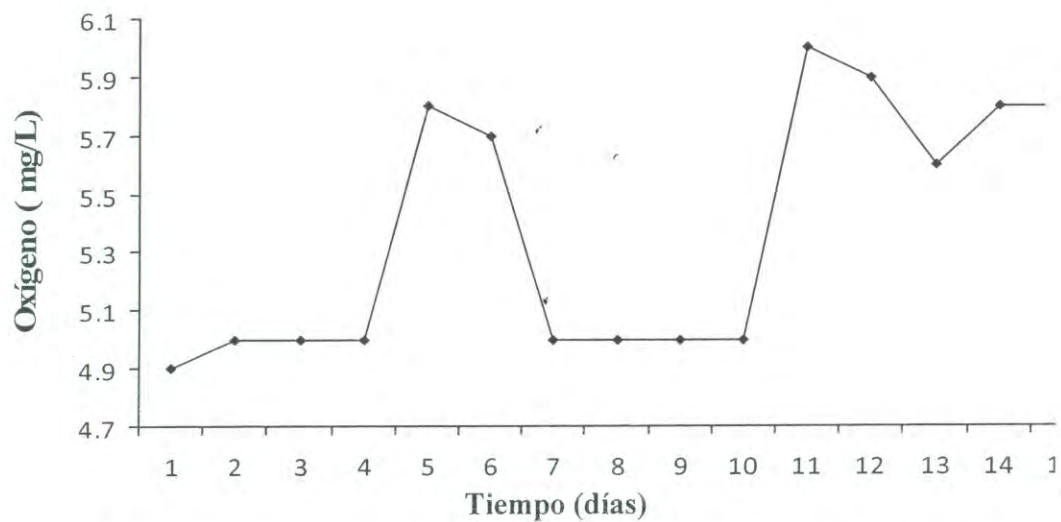


Figura 14. Comportamiento del oxígeno disuelto en tanques de cultivo larvario de *L. vannamei* durante los 15 días de cultivo.

IV.2 Oculotomía.

La oculotomía fue realizada a 56 hembras de *L. stylirostris* y a 50 de *L. vannamei*. No se observó mortalidad de hembras a los 2 y 5 días después de este procedimiento.

IV.3 Desempeño reproductivo.

El trabajo experimental de reproducción dio inicio con 50 machos y 56 hembras de *L. stylirostris*, y 50 machos y 50 hembras de *L. vannamei*. Para el final del estudio, sobrevivieron 9 machos y 23 hembras de *L. stylirostris* y 12 machos y 12 hembras de *L. vannamei*. Esto significa una mortalidad de 82% para los machos y 59% para las hembras de la primera especie y de 76% para las hembras y de 76% para los machos de la segunda especie.

El experimento de reproducción tuvo una duración de 56 días (6 de febrero al 1 de abril del 2008). Durante este tiempo, se realizaron 70 inseminaciones en total, de las que 14 y 12 correspondieron a las cruzas intraespecíficas control ♂LS x ♀LS y ♂LV x ♀LV, respectivamente. Para la obtención de híbridos, se realizaron 25 cruzas interespecíficas ♂LV x ♀LS y 19 cruzas interespecíficas ♂LS x ♀LV.

De acuerdo con la disposición de hembras con ovarios en estadio de desarrollo IV y machos maduros durante el desarrollo del experimento, se realizaron inseminaciones en 19 noches, lo que representó un promedio de 2.18 hembras inseminadas por noche para *L. stylirostris*, mientras que para *L. vannamei* este número fue de 1.67. Expresadas como porcentajes, estas cantidades representan 6.1 y 6.6% para *L. stylirostris* y *L. vannamei*, respectivamente (Tabla VIII).

Tabla VIII. Resultados de inseminación artificial de hembras de *L. stylirostris* y *L. vannamei* durante el desarrollo del experimento.

Fecha	<i>L. stylirostris</i>			<i>L. vannamei</i>		
	Total de hembras/tanque	Hembras inseminadas por noche	Hembras inseminadas por noche (%)*	Total de hembras/tanque	Hembras inseminadas por noche	Hembras inseminadas por noche (%)*
Feb-01-08	56	1	1.8	50	1	2.0
Feb-08-08	56	2	3.6	50	0	0.0
Feb-19-08	49	0	0.0	42	3	7.1
Feb-23-08	47	3	6.4	40	2	5.0
Feb-24-08	46	4	8.7	37	1	2.7
Feb-25-08	45	2	4.5	36	4	11.1
Feb-26-08	43	3	8.0	35	1	2.9
Feb-29-08	39	1	2.6	34	1	3.0
Mar-01-08	37	2	5.4	32	2	6.3
Mar-04-08	35	3	8.6	30	1	3.3
Mar-05-08	34	1	3.0	28	2	7.1
Mar-06-08	33	0	0.0	27	2	7.4
Mar-11-08	30	2	6.7	26	1	3.9
Mar-12-08	30	3	10.0	25	1	4.0
Mar-17-08	29	3	10.3	20	1	5.0
Mar-18-08	29	1	3.5	18	1	5.6
Mar-22-08	28	3	10.7	16	1	6.3
Mar-23-08	27	2	7.4	15	3	20.0
Abr-01-08	23	1	4.4	12	2	16.7

*Valores relativos al número total de hembras presentes por noche correspondiente.

IV.3.1.- Cruzas intraespecíficas.

IV.3.1.1.- Cruza: ♂LS x ♀LS.

Para la primer crua entre individuos de la misma especie, i.e., crua intraespecífica control ♂LSx ♀LS, únicamente una de las 14 hembras inseminadas no desovó (Tabla IX). El promedio de huevos desovados por hembra fue de 164,177 con una variación de 112,349 a 282,141 huevos desovados. El promedio del porcentaje de desove fue de 95%. Tres hembras produjeron huevos fertilizados, lo que representa un porcentaje de éxito de inseminación artificial de 23%. En su conjunto, estas tres oviposiciones totalizaron 99,031 huevos fertilizados (Fig. 15), de donde eclosionaron 73,764 nauplios en buenas condiciones (Figura 16), lo que correspondió a un promedio del porcentaje de fertilización de 17.2% y de eclosión de 12.8%, respectivamente.

IV.3.1.2.- Cruza: ♂LV x ♀LV.

Para la segunda crua intraespecífica control, i.e., ♂LV x ♀LV, las 12 inseminaciones realizadas produjeron el mismo número de desoves (Tabla X). El promedio de huevos desovados por hembra fue de 100,957, con un intervalo de variación de 70,111 a 139,940 huevos desovados. El promedio del porcentaje de desove fue de 95%. En 5 de las 12 hembras empleadas la inseminación artificial fue exitosa (éxito de inseminación artificial de 41.6%), de las que se obtuvieron 86,153 huevos fertilizados y de los que surgieron 71,205 nauplios en buen estado (Fig. 17). Estos resultados correspondieron a porcentajes de fertilización y de eclosión de 14.3 y 11.7%, respectivamente.

Tabla IX. Desempeño reproductivo de la crua intraespecífica control ♂LS x ♀LS para *L. stylirostris*.

No. de crua	Hembra	Macho	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No. de nauplios	Fertilización (%)	Desove (%)
1	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	100	112,349	0	0	0	0
2	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	90	0	0	0	0	0
3	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	100	210,335	0	0	0	0
4	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	95	154,245	0	0	0	0
5	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	90	119,189	0	0	0	0
6	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	90	177,621	67,500	50,000	38.0	28.2
7	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	100	190,810	0	0	0	0
8	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	100	123,530	0	0	0	0
9	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	95	143,250	0	0	0	0
10	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	100	130,141	0	0	0	0
11	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	95	282,141	11,991	8,132	4.5	2.9
12	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	90	210,430	0	0	0	0
13	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	90	209,271	19,540	15,632	9.3	7.5
14	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	95	235,160	0	0	0	0

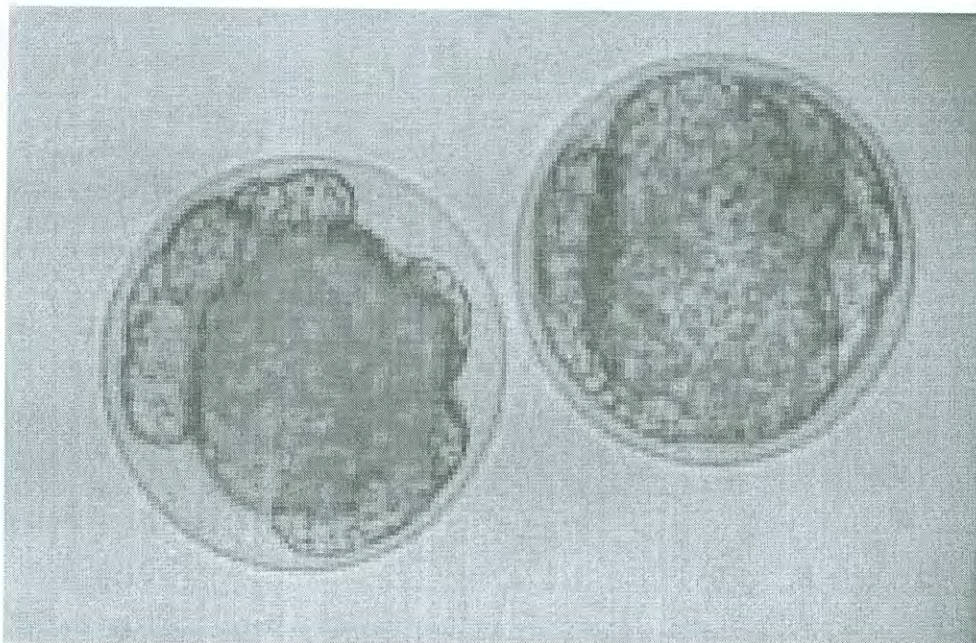


Figura 15. Huevo fértil con la formación de nauplio normal de *L. stylirostris* a 4 horas después del desove.

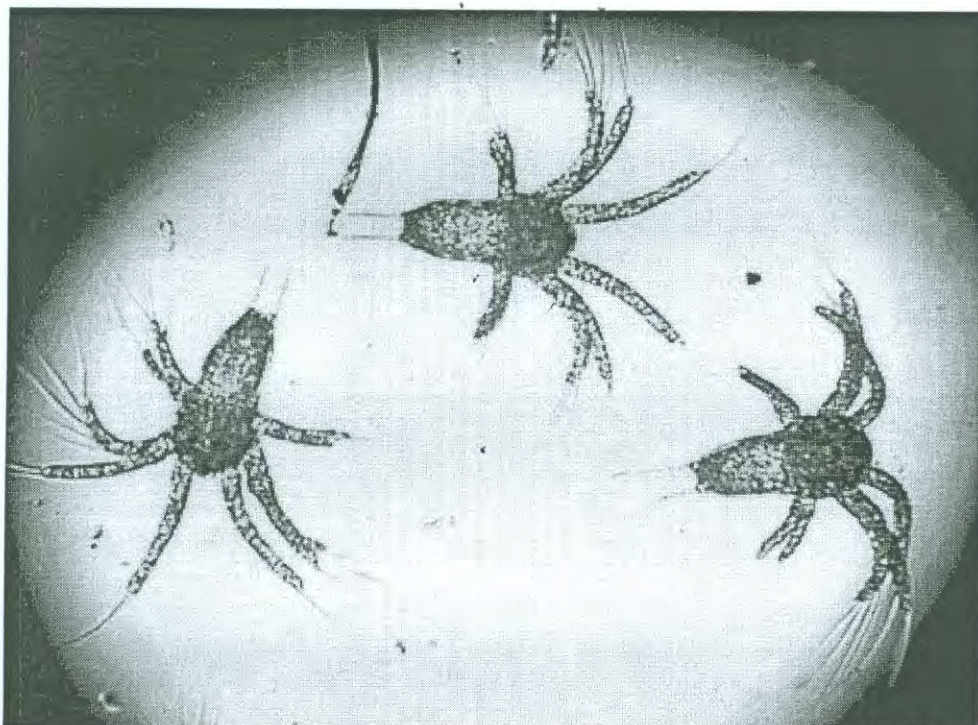


Figura 16. Nauplios de *L. stylirostris* producto de la cruce intraespecífica ♂LS x ♀LS.

Tabla X. Desempeño reproductivo de la cruce intraespecífica control ♂LVx ♀LV para *L. vannamei*.

No. de cruce	Hembra	Macho	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No. de nauplios	Fertilización (%)	Desove (%)
1	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	100	82,416	0	0	0	0
2	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	90	98,740	0	0	0	0
3	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	95	88,121	0	0	0	0
4	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	95	70,111	0	0	0	0
5	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	95	71,200	8,960	7,000	12.6	9.8
6	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	100	76,780	2,250	1,500	2.9	1.9
7	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	100	79,420	0	0	0.0	0.0
8	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	95	127,523	2,788	2,535	2.2	2.0
9	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	95	109,439	0	0	0.0	0.0
10	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	90	139,940	0	0	0.0	0.0
11	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	90	132,808	22,487	18,432	16.9	13.9
12	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	95	134,988	49,668	41,738	36.8	30.9

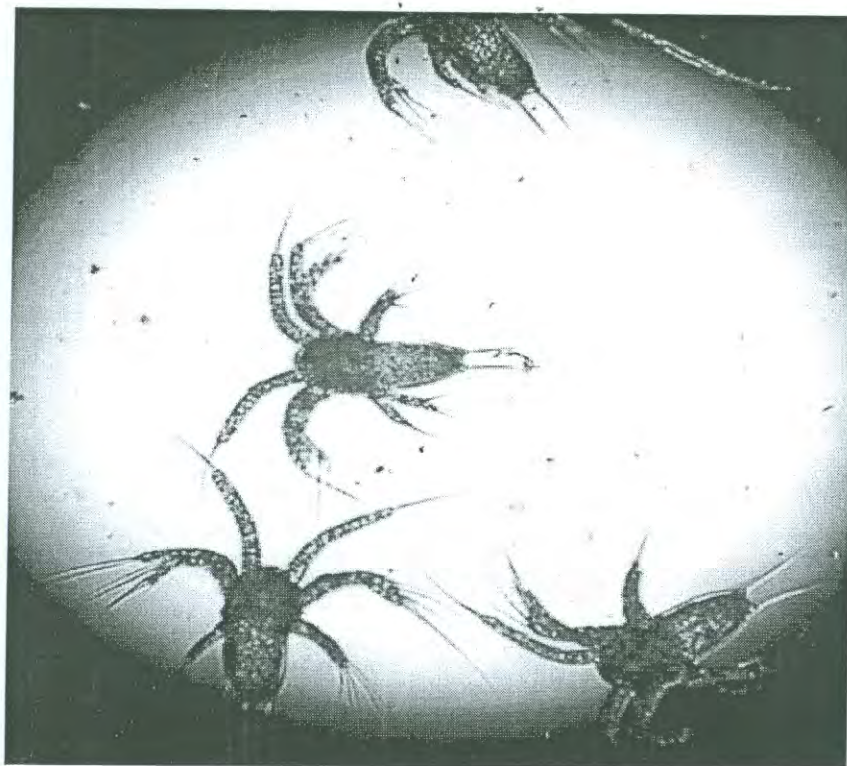


Figura 17. Nauplios de *L. vannamei* producto de la cruce intraespecífica ♂LV x ♀LV.

IV.3.2. Cruzas interespecíficas.

IV.3.2.1. Cruza: ♂LV x ♀LS.

Los resultados de la craza diseñada para la obtención de híbridos, craza interespecífica ♂LV x ♀LS, así como los de sus distintas modalidades fueron los siguientes:

IV.3.2.1.1.- Hembras inseminadas con el espermátforo compuesto de un solo macho.

Se realizaron 13 inseminaciones, de las que solo una hembra no desovó. El valor promedio del número de huevos desovados fue de 135,193 huevos, con una variación de 98,978 a 242,629 huevos desovados por hembra. El promedio del porcentaje de desove fue de 87.7% (Tabla XI). La hibridación no fue exitosa, al no obtenerse huevos fertilizados en ninguna de las inseminaciones.

IV.3.2.1.2.- Hembras inseminadas con los espermátforos compuestos de dos machos.

Se llevaron a cabo 6 inseminaciones con igual número de desoves, de las que se obtuvieron 184,839 huevos/hembra en promedio, con un intervalo de variación de 82,432 a 243,121 huevos desovados. El porcentaje de desove promedio fue de 95% (Tabla XII). Al igual que en el caso anterior, no se observaron huevos fertilizados.

IV.3.2.1.3.- Esperma homogenizado.

En el caso de hembras que, además de ser inseminadas con el espermátforo compuesto de un macho, recibieron el esperma homogenizado de un segundo macho directamente en el tanque de desove, se llevaron al cabo en total 6 inseminaciones. El promedio de huevos desovados por hembra fue de 178,320, variando entre 130,875 y 242,629 huevos desovados y con un porcentaje de desove de 95% (Tabla XIII). Nuevamente, no se obtuvieron huevos fertilizados.

IV.3.2.1.4.- Hembras que anteriormente fueron inseminadas en cruza intraespecíficas y que produjeron nauplios viables.

En este caso, una hembra de *L. stylirostris* que anteriormente había sido inseminada en una crusa intraespecífica y que había producido nauplios viables, fue utilizada en dos ocasiones subsecuentes para producir organismos híbridos con el siguiente resultado.

IV.3.2.1.4.1.- Primera crusa: crusa intraespecífica.

Esta hembra desovó 282,141 huevos, con un porcentaje de desove del 95%, de los que 11,991 fueron fértiles y produjeron 8,132 nauplios. Los porcentajes de fertilización y eclosión correspondientes fueron de 4.3 y 2.9%, respectivamente (Tabla XIV).

IV.3.2.1.4.2.- Segunda crusa: crusa interespecífica.

Esta inseminación produjo 126,200 huevos, con un porcentaje de desove de 90%. No produjo huevos fertilizados.

IV.3.2.1.4.3.- Tercera crusa: crusa interespecífica.

En esta ocasión, fue posible obtener 99,437 huevos, con un porcentaje de desove de 95%. Sin embargo, nuevamente la hibridación tampoco fue exitosa (Tabla XIV).

Es pertinente resaltar que, en los dos intentos de hibridación anteriores, no se observó ningún tipo de división celular al interior de los huevós (Fig. 18).

Tabla XI. Desempeño reproductivo de la cruce interespecífica ♂LV x ♀LS aplicando inseminación artificial con el espermatóforo compuesto de un solo macho.

No. de cruce	Hembra	Macho	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No.de nauplios	Eclosión (%)
1	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	113,221	0	0	0
2	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	90	101,141	0	0	0
3	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	90	98,978	0	0	0
4	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	90	101,831	0	0	0
5	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	99,473	0	0	0
6	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	111,432	0	0	0
7	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	121,797	0	0	0
8	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	198,310	0	0	0
9	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	80	120,340	0	0	0
10	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	0	0	0	0	0
11	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	90	182,290	0	0	0
12	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	130,875	0	0	0
13	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	242,629	0	0	0

Tabla XII. Desempeño reproductivo de la cruce interespecífica ♂LV x ♀LS aplicando inseminación artificial con espermatóforo compuesto de dos machos.

No. de cruce	Hembra	Macho	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No.de nauplios	Eclosión (%)
1	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	82,432	0	0	0
2	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	90	243,121	0	0	0
3	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	90	215,190	0	0	0
4	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	90	199,341	0	0	0
5	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	126,320	0	0	0
6	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	242,629	0	0	0

Tabla XIII. Desempeño reproductivo de la cruce interespecífica ♂LV x ♀LS aplicando inseminación artificial con esperma homogenizado*.

No. De cruce	Hembra	Macho	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No.de nauplios	Eclosión (%)
1	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	145,150	0	0	0
2	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	90	147,230	0	0	0
3	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	80	225,320	0	0	0
4	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	130,875	0	0	0
5	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	242,629	0	0	0
6	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	180,320	0	0	0

*Ver definición en III.4.2 Cruzas interespecíficas.

Tabla XIV. Desempeño reproductivo de una misma hembra de *L. stylirostris* inseminada en cruza intra e interespecíficas.

No. de cruce	Hembra	Macho	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No.de nauplios	Fertilización (%)	Eclosión (%)
1	<i>stylirostris</i>	<i>stylirostris</i>	95	282,141	11,191	8,132	4.3	2.9
2	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	90	126,200	0	0	0.0	0.0
3	<i>stylirostris</i>	<i>vannamei</i>	100	99,473	0	0	0.0	0.0

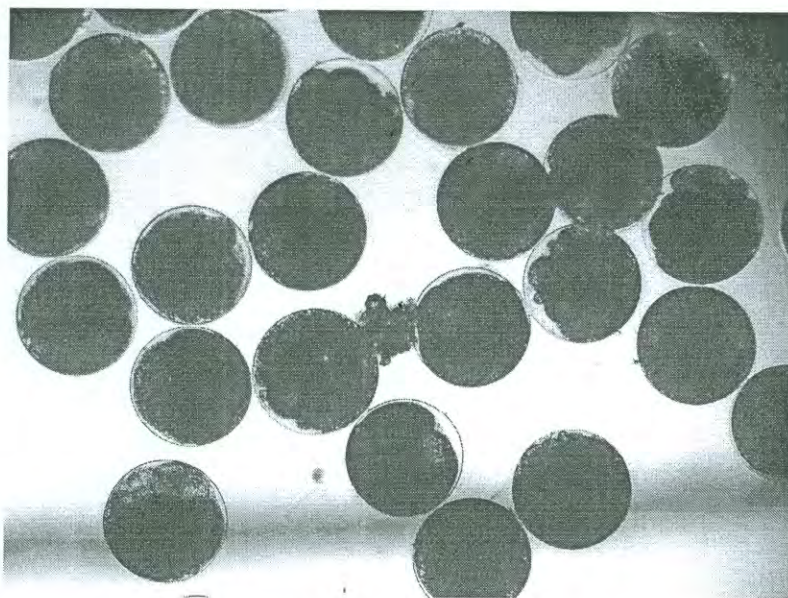


Figura 18. Huevos no fertilizados producto de la cruce interespecífica ♂LV x ♀LS.

IV.3.2.2.- Cruza: ♂LS x ♀LV.

Para la cruce ♂LS x ♀LV y sus diversas combinaciones se obtuvieron los siguientes resultados:

IV.3.2.2.1.- Hembras inseminadas con el espermátforo compuesto de un solo macho.

Se realizaron 10 inseminaciones en la que solo una hembra no desovó. Se obtuvo un promedio de 68,053 huevos/hembra, con una variación de 61,219 a 99,310 huevos desovados. El porcentaje de desove correspondió a 85%. La hibridación mediante esta cruce tampoco fue exitosa, sin la presencia de huevos fertilizados y/o nauplios (Tabla XV).

IV.3.2.2.2.- Hembras inseminadas con los espermátforos compuestos de dos machos.

Se efectuaron 5 inseminaciones mediante esta estrategia, de las que en un caso no hubo desove. El promedio de huevos desovados por hembra fue de 71,086, siendo el menor registro de 35,125 y el mayor de 121,757 huevos desovados. El porcentaje de desove fue de 76%. Una vez más, este intento de hibridación fue negativo, sin haberse observado huevos fertilizados y por consecuencia tampoco nauplios (Tabla XVI).

IV.3.2.2.3.- Esperma homogenizado.

Se llevaron al cabo 4 inseminaciones, en las que todas las hembras desovaron con un promedio de 86,447 huevos, con una variación de 58,426 a 120,320 huevos. En esta modalidad, las hembras tuvieron un porcentaje de desove del 92.5%. Así como en todos los anteriores intentos de hibridación, tampoco se observaron huevos fertilizados (Tabla XVII).

IV.3.2.2.4.- Hembras que anteriormente fueron inseminadas en cruces intraespecíficas y que produjeron nauplios viables.

En este caso, fueron dos hembras de *L. vannamei* las que previamente habían producido nauplios viables al inseminarse con esperma de machos de su propia especie. Al intentarse la hibridación con machos de *L. stylirostris*, se obtuvieron los siguientes resultados.

IV.3.2.2.4.1.- Hembra número 1.

IV.3.2.2.4.1.1.- Primera cruce: cruce intraespecífica.

Esta hembra produjo 127,523 huevos con un porcentaje de desove del 90%. Los huevos fertilizados obtenidos fueron 2,788 huevos y 2,535 nauplios eclosionados, equivalentes a porcentajes de fertilización y eclosión de 2.2 y 2.0%, respectivamente (Tabla XVIII).

IV.3.2.2.4.1.2.- Segunda cruce: cruce interespecífica.

Esta hembra se inseminó de manera interespecífica en un sola oportunidad, produciendo un total de 67, 774 huevos desovados, con un porcentaje de desove de 70%. No se produjeron huevos fertilizados ni nauplios (Tabla XVIII).

IV.3.2.2.4.2 Hembra número 2.

IV.3.2.2.4.2.1.- Primera cruce: cruce intraespecífica.

Esta hembra desovó 132,808 huevos, de los que 22,487 fueron fértiles, los cuales produjeron 18,432 nauplios, siendo esto equivalente a un porcentaje de fertilización de 16.9% y de eclosión de 16.7%. El porcentaje de desove estimado fue de 95% (Tabla XVIII).

IV.3.2.2.4.2.2.- Segunda cruce: cruce interespecífica.

Habiendo producido nauplios viables en la cruce intraespecífica anterior, esta hembra pudo inseminarse en dos ocasiones más de manera interespecífica. En el primer intento se obtuvieron 68,421 huevos, con un porcentaje de desove de 100%. No obstante, de manera reiterada, la hibridación entre estas especies no fue exitosa al no producirse huevos fertilizados (Tabla XVIII).

IV.3.2.2.4.2.3.- Tercera cruce: cruce interespecífica.

Como resultado de esta inseminación se obtuvieron 68,328 huevos, estimándose un porcentaje de desove de 95%. Una vez más, no hubo presencia de huevos fertilizados y/o nauplios (Tabla XVIII).

Al igual que en los casos de las cruzas interespecíficas recíprocas descritas en el apartado IV.3.2.1.- **Cruza:** ♂LV x ♀LS, en estas cruzas interespecíficas tampoco fue posible observar división celular en los huevos, como se ilustra en la figura 19.

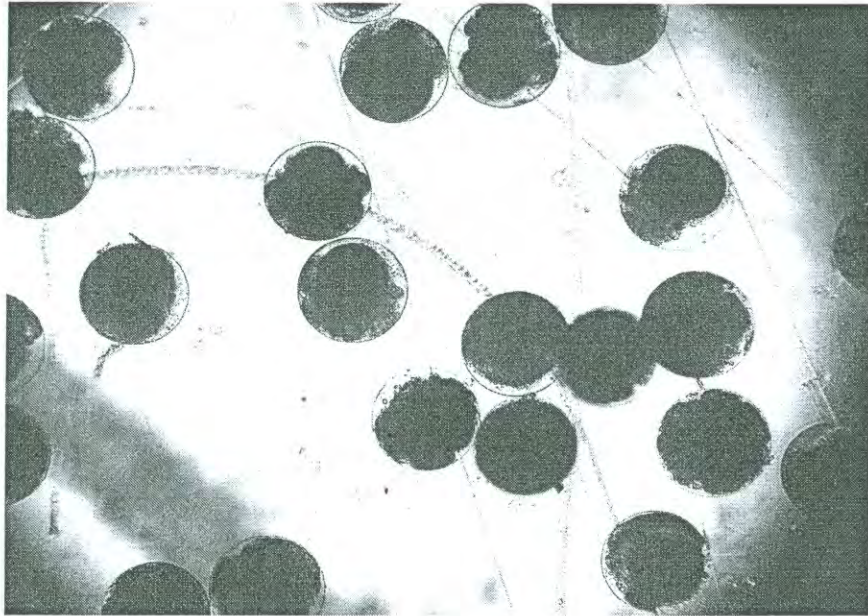


Figura 19. Huevos no fertilizados producto de la cruce interespecífica ♂LS x ♀LV.

Tabla XV. Desempeño reproductivo de la craza interespecífica ♂LS x ♀LV aplicando inseminación artificial con el espermátforo compuesto de un solo macho.

No. de craza	Hembra	Macho	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No. de nauplios	Eclosión (%)
1	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	0	0	0	0	0
2	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	100	75,310	0	0	0
3	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	95	68,421	0	0	0
4	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	100	78,214	0	0	0
5	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	90	61,219	0	0	0
6	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	90	68,328	0	0	0
7	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	95	83,520	0	0	0
8	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	100	78,430	0	0	0
13	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	90	99,310	0	0	0
10	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	90	67,774*	0	0	0

Tabla XVI. Desempeño reproductivo de la craza interespecífica ♂LS x ♀LV aplicando inseminación artificial con los espermátforos compuestos de dos machos.

No. de craza	Hembra	Macho	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No. de nauplios	Eclosión (%)
1	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	100	88,240	0	0	0
2	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	90	35,125	0	0	0
3	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	0	0.00	0	0	0
4	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	100	110,310	0	0	0
5	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	90	121,754	0	0	0

Tabla XVII. Desempeño reproductivo de la craza interespecífica ♂LS x ♀LV aplicando inseminación artificial con esperma homogenizado*.

No. de craza	Hembra	Macho	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No. de nauplios	Eclosión (%)
1	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	90	120,320	0	0	0
2	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	100	93,710	0	0	0
3	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	90	58,426	0	0	0
4	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	90	73,450	0	0	0

*Ver definición en III.4.2 Cruzas interespecíficas.

RIS 11216

Tabla XVIII. Desempeño reproductivo de hembras de *L. vannamei* inseminadas en cruza intra e interespecíficas.

No. de cruza	Hembra Especie	Macho Especie	Desove (%)	Huevos producidos	Huevos fertilizados	No.de nauplios	Fertilización (%)	Eclosión (%)
Hembra No.1								
1	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	95	127,523	2,788	2,535	2.2	2.0
2	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	90	67,774	0	0	0.0	0.0
Hembra No. 2								
1	<i>vannamei</i>	<i>vannamei</i>	95	132,808	22,487	18,432	16.9	13.9
2	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	100	68,421	68,521	0	0.0	0.0
3	<i>vannamei</i>	<i>stylirostris</i>	95	68,328	68,423	0	0.0	0.0

IV.4.- Detección de agentes patógenos.

El análisis de las muestras de hemolinfa obtenida de tres organismos de cada especie para su verificación sanitaria, mostró que para *L. vannamei*, el ADN viral correspondiente a IHNV fue detectado solo en una de ellas, mientras que para *L. stylirostris*, el ADN viral correspondiente a IHNV fue detectado en dos de las tres muestras (Anexo 1).

V. DISCUSIÓN.

V.1.- Parámetros fisicoquímicos.

V.1.1.- En tanques de maduración.

Durante las 11 semanas en que los reproductores de *L. stylirostris* fueron mantenidos en los tanques de maduración, los valores de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto no presentaron grandes variaciones (promedios de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto de $27.4^{\circ}\text{C} \pm 1.3^{\circ}\text{C}$, $36.3\text{‰} \pm 0.4\text{‰}$ y $5.8 \text{ mg/L} \pm 0.4\text{mg/L}$, respectivamente; Tabla II) y fueron mantenidos dentro de los rangos óptimos para la maduración de esta especie, según lo reportado en la literatura, donde se indica que la temperatura para maduración debe mantenerse entre 26 y 28°C , la salinidad entre 36 y 38‰ y el oxígeno disuelto entre 5 y 8 mg/L (Bray y Lawrence, 1992; Treece, 2000).

Para *L. vannamei*, al igual que en la especie anterior, los valores de los parámetros mencionados no presentaron cambios importantes que afectaran el desarrollo de la investigación (promedios de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto de $27.7 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$, $36.4 \pm 0.3\text{‰}$ y $5.8 \pm 0.3 \text{ mg/L}$, respectivamente; Tabla III), ya que según lo reportado por Wyban y Sweeny (1991), Bray y Lawrence (1992) y Yano et al. (1988), fueron mantenidos dentro de los rangos óptimos para la especie, que son de 26 a 29°C para la temperatura, de 30 a 37‰ para la salinidad y de 4 a 8 mg/L para el oxígeno disuelto.

Por lo tanto, podemos considerar que los parámetros fisicoquímicos del agua de cultivo fueron mantenidos en niveles adecuados que propiciaron el proceso de maduración sexual en ambas especies.

V.1.2.- En tanques de desove.

Los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos registrados en los tanques de desove de los diversos tratamientos no registraron variaciones amplias (promedios de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto de $28.3 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$, $35.5 \pm 0.4\text{‰}$ y $4.8 \pm 0.4 \text{ mg/L}$, respectivamente; Tablas IV, V, VI y VII). Por el contrario, fueron mantenidos dentro de niveles óptimos para ambas especies, de acuerdo con lo reportado por Aquacop (1979), Bray y

Lawrence (1992) y Wyban y Sweeny (1991), que indican que en cautiverio, por ser especies con hábitat y comportamiento reproductivo muy similares, los valores para la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto deben mantenerse de 27 a 29°C, 35 a 36‰ y 4 a 8 mg/L, respectivamente.

V.1.3.- En tanques de cultivo larvario.

En los tanques de cultivo larvario se registraron valores de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto durante 15 días, tiempo en que las larvas alcanzaron el estadio de PL5. Las variaciones observadas en los valores de estos parámetros en los tanques de cultivo de ambas especies no fueron amplias (promedios de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto de $29.1 \pm 0.7^\circ\text{C}$, $36.2 \pm 0.4\text{‰}$ y $5.4 \pm 0.3 \text{ mg/L}$, respectivamente) (Figuras 9, 10 y 11) y se mantuvieron dentro de los intervalos óptimos para el cultivo larvario, según lo recomendado por Kitani (1986a, b), Chamberlain y Lawrence (1981) y Wyban y Sweeny (1991), quienes indican que para obtener un desarrollo óptimo, la temperatura deberá ser mantenida entre 27 y 30°C, la salinidad entre 34 y 36‰ y el oxígeno disuelto entre 4 y 8 mg/L, para ambas especies.

V.2.- Oculotomía.

La oculotomía es sin duda el evento que mas estrés causa a los organismos en reproducción, y que dependiendo de la condición de los mismos y la forma en que ésta se lleve al cabo, puede ocasionar mortalidades de hasta el 15% en los dos días subsecuentes al evento (Caillouet, 1973; Primavera, 1978; Yano, 1984; Yano y Wyban, 1993). En el presente estudio, la oculotomía realizada a las hembras de ambas especies no produjo mortalidad alguna ni efecto negativo aparente sobre los organismos después de 2 días e incluso después de 5 días de haberse aplicado, lo que indica que el método y la forma en que ésta se realizó fueron muy apropiados y que el estado general de salud de los organismos era adecuado.

V.3.- Desempeño reproductivo.

El período en que se mantuvieron los organismos en reproducción fue de 56 días, que es representativo del tiempo en que los organismos son mantenidos en reproducción en laboratorios comerciales productores de postlarvas, en el que normalmente, las hembras han dado su mejor rendimiento desde el punto de vista comercial (Primavera et al., 1982; Aquacop, 1983; Wyban y Sweeny, 1991).

Así mismo, el número de organismos empleados y cruzas realizadas es comparable o superior al de otros intentos de hibridación interespecífica de camarones peneidos (Redon et al., 1997). En el caso del número de cruzas desarrolladas de forma intraespecífica (i.e., cruzas entre individuos de la misma especie), 14 para *L. stylirostris* y 12 para *L. vannamei*, éste es muy similar al de los intentos reportados por Misamore y Browdy (1997), ellos realizaron 15 para *L. setiferus* y 11 para *L. vannamei*.

En el caso de las inseminaciones encaminadas a evaluar la hibridación en este experimento, 25 fueron para la crua interespecífica ♀LS x ♂LV y 19 para la crua recíproca ♀LV x ♂LS, lo que hizo un total de 44 cruzas. Estas cruzas fueron en número mayor a lo reportado por otros autores con otras especies, e.g., 19 para *L. setiferus* x *L. schmittii* (Bray et al., 1990); 2 para *Fenneropenaeus penicillatus* x *F. chinensis* (Ting et al., 1991); 5 para *P. monodon* x *F. chinensis* (Ting et al., 1991); 3 para *F. penicillatus* x *F. indicus* (Ting et al., 1991); 13 para *P. monodon* x *P. esculentus* (Benzie et al., 1995); 10 para *P. kerathurus* x *M. japonicus* (Redon et al., 1997) y 20 para *L. vannamei* x *L. setiferus* (Misamore y Browdy, 1997).

En relación a los porcentajes de hembras inseminadas por noche, tomando en consideración la totalidad de hembras tanto en cruza intra como interespecíficas (Tabla VIII), se encontró que un 6.1% de inseminaciones fue para hembras de *L. stylirostris* y 6.6% para hembras de *L. vannamei*. Estos valores se encuentran dentro de lo reportado por otros autores como Benzie et al. (1995) quienes, para este mismo parámetro, al intentar la hibridación interespecífica de *P. monodon* x *P. esculentus*, reportaron 6% para hembras de *P. monodon* y 5% para hembras de *P. esculentus*. Por otro lado, estos resultados son también comparables

con los obtenidos mediante inseminación artificial en cruzas intraespecíficas de *L. vannamei*, (7% de hembras inseminadas por noche) por Arce et al. (1991). Por último, se han reportado valores ligeramente superiores, de 8 a 10% de hembras inseminadas por noche, pero no bajo la modalidad de inseminación artificial, sino a través de reproducción natural, en cruzas intraespecíficas de *P. merguensis*, *P. japonicus*, *P. aztecas*, *P. semisulcatus* y *L. vannamei* (Aquacop, 1975; Treece y Yates, 1993).

V.3.1.- Cruzas intraespecíficas.

Las cruzas intraespecíficas o entre individuos de la misma especie fueron desarrolladas en el presente estudio con la finalidad de demostrar la capacidad reproductiva de los organismos de ambas especies, sirviendo así como tratamientos control, con respecto a las cruzas interespecíficas.

V.3.1.1.- Cruza: ♂ LS x ♀LS.

En primer término, solo una de las 14 hembras de *L. stylirostris* que fueron inseminadas y transferidas a los tanques de desove no desovó, lo que representa 92.9% de eficiencia en la capacidad para detectar hembras maduras con un estadio de desarrollo ovárico IV, valor considerablemente bueno si se le compara con aquellos reportados por Misamore y Browdy (1997), con 79% para *L. vannamei* y *L. setiferus*, o por Benzie et al. (1995), con 86% para *P. monodon* y *P. esculentus*.

En términos de huevos desovados, se obtuvo un promedio de 167,177 huevos por hembra, muy similar a lo obtenido mediante reproducción natural para esta especie, con valores de 160,000 a 189,000 huevos desovados por hembra (Aquacop, 1979; Brown et al., 1980; Bray et al., 1990). Estos datos confirman que el proceso de inseminación artificial utilizado en el presente estudio no afectó la magnitud de los desoves.

Por otra parte, 3 de las 13 hembras de *L. stylirostris* que desovaron produjeron huevos fértiles y nauplios, lo que representa un porcentaje de éxito de inseminación artificial de 23%,

valor alto comparado con los reportados (10 a 15%) en otras investigaciones de reproducción de camarones peneidos en cautiverio (Wyban y Sweeney, 1991; Bray y Lawrence, 1992).

En estas hembras que produjeron huevos fértiles y nauplios, el porcentaje de huevos fertilizados con respecto al total de huevos desovados (i.e., el porcentaje de fertilización) fue de 17.2%, lo que se considera alto en comparación con 11% reportado por Redon et al. (1997) en un estudio de hibridación de *P. kerathurus* y *P. japonicus* y con 9.21% reportado por Misamore y Browdy (1997) en un estudio de hibridación de *L. vannamei* y *L. setiferus*.

V.3.1.2.- Cruza: ♂ LV x ♀LV.

En el caso de *L. vannamei*, se llevaron al cabo 12 inseminaciones, con el mismo número de hembras desovadas, poniendo de manifiesto la alta eficiencia (100%) en la detección de hembras listas para el desove.

El promedio de huevos desovados por hembra fue de 100,957, similar a lo reportado para esta misma especie por Chen et al. (1990), con 110,000 huevos desovados por hembra utilizando inseminación artificial en condiciones de laboratorio y por Aquacop (1979), con 130,000 huevos desovados por hembra en estudios de reproducción natural.

Del total de hembras desovadas (12), en 5 de ellas fue posible obtener huevos fértiles y nauplios, lo que representa un porcentaje de éxito de inseminación artificial de 41.6%, no solo considerablemente más alto que el reportado en otras investigaciones (10 a 15%) (Ashmore, 1988; Wyban y Sweeney, 1991; Bray y Lawrence, 1992) sino más alto aún que el obtenido con *L. stylirostris* en este estudio.

En hembras con desoves fértiles, se obtuvo un porcentaje de fertilización de 14.2%, ligeramente superior al obtenido por Bray y Lawrence (1992) en estudios de reproducción de camarones peneidos en cautiverio (12%) y al 11.5% reportado por Yano y Wyban (1993) en investigaciones del efecto de la oculotomía sobre el desove y fertilización de *L. vannamei*.

Debido a que el desempeño reproductivo observado en las cruza intraespecíficas anteriores fue, en muchos de los parámetros reproductivos evaluados, no solo adecuado sino

superior a lo reportado en literatura, puede considerarse que la adecuada capacidad o competencia reproductiva de los organismos de ambas especies fue fehacientemente puesta de manifiesto. Así mismo, estos resultados indican que las técnicas de oculotomía e inseminación artificial aplicadas en este experimento fueron adecuadas.

V.3.2 Cruzas interespecíficas.

V.3.2.1.- Cruza: ♂LV x ♀LS.

Los hallazgos surgidos bajo el esquema de hibridación ♀LS x ♂LV y sus distintas modalidades, que fueron aplicadas con el fin de aumentar las probabilidades de hibridación, se discuten a continuación.

V.3.2.1.1.- Hembras inseminadas con el espermátforo compuesto de un solo macho.

Tanto el porcentaje de hembras desovadas por noche, así como la cantidad de huevos producidos por cada una de ellas, se encuentran dentro de los parámetros normales reportados para la especie (Bray y Lawrence, 1992). Sin embargo, no se obtuvo éxito en la hibridación de estas especies. Es pertinente resaltar que esta variable de inseminación artificial de hembras con el espermátforo compuesto de un solo macho, removiendo manualmente el espermátforo y colocándolo sobre el télico de la hembra poco antes del desove, fue utilizada por Lawrence et al. (1984) en la que constituye la primera hibridación interespecífica exitosa en camarones peneidos a través de inseminación artificial, realizada entre *L. stylirostris* y *L. setiferus*. Este procedimiento se hizo común entre otras investigaciones que subsecuentemente han intentado la hibridación entre otras especies de camarones peneidos, como Redon et al. (1977), quienes tampoco obtuvieron éxito en la hibridación de *P. kerathurus* y *M. japonicus* y quienes, además de aplicar inseminación artificial, también intentaron el apareamiento natural de los organismos. Por su parte, Misamore y Browdy (1997) intentaron la hibridación de *L. vannamei* y *L. setiferus* a través de apareamiento natural e inseminación artificial, siguiendo la misma técnica del presente estudio, así como a través de una técnica de fertilización *in vitro*.

En ninguno de los casos fue posible obtener organismos híbridos. En contraste, Bray et al. (1990) reportaron la hibridación exitosa de *L. setiferus* y *L. schmitti*, aunque con un porcentaje de fertilización entre solo 0.018 y 2.5%. Sorprendentemente, fue posible observar la presencia de ova y espermatozoides maduros en estos híbridos, pero al intentar su reproducción, tras aplicársele oclotomía a las hembras, no se observó apareamiento. Otras hibridaciones exitosas han sido reportadas para las cruzas *F. penicillatus* x *F. chinensis*, *P. monodon* x *F. chilensis*, *F. penicillatus* x *F. indicus* y *P. monodon* x *P. esculentus* (Ting et al., 1991; Benzie et al., 1995). Finalmente, Lin et al. (1988) tuvieron éxito en la hibridación de *P. monodon* y *P. penicillatus* y reportaron mayor crecimiento de las cruzas recíprocas, en comparación a las especies parentales, lo que constituye hasta ahora, el único caso de vigor híbrido o heterosis positiva en camarones peneidos.

V.3.2.1.2.- Hembras inseminadas con los espermatozoides compuestos de dos machos.

En este caso, las características de los 6 desoves obtenidos también se encontraron dentro de valores normales para la especie (Bray y Lawrence, 1992). No obstante, no se obtuvieron organismos híbridos. El uso del espermatozoide compuesto de un segundo macho aplicado en esta modalidad de inseminación se utilizó con la intención de que, en caso de mala calidad o falla del primero, éste fungiera como respaldo o refuerzo, ya sea asegurando la presencia o incrementando el número de gametos masculinos en la columna de agua cuando la hembra realizara el desove, no existiendo antecedentes de aplicación de esta modalidad de inseminación en la literatura. Aunque no directamente comparable, Arce et al. (1991), realizando pruebas de productividad y selección genética en cruzas intraespecíficas de *L. vannamei*, reportaron la inseminación de hembras utilizando el espermatozoide de un solo lado (la mitad) y también utilizando el espermatozoide compuesto.

V.3.2.1.3.- Esperma homogenizado.

En el caso de hembras ya inseminadas con el espermatozoide compuesto de un macho y que recibieron el espermatozoide homogenizado de un segundo macho aplicado directamente en el

tanque de desove, la calidad de los desoves también se encontró dentro de límites óptimos para la especie (Bray y Lawrence, 1992). Desafortunadamente, estos intentos de hibridación también fueron infructuosos. Hasta el momento, esta modalidad de inseminación combinada no ha sido reportada por otros autores. Solo existe el exitoso antecedente de fertilización *in vitro*, pero no en cruza interespecíficas sino entre individuos de la misma especie, lograda mediante el macerado y mezcla de esperma agregado al agua que contenía huevos disectados de hembras maduras de *F. aztecus* (Clark et al., 1973) y el reportado por Kruevaisayawan et al. (2008), respecto a la inducción de la reacción acrosómica de esperma de camarón tigre *P. monodon* en el agua, con enzimas que se generan momentos después del desove de las hembras.

V.3.2.1.4.- Hembras que anteriormente fueron inseminadas en cruza intraespecíficas y que produjeron nauplios viables.

En esta modalidad de inseminación, se comprobó la capacidad o competencia reproductiva de una hembra de *L. vannamei*, con la obtención de nauplios de forma intraespecífica utilizando el espermátforo compuesto de un solo macho. Posteriormente, fue inseminada en dos ocasiones más en cruza interespecíficas en las que no fue posible la obtención de huevos fertilizados. Al respecto, no existen reportes en la literatura en los que se haga referencia a esta modalidad de hibridación.

V.3.2.2.- Cruza: ♂LS x ♀LV.

De manera muy similar a lo observado en la cruza interespecífica recíproca anterior, las cruza: ♂LS x ♀LV, en todas sus modalidades (inseminación con espermátforos de uno o dos machos, con esperma homogenizado, o con inseminación de hembras que previamente produjeron nauplios viables en cruza intraespecíficas), se realizaron con hembras cuyos desoves fueron adecuados en cantidad y calidad, con respecto a lo reportado anteriormente para hembras de esta especie (Aquacop, 1979; Wyban y Sweeney, 1991; Yano et al., 1998). No obstante, tampoco fue posible producir organismos híbridos. Igualmente, en todos los

casos se hicieron observaciones al microscopio del desarrollo de los huevos, que mostraron siempre las características distintivas de huevos no fertilizados (Fig. 17) (i.e., sin segmentación ni simetría aparente), coincidentes con las descritas por Primavera (1978) para huevos no fertilizados de *P. monodon*.

V.4.- Barreras que impiden la hibridación interespecífica.

En la naturaleza, se reconocen dos grupos principales de barreras reproductivas que mantienen el aislamiento reproductivo entre las especies, barreras precigóticas y postcigóticas. Las primeras son mecanismos de aislamiento reproductivo que impiden que la fecundación ocurra, mientras que las barreras postcigóticas son aquellos mecanismos de aislamiento reproductivo que incrementan la probabilidad de fracaso reproductivo entre gametos de dos especies distintas, una vez que ha ocurrido la fecundación (Campbell y Reece, 2005). En el presente estudio, es posible que la falta de éxito en la hibridación de *L. stylirostris* y *L. vannamei* residiera en una o más barreras precigóticas, puesto que, como se mencionó anteriormente, en los huevos producto de las cruza interespecíficas aparentemente no existió división celular (Figs. 16 y 17), a diferencia de lo observado en el desarrollo de los huevos producto de las cruza intraespecíficas, donde claramente se distinguió división celular característica y formación posterior de nauplios (Figs. 13 y 15).

Las barreras precigóticas pueden incluir fallas en la activación de los gametos, que generalmente ocurre durante los primeros segundos al contacto con el agua. Normalmente durante la capacitación del esperma una serie de enzimas eliminan o diluyen las glucoproteínas de la superficie del acrosoma para dar lugar a la reacción acrosómica, en la que el esperma al entrar en contacto con la corona radiada o membrana externa del oocito, sufre cambios relacionados con la liberación de enzimas como la hialuronidasa. Estas enzimas le producen perforaciones y disocian a las células foliculares de la corona radiada para posteriormente, a través de otras enzimas del acrosoma (e.g., acrosina), romper la zona pelúcida a través de la cual el espermatozoo se dirige al óvulo. Por otra parte, en la reacción cortical, al contacto con el espermatozoo, por efecto de la liberación de los gránulos corticales,

la membrana del ovocito se torna impermeable a otros espermatozoos (Moore, 1990). Es posible que durante los intentos de hibridación en el presente experimento hayan ocurrido anomalías durante la activación de los gametos debido a una falla en uno de los procesos anteriormente explicados.

Por otra parte, aunque es aparentemente razonable suponer que una incompatibilidad en el número cromosómico de las especies en cuestión, $2n = 92$ para *L. stylirostris* y $2n = 88$ para *L. vannamei*, haya jugado un papel determinante en el resultado, existen evidencias de que un diferente número cromosómico no implica incompatibilidad de hibridación, como la de la cruce exitosa entre *L. stylirostris* ($2n = 92$) y *L. setiferus* ($2n = 88$) (Lawrence et al., 1984), cuya diferencia en el número cromosómico es, por cierto, idéntica a la de las especies del presente estudio (4 cromosomas más para *L. stylirostris* en relación tanto con *L. setiferus* como con *L. vannamei*). Puede citarse también el caso de la cruce entre *L. setiferus* ($2n = 88$) y *L. schmitti* ($2n = 90$) (Bray et al., 1990), y en un caso de hibridación de mamíferos del dominio común, la cruce conocida entre el caballo *Equus caballus* ($2n = 64$) y el burro *E. asinus* ($2n = 62$) cuyo resultado, la mula, tiene un número diploide de 63 (Tomich, 1986). Por otra parte, existen casos de hibridación de camarones peneidos con el mismo número de cromosomas, pero que no fueron exitosos, como el de la cruce entre *L. vannamei* ($2n = 88$) y *L. setiferus* ($2n = 88$) (Misamore y Browdy, 1997), a pesar de haberse intentado la reproducción natural, la inseminación artificial y un método de fertilización *in vitro*. Con base en estas evidencias, es improbable que la falta de éxito de hibridación de ésta investigación haya sido debida a incompatibilidad numérica cromosómica.

Otro aspecto al que merece la pena poner atención es el de las distancias genéticas que existen entre las especies de interés, relativamente cortas, de acuerdo con lo reportado por Palumbi y Benzie, (1991) (distancia genética de 0.164) y por Gutiérrez-Millán et al. (2002) (distancia genética de 0.165), lo que sugiere una buena factibilidad de hibridación que, sin embargo, no fue exitosa. Un caso similar es el del también infructuoso intento de hibridación de *L. vannamei* x *L. setiferus* (Misamore y Browdy, 1997) cuyas distancias genéticas son similares a las del presente estudio y que también pueden considerarse relativamente cortas (distancia genética de 0.170) (Palumbi y Benzie, 1991). Irónicamente, existen casos de

hibridación exitosa entre las especies *F. penicillatus* y *F. chinensis* y entre *P. monodon* y *F. chinensis*, cuyas distancias genéticas (0.198 y 0.201, respectivamente) (Palumbi y Benzie, 1991) son mayores a las mencionadas anteriormente. Por consiguiente, la distancia genética entre especies, aunque brindan un índice de la cercanía de las relaciones filogenéticas entre especies, no parecen ser un factor decisivo para el éxito de su hibridación.

El presente estudio indica que la hibridación entre *L. stylirostris* y *L. vannamei* no es posible, al menos a través del método tradicional de inseminación artificial. En vista de que la falta de éxito parece residir en barreras precigóticas y de que continúa siendo interesante la posibilidad de obtener tales individuos híbridos, es de interés llevar al cabo futuros intentos de hibridación en los que se hayan superado estos impedimentos de fertilización, por ejemplo, a través de fertilización *in vitro*, en la que se inserta ADN del espermatozoide al interior de los oocitos secundarios. De igual forma, será interesante la búsqueda de nuevas alternativas de hibridación entre éstas y otras especies que actualmente son comercialmente importantes y que se encuentran en nuestros litorales como *F. californiensis*, *P. brevirostris*, *P. occidentalis*, *F. aztecus*, *F. duorarum* y *L. setiferus*.

V.5. Detección de agentes patógenos.

El resultado obtenido en los análisis para la detección de IHHNV demostró la presencia de este virus en ambas especies, resultado no del todo sorprendente, tomando en cuenta que este virus ha sido detectado anteriormente en poblaciones silvestres de *L. stylirostris* en nuestro país (Unzueta-Bustamante et al., 1998; Morales-Covarrubias et al., 1999; Pantoja et al., 1999) e incluso en linajes domésticos de *L. vannamei* (Gong et al., 2008). A pesar de la presencia del virus, los resultados de desempeño reproductivo de este estudio no parecieron verse afectados en ninguna de las dos especies, así como tampoco parece ser seriamente afectado el desarrollo comercial de la producción regional de postlarvas de *L. vannamei* (Melena, 2005).

VI. CONCLUSIONES.

- Los parámetros fisicoquímicos como la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto mantenidos tanto en los tanques de maduración, desove y cultivo larvario, estuvieron dentro de los intervalos óptimos recomendados para cada especie.
- El proceso de extirpación y cauterización simultánea del pedúnculo ocular aplicado a hembras de ambas especies no causó mortalidad de las mismas a los dos e incluso a los cinco días de haber sido realizada, lo que puso de manifiesto que el método utilizado fue muy adecuado.
- La inseminación de hembras se caracterizó por una alta eficiencia en la detección de hembras con estadio de desarrollo ovárico IV, representado por el alto porcentaje de hembras seleccionadas para inseminación que desovaron, 92.9% para *L. stylirostris* y 100% para *L. vannamei*.
- Mediante la obtención de nauplios en las cruzas entre individuos de la misma especie, i.e., cruzas intraespecíficas control, se comprobó la capacidad o competencia reproductiva de los organismos empleados para ambas especies.
- En las cruzas anteriores, los porcentajes de hembras que desovaron y que produjeron huevos fértiles y nauplios (i.e., los porcentajes de éxito de inseminación artificial, 23% para *L. stylirostris* y 41.6% para *L. vannamei*) son altos comparados con los reportados en otras investigaciones (10 a 15%).
- Para estas mismas cruzas, el porcentaje de huevos fertilizados con respecto al total de huevos desovados (i.e., el porcentaje de fertilización, 17.2% para *L. stylirostris* y 14.2% para *L. vannamei*), fue ligeramente superior al reportado para estas especies en otros estudios (9.2-12.0%).
- Tanto para las cruzas intraespecíficas como para las interespecíficas, los porcentajes de hembras desovadas por noche, así como la cantidad de huevos producidos por hembra se encontraron dentro de los parámetros normales reportados para estas especies.

- Se realizó un número satisfactorio de intentos de hibridación en cuatro modalidades distintas, 25 para la cruce interespecífica ♂LV x ♀LS y 19 para la cruce recíproca ♂LS x ♀LV, lo que hace un total de 44 intentos, número muy superior al reportado en otros estudios de hibridación de camarones peneidos. Sin embargo, ninguno de los intentos anteriores fue exitoso, indicando que la hibridación entre *L. stylirostris* y *L. vannamei* no es posible, al menos a través del método tradicional de inseminación artificial.
- Con base en el número cromosómico de las especies utilizadas ($2n = 92$ para *L. stylirostris* y $2n = 88$ para *L. vannamei*), así como en el de otras especies cuyos números cromosómicos también son distintos pero en las que la hibridación ha sido exitosa, y en el de especies con igual número cromosómico pero que no produjeron híbridos, es improbable que la incompatibilidad numérica cromosómica haya ejercido un efecto contundente sobre el éxito de hibridación en este experimento.
- De forma similar, las distancias genéticas (0.164-0.165 entre *L. stylirostris* y *L. vannamei*) reportadas entre especies que han sido objeto de hibridación, no parecen ser un factor decisivo para el éxito de su hibridación.
- Los análisis para la detección de IHHNV demostraron la presencia de este virus en ambas especies, pero los resultados de desempeño reproductivo observados en el presente estudio no parecieron verse afectados en ninguna de las dos especies.

VII. RECOMENDACIONES

En vista de que, por las características deseables de cada especie y por no haberse descartado la posibilidad de su hibridación, continúa siendo atractiva la obtención de tales individuos híbridos, por lo tanto se recomienda lo siguiente:

- Llevar al cabo futuros intentos de hibridación en los que se hayan superado las barreras precigóticas que presuntamente impidieron la hibridación, por ejemplo, a través de fertilización *in vitro*, en la que se inserta ADN del esperma al interior de los oocitos secundarios.
- Buscar nuevas alternativas de hibridación entre éstas y otras especies que actualmente son comercialmente importantes y que se encuentran en nuestros litorales como *F. californiensis*, *P. brevirostris*, *P. occidentalis*, *F. aztecus*, *F. duorarum* y *L. setiferus*. En caso de obtener híbridos entre alguna de estas especies, evaluar aspectos tales como vigor híbrido o heterosis positiva para caracteres deseables, e.g., crecimiento, maduración sexual de los híbridos y su resistencia a enfermedades, entre otros.

VIII. LITERATURA CITADA.

- Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, 2005. Comisión Nacional de Acuicultura y pesca. Sagarpa. México. pp 216.
- Aquacop, 1975. Maturation and spawning in captivity of penaeid shrimp: *Penaeus merguensis* de Man, *Penaeus japonicus* Bates, *Penaeus aztecus* Ives, *Metapenaeus ensis* de Hann, and *Penaeus semisuLcatus* de Hann. Proc. World maricult. Soc. 6:123-132.
- Aquacop, 1979. Penaeid reared broodstock: closing the cycle of *P. monodon*, *P. stylirostris* and *P. vannamei*. Proc. World maricul. Soc. 10: 445-452.
- Aquacop, 1983. Constitution of broodstock, maturation, spawning, and hatching systems for penaeid shrimp in the Centre Oceanologique du Pacifique. En: J.P. McVey and J.R. Moore (eds.), CRC handbook of mariculture. Volume I. Crustacean aquaculture. CRC press, Boca Raton, FL, USA, 105-121.
- Aquacop, 1984. Observations of maturation, reproduction en captivite des crevettes Peneides en milieu tropical. En: Aquaculture en milieu tropical, IFREMER, Brest.40: 132-152.
- Arce, S.M., S.M. Mossy, B.J.Argue, 1991. Artificial insemination and spawning of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: implications for a selective breeding program. UJNR Technical Report No. 28. 4.
- Arenas, L., M. Montalvan, G. Espinosa, G. Gaxiola, A. Sánchez, A. Van Wormhoudt, D. Hernández, R. Díaz y C. Rosas. 2003. Genetic relationship between *Litopenaeus setiferus* (L.) and *L. schmitti* (Burkenroad) determined by using 16S mitochondrial sequences and enzymatic analysis. Aquaculture Research.12: 981-990.
- Argue, B. J., Z. Liu y R. A. Dunham, 2003. dress-out and fillet yields of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, blue catfish, *Ictalurus furcatus*, and their F₁, F₂ and backcross hybrids. 228: 81-90.
- Arnheim, N. y H. Ehrlich, 1992. Polymerase chain reaction strategy. Annual. Rev. Biochem. 61: 131-156.

- Ashmore, S.B., 1988. Nauplii production results from a commercial *Penaeus vannamei* maturation facility in Hawaii. (Abstract) J. World Aquacul. Soc. 19: 15.
- Bartley, D.M., K. Rana y A.J. Immink. 2001. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. Reviews in fish biology and fisheries 10: 325-337.
Bate.Jap.L. Zool. 10: 305-393.
- Benzie, J.A.H., 1991. The biogenetics of molluscs and crustaceans. Bull. Zool. Inst. Acad. Sin. Monogr., 16: 485- 512.
- Benzie, J.A.H., M. Kenway, E. Ballment, S. Frusher y L. Trott, 1995. Interspecific hybridization of the tiger prawns *Penaeus monodon* and *Penaeus esculentus*. Aquaculture, 133: 103-111.
- Benzie, J.A.H., 1998. Penaeid genetics and biotechnology. Aquaculture 164: 23-47.
- Benzie, J.A., H. M. Kenway, E. Ballment, 2001. Growth of *Penaeus monodon* x *Penaeus esculentus* tiger prawn hybrids relative to the parental species. Aquaculture 193: 227-237.
- Bray, W.A., A.L. Lawrence, L.J. Leste y L.L. Smith, 1990. Hybridization of *Penaeus setiferus* (Linnaeus,1767) and *Penaeus schmitti* Birkenroad 1936 (decapoda), J. Crust. Biol., 10: 278-283.
- Bray, W.A. y A.L. Lawrence, 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. En: A.W. Fast and L.J. Lester (Eds), Marine Shrimp Culture: Principles and practices. Elsevier, Amsterdam, pp. 93-169.
- Brown, A. Jr. y D. Patlan, 1974. Color changes in the ovaries of penaeid shrimp as a determinant of their maturity. Mar. Fish. Rev., 36(7):23-26.
- Brown, A. J.P., B.M. McVey, T.D. Scott, B.S. Williams, A. Middleditch y A.L. Lawrence, 1980. The maturation and spawning of *P.stylirostris* under controlled laboratory conditions. WMS. 11: 488-499.
- Caillouet, C. W.,1973. Ovarian maturation by eyestalk ablation in pink shrimp *Penaeus dourarum* Burkenroad. Proc. World maricul. Soc. 11: 448- 499.

- Campbell, N. A. y J.A. B. Reece, 2005. Biology, 7th ed. / AP edition, San Francisco. California. USA. 1231 p.
- Cepal, 2006. Estudio Económico de América Latina y el Caribe 2005–2006. Comisión económica. Naciones unidas para américa latina y el caribe. 56:45-53.
- Chamberlain, G., 2004. Cultivo sostenible de camarón: mitos y realidades. 21:34-45.
- Chamberlain, G.W. y A. L. Lawrence, 1981. Maturation, reproduction, and growth of *Penaeus vannamei* and *P.stylirostris* fed different diets. J. World Maricul. Soc. 12:209-244.
- Chen, F., B. Reid y C.R. Arnold, 1990. Maturation, spawning and egg collecting of the white shrimp *Panaeus vannamei* Bone in the recirculating system (Abstract) World Aquaculture. Soc. 21st Annual Conf. p. 76.
- Chow, S. y P.A. Sandifer, 2001. Sperm–egg interaction in the palaemonid shrimp *Palaemonetes vulgaris*. Fisheries Science. 67: 370–372.
- Clark, W. H., P. Talbot, R.A. Neal, C. Møck y B.R. Salser, 1973. *In vitro* fertilization with non-motile spermatozoa of the brown Shrimp *Penaeus aztecus*. Marine biology 22: 353-354.
- Clark, W. H.JR., M.G. Kleve y A. I. Yudin, 1981. An acrosome reaction in natantian shrimp. J. exp. Zool. 218: 291.
- Cnaani, A., G.A.E. Gall y G. Hulata, 2000. Cold tolerance of tilapia species and hybrids subtropical parts of Africa, aquaculture international 8: 289–298.
- Comité de Sanidad Acuícola del Estado de Sonora (COASES), 2007. <http://www.cosaes.com/>.
- Cotter, P.A., S. R. Craing y E. Mclean, 2008. Hyperraccumulation of selenium in hybrid striped bass: a functional food for aquaculture?. Aquaculture nutricion 14: 215-222.
- Dall, W., B.J. Hill, P.C. Rothlisberg, D.J. y Staples, 1990. The biology of the penaeidae. Adv. Mar. Biol.,27: 70-89.

- Dunham, R.A. 1987. American catfish breeding programmes. En: Tiews, K. (ed.), election, hybridization and genetic engineering in aquaculture of fish and shellfish, Vol. 2. FAO, pp. 407-416.
- Dunham, R.A., R.E. Brummet, M.O. Ella y R. O. Smitherman. 1990. Genotype-environment interactions for growth of blue, channel, and hybrid catfish in ponds and cages at varying densities. *Aquaculture*. 85: 143-151.
- Dunham, R.A. y R.O. Smitherman, 1983. Response to selection and realized heritability for body weight in three strains of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, grown in earthen ponds. *Aquaculture*. 33: 88-96.
- Dunham, R.A., Majumdar, K. Hallerman, E. Bartley, D. Mair, G. Hulata, G. Liu, Z. Pongthana, N. Bakos, J. Penman, D. Gupta, M. Rothlisberg, P. & Hoerstgen-Schwark, G. 2000. Review of the status of aquaculture genetics. *Aquaculture in the third millennium*. Technical proceedings of the conference on aquaculture in the third millennium, Bangkok, Thailand, 120:137-166.
- FAO, 2004. Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina. Documento técnico de pesca. 450.66 p.
- FAO, 2006a. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma. 172 p.
- FAO, 2006b. State of world aquaculture: 2006. Documentos técnicos de pesca. N° 500. Roma. 134 p.
- FAO, 2006c. Regional review on aquaculture development. Latin America and the Caribbean. 177 p.
- Fryer, G. y T.D. Iles, 1972. The cichlid fishes of the great lakes of Africa: Their biology and evolution. Oliver and Boyd, Edinburgh. 641 pp.
- Goguenheim, J., J. Barret, J. Patrois, C. Cahu, y C. Fauvel, 1987. *Penaeus vannamei*: Broodstock constitution, maturation and artificial insemination. *J. World aquacult. Soc.*, 18: 33A. (Abstract).
- Gong, H., D. Jiang, A. Rojas, L. Juarez, 2008. Evaluation of family effect on *Penaeus vannamei* refractory to IHHNV infection. *World aquaculture*, No. 380. 11pp.

- Gutierrez-Millan, L.E., A.B. Peregrino, R.G. Sotelo, F.V. Avarez y G.Y. Plascencia, 2002. Sequence and conservation of a Rrna and tRNA^{Val} mitochondrial gene fragment from *Penaeus californiensis* and comparison with *Panaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris*. Marine biotechnology,4: 392-398.
- Head, W. D., A. Zerbi y W. O. Watanabe, 1994. Preliminary observatoins on the maketability of saltwater-cultured Florida red tilapia in Puerto Rico. J. World aquaculture Soc. 25: 432-441.
- Hedgecock, D., 1987. Interspecific hybridization of economically important crustaceans. En: K. Tiews (editor), proc. World symp. on selection, hybridization, and genetic engineering in aquaculture, Bordeaux, may 1986. H. Heenemann GmbH, Berlin, Vol. 2: 61-69.
- Heinen, J. M., 1976. An introduction to cultureure methods for larval and postlarval shrimp. Proc. World Maricult. Soc. 7:333-344.
- Hudinaga, M., 1942. Reproduction, development, and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jap. Jour Zool. 10: 305-309.
- Instituto Nacional de Pesca, 2001. Pesquerias del pacifico. México 50 p.
- Kitani, H., 1986a. Larval development of the blue shrimp. *Penaeus stylirostris* Stimson reared in the laboratory. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 52: 1121-1130.
- Kitani, H., 1986b. Larval development of the blue shrimp. *Penaeus vannamei* Boone reared in the laboratory and the statical observation of its naupliar stages. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 52:1131-1139.
- Kruevaisayawan, H., R., Vanichviriyakit, W. Weerachayanukul, S. Iamsaard, B. Withyachumnarnkul, A. B., N. Tanphaichitr, P. Sobhon, 2008. Induction of the acrosome reaction in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, Requires sperm trypsin-like enzyme activity. The society for the study of reproduction. 26 p.
- Lahav, M. y E. Lahav, 1990. The development of all-male tilapia hybrids in Nir David. Isr. J. Aquacult. Bamidgeh, 42:58-61.

- Lawrence, A.L., W.A. Bray, J.S. Wilkenfield y L.J. Lester, 1984. Successful interspecific crosses of two species of marine shrimp, *Penaeus stylirostris* x *Penaeus setiferus*. World maricult. Soc.: 39 (abstract).
- Leung-Trujillo, J.R., A.L. Lawrence, 1987. Observations on the decline in sperm quality of *Penaeus setiferus* under laboratory conditions. Aquaculture, 65: 363-370.
- Lim, C., B. Leamaster y J. A. Brock, 1993. Riboflavin requirement of fingerling red hybrid tilapia grown in seawater. J. World Aquaculture Soc. 24: 451-458.
- Lin, M.-N., Y.Y. Ting y I. Hanyu, 1988. Hybridization of two close-thelycum penaeid species *Penaeus monodon* x *P. penicillatus* and *P. penicillatus* x *P. monodon*, by means of spermatophore transplantation. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., 45: 83-101.
- Lynn, J. W. y W. H. Clark Jr, 1983. A morphological examination of sperm-egg interaction in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Biol. Bull. 164:1-13.
- Maguire, G.B. y G.L. Allan, 1992. Shrimp culture industry in Australia. En: A.W. Fast and L.J. Lester (Editors), Marine shrimp culture: Principals and practices. Elsevier science publishers, Amsterdam, 757-769.
- Melena, J., 2005. Estudio de la coinfección viral IHNV-WSSV y de la exposición a WSSV inactivado en el camarón blanco *Penaeus vannamei*. CENAIM. No. 130.6.
- Misamore, M. y C.L. Browdy, 1997. Evaluating for hybridization potential between *Penaeus vannamei* and *Penaeus setiferus*. Through natural mating, artificial insemination and *in vitro* fertilization. Aquaculture, 150: 1-10.
- Moore, K.L., 1990. Embriología básica. Nueva editorial interamericana, S.A. 123 p.
- Morales-Covarrubias M.S., L.M. Nunan, D.V. Lightner, 1999. Prevalence of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHNV) in wild adult blue shrimp *Penaeus stylirostris* from the Northern Gulf of California, Mexico. Journal of aquatic Animal Health. Volumen 1: 296-301.
- Ottogalli, L., 1989. Increased production of nauplii *Penaeus stylirostris*, Mexican strain from a captive broodstock, using ablated and generated males for artificial insemination. J. World Aquacult. Soc., 20: 61A. (Abstract).

- Palumbi, S.R., J.A.H. Benzie, 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar Penaeid shrimp. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 1: 27-34.
- Pantoja, C.R., D.V. Lightner, K.H. Holtschmit, 1999. Prevalence and geographic distribution of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in wild blue shrimp *Penaeus stylirostris* from the gulf of California, Mexico. *Journal of aquatic animal health*, Volume 11:23-34.
- Pérez, F.I., y B. Kensley, 1997. Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world: keys and diagnoses for the families and genera. *Mémoires du muséum nationale d'histoire naturelle*, tome 175. 233 p.
- Persyn, H. O., 1977. Artificial insemination of shrimp. U.S. Patent 4,031,855, June 28: 4
- Primavera, J. H., 1978. Induced maturation and spawning in five-month-old *Penaeus monodon* Fabricius by eyestalk ablation. *Aquaculture*, 13: 355-359.
- Primavera, J.H. y R.A. Posadas, 1981. Studies on the egg quality of *Penaeus monodon* Fabricius, base on morphology and hatching rates. *Aquaculture*, 22: 269-277.
- Primavera, J. H., T. Young y C. de los Reyes, 1982. Survival, maturation, fecundity and hatching rates of unablated and ablated *Penaeus indicus* H.M. Edwar from brackish water ponds. *Proc. Symp. Coastal Aquacul., Cochin*, 1: 48-51.
- Redon, M.J., R.M^a.Ros, J.A. Rielo y M^a. San Feliu, 1997. First attemp of interespecific hybridization between the shrimps *Penaeus kerathurus*, Forskal, 1775 and *Penaeus japonicus* Bate, 1888. *Aquaculture research*, 28: 271-277.
- Rojas, E. y J. Alfaro, 2007. *In vitro* manipulation of egg activation in the open thelycum shrimp *Litopenaeus*. *Aquaculture*, 264: 469-474.
- Rosenberry, B. 2005. Annual reports on world shrimp farming. 78 p.
- Rosenstein, S. y, G. Hulata, 1993. Sex reversal in the genus *Oreochromis*: optimization of feminization protocol. *Aquaculture fish. Manage*, 25: 329-339.
- Sagarpa. Instituto Nacional de la Pesca, 2004. Resultados del análisis de las poblaciones de camarón de bahías durante la veda del 2004 en el litoral del pacífico. México. 35 p.

- Sagarpa. Instituto Nacional de la Pesca, 2006. Resultados del análisis de las poblaciones de camarón del litoral del pacífico para implementación de la veda 2006. México. 20 p.
- Silas, E.G., 1978. Breeding and rearing of marine prawns. Central marine fisheries research institute. India. No. 3:57-67.
- Smith, T.I.J., 1988. Aquaculture of striped bass and its hybrids in north America. Aquaculture magazine, 14: 40-49.
- Suresh, A. V., 1991. Culture of walking catfish in Thailand. J. Aquacult.-trop, 2: 10-12.
- Ting, Y.Y., M.N. Lin, B.Sh. Tzenz y Ch.D. Li, 1991. Hybridization in four closed thelycum *Penaeus* spp. and morphology of juvenile offsprings. Nippon Suisan Gakkaishi 57(7), 1285-1292.
- Tomich, P.Q., 1986. Mammals in Hawaii. Second edition. Berenice P. bishop. Museum special publication No.76. Honolulu: Bishop museum press.375 p.
- Treece, G. D., 2000. Shrimp maturation and spawning. Texas A&M University, sea grant college program. UJNR technical report No. 28: 121-134.
- Treece, G.D. y M.E. Yates, 1993. Laboratory manual for the culture of penaeid shrimp larvae (ablation section). Texas A&M univ., sea grant college program, Bryan, TX, Pub. 88-202(R). 95 p.
- Unzueta-Bustamante, M.L., K.H. Holschmit, J.A. Olivas-Valdez, 1998. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in wild parent stocks of blue shrimp, *Penaeus stylirostris* (Stimpson), in Guaymas Bay, Sonora, Mexico. Ciencias marinas. Volume: 24: 491-498.
- Wallis, H. C. Jr., G. M. Kleve y I. Yudin, 1995. Reproductive biology . An acrosome reaction in natantian sperm. Journal of experimental zoology. Volume 218.:279-291.
- Wohlfarth, G.W., 1994. The unexploited potential of tilapia hybrids in aquaculture. Aquaculture fish. Manage, 25: 781-788.

Wyban, J.A. y J.N. Sweeney, 1991. The oceanic institute shrimp manual: Intensive shrimp production technology. The oceanic institute, Makapu Point, Waimanalo, Hawaii, USA. 85 p.

Yano, I. y J. A. Wyban, 1993. Effect of unilateral eyestalk ablation on spawning and hatching in *Penaeus vannamei*. Bull. Natl. Res. inst. aquaculture No. 22: 21-25.

Yano, I., 1984. Induction of rapid spawning in kuruma prawn, *Penaeus japonicus*, through unilateral eyestalk enucleation. Aquaculture, 40: 265-268.

Yano, I., R. A Kanna., R. N. Oyama, J. A. Wyban, 1988. Mating behavior in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. Marine. Biology, 97: 171-175.

ANEXO I

Resultado de la Verificación Sanitaria de 6 muestras de camarón, para el análisis de detección de IHNV por PCR.



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE, S.C.

LABORATORIO DE ANÁLISIS INTEGRAL ACUICOLA
UNIDAD SONORA, CAMPUS HERMOSILLO



Fecha de Recepción: 01 de Abril de 2008

Fecha de entrega: 04 de Abril de 2008


Proponente: Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la
Universidad de Sonora
At'n: Dr. Martín Pérez Velázquez

Servicio: Verificación Sanitaria de 6 muestras de Camarón, para su análisis de
detección de IHNV por PCR.

Clave de muestra	Origen de la Muestra	IHNV
M1	Hemolinfa camarón blanco	ND
M2	Hemolinfa camarón blanco	D
M3	Hemolinfa camarón blanco	NO
M4	Hemolinfa camarón Azul	ND
M5	Hemolinfa camarón Azul	D
M6	Hemolinfa camarón Azul	D

ND: ADN viral correspondiente a (IHNV) NO detectado

D: ADN viral correspondiente a (IHNV) Detectado


Dr. Jorge Hernández López
Investigador Responsable del LAIA


Biol. Daniel Eduardo Coronado Molina
Responsable del análisis