



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Guasave el día 03 del mes Diciembre del año 2010, el (la) que suscribe Biol. Breidy Lizeth Cuevas Rodríguez alumno (a) del Programa de Maestría en Recursos Naturales y Medioambiente con número de registro B081119, adscrito a CIIDIR - SINALOA , manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. Hervey Rodríguez González y Dr. G. Manuel Parra Bracamonte cede los derechos del trabajo intitulado “Evaluación Productiva y variabilidad genética de especies de tilapia del género *Oreochromis* en el estado de Sinaloa”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección breidyc@hotmail.com Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Breidy Lizeth Cuevas Rodríguez
Nombre y firma



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTORES DE TESIS

Guasave, Sin. a 16 de Noviembre del 2010

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR-SINALOA en su sesión Extraordinaria No. 19 celebrada el día 19 del mes de Noviembre conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

CUEVAS

Apellido paterno

RODRÍGUEZ

Apellido materno

BREIDY LIZETH

Nombre (s)

Con registro:

B	0	8	1	1	1	9
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

Evaluación productiva y variabilidad genética de especies de tilapia del género *Oreochromis* en el estado de Sinaloa.

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

Evaluar el crecimiento, conversión alimenticia y sobrevivencia de tres especies de Tilapia.

Analizar la variabilidad genética de tres especies de Tilapia.

Inferir el efecto del estado de variabilidad genética de las tres especies de Tilapia estudiadas sobre los indicadores de producción.

2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:

Dr. Hervey Rodríguez González

Dr. Gaspar Manuel Parra Bracamonte

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesina será elaborado por el alumno en: CIIDIR- SINALOA

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

Directores de Tesis

Dr. Hervey Rodríguez González

Aspirante

Breidy Lizeth Cuevas Rodríguez

Dr. Gaspar Manuel Parra Bracamonte

Presidente del Colegio

Dr. Jorge Montiel Montoya



CIIDIR - IPN
UNIDAD SINALOA
DIRECCION



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Guasave siendo las 10:30 horas del día 03 del mes de Diciembre del 2010 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR- SIN para examinar la tesis titulada:

Evaluación Productiva y variabilidad genética de especies de tilapia del género *Oreochromis* en el estado de Sinaloa.

Presentada por el alumno:

Cuevas
Apellido paterno

Rodríguez
Apellido materno

Breidy Lizeth
Nombre(s)

Con registro:

B	0	8	1	1	1	9
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de: Maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente

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

LA COMISIÓN REVISORA

Director de tesis

Directores de tesis

Director de tesis

Dr. Hervey Rodríguez González

Dr. Gaspar Manuel Parra Bracamonte

Dra. Melina López Meyer

Dr. Javier Orduña Rojas

Dr. Sergio Medina Godoy

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES
Dr. Jorge Montiel Montoya

Jorge Montiel m.



CIIDIR - IPN
UNIDAD SINALOA
DIRECCION



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL



**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO
INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD-SINALOA**

DEPARTAMENTO DE ACUACULTURA

“Evaluación productiva y variabilidad genética de especies de tilapia
del género *Oreochromis* en el estado de Sinaloa.”

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE**

PRESENTA

BREIDY LIZETH CUEVAS RODRÍGUEZ

GUASAVE, SINALOA, DICIEMBRE DE 2010.

Este trabajo se llevó a cabo en el Departamento de Acuicultura del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR), Unidad Sinaloa y el Centro de Biotecnología Genómica (CBG) Unidad Reynosa, Tamaulipas del Instituto Politécnico Nacional (IPN) bajo la dirección del Dr. Hervey Rodríguez González y Dr. G. Manuel Parra Bracamonte. Para su desarrollo se recibió financiamiento a través del proyecto: Fondo Mixto CONACYT. La autora agradece el apoyo económico brindado por el IPN como becario PIFI y del programa de becas, así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada CVU 269508 durante la realización de este trabajo.

Dedicatorias:

A mi papi Faustino Cuevas que en el lugar donde te encuentres se que estas a mi lado y me ayuda para salir adelante. A mi mami Graciela Rodríguez te doy las gracias por estar siempre a mi lado siendo parte fundamental en mi vida brindándome todo tu amor y comprensión, y sobre todo, por la confianza y el apoyo para realizar una meta más en mi vida.

A mi hermanos René, Roque, Lorena, Víctor, Germán, Marlene, Fredy, Edith y Faustino gracias por estar siempre apoyándome y nunca decirme que no cuando los necesitaba los quiero mucho.

A mis sobrinos Yendi, Yami, Oscarito, Ernesto, Kevin, Huguito, Marian, Irving, Frida, Gynette, Amelí y Estefanía por alegrarme la vida en todo momento.

A ti Paco, eres parte de mi vida y que me has brindado todo tu apoyo, cariño y comprensión en la realización de este trabajo, muchas gracias.

Agradecimientos

A Dios que me dio la oportunidad de disfrutar y compartir con mi familia y amigos de una etapa más en mi vida.

A mi director de tesis Dr. Hervey Rodríguez por brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica pero sobre todo por su amistad. Así como a mi segundo director Dr. Manuel Parra por su apoyo y la dirección de este trabajo, muchas gracias por darme la oportunidad de trabajar con usted. A los miembros del comité tutorial: Dr. Javier Orduña Rojas, Dra. Melina López Meyer, Dr. Sergio Medina Godoy; por sus comentarios, críticas y observaciones acertadas que sirvieron para realizar un mejor trabajo y sobre todo por el tiempo dedicado para la revisión de este trabajo.

A la Dra. Ana María le agradezco de todo corazón sus enseñanzas en el laboratorio muchas gracias.

A mis amigos Blanca Elvira, Glenda, Víctor y Leonardo gracia, creo que a su lado adquirí los mejores conocimientos.

A mis otros amigos: Blanca, César, Esteban, Luis Daniel, Lulú, Ángel, Myrna, Lucky.

A mis compañeros Ma. Del Carmen, Damaris, Nataly, Magda, Odette y Edaly.

Ely Sara, Juan Carlos Martínez, Arturo Polanco, Arturo Fierro y Araceli por su amistad y el apoyo brindado en la realización de este trabajo.

A mis amigos de Reynosa: Luis, Víctor, Brenda, Perla, Rey David, Williams, Xochitl y Diana gracias hicieron que mi estancia aquí fuera más amena.

A Celestino, Ricardo, Don Robert, Dorin, y Elvira, por su amistad.

A todas y cada una de las personas que de una u otra forma fueron parte de la realización de este trabajo.

Gracias !!!

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	VI
GLOSARIO.....	VII
ABREVIATURAS.....	XIV
ABSTRACT.....	XVI
RESUMEN	XVII
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- ANTECEDENTES.....	3
2.1.- Acuicultura en México	3
2.2.- Métodos de cultivo.....	3
2.3.- La acuicultura de Sinaloa	4
2.4.- Cultivo de tilapia	5
2.2.- DATOS BIOLÓGICOS BÁSICOS DE TILAPIA	6
2.2.1.- Descripción taxonómica y morfológica de tilapia del género Oreochromis.....	6
2.2.3.- Reproducción y sexualidad	8
2.2.4.- Crecimiento y desarrollo.....	8
2.2.5.- Ventajas del cultivo de tilapia	9
2.3.- PRINCIPALES PROBLEMAS GENÉTICOS PARA TILAPIA.....	10
2.3.1.- Genoma de la tilapia.....	11
2.3.2.- Marcadores genéticos.....	13
2.3.3.- Polimorfismos de Longitud de Secuencias Simples (SSLPs).....	14
2.3.4.- Marcadores microsatélites.....	14
2.3.5.- Biotecnología en acuicultura	15

2.4. MEDIDAS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA	17
2.4.1.- Diversidad dentro de poblaciones.....	17
2.4.2.- Equilibrio de Hardy - Weinberg	19
2.4.3.- Diferenciación de poblaciones	22
3.- JUSTIFICACIÓN	24
4.- OBJETIVO GENERAL	25
5.- HIPÓTESIS	25
6.- MATERIALES Y MÉTODOS	25
6.1. Obtención de líneas genéticas de tilapia	25
6.2.- Sistema de cultivo	25
6.3.- Evaluación de variables productivas	26
6.4.- MONITOREO DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS	26
6.5.- EVALUACIÓN GENÉTICO MOLECULAR DE ESPECIES DE TILAPIA	27
6.5.1.- Aislamiento de ADN	27
6.5.2.- Cuantificación y verificación de la calidad del ADN	28
6.6.- SELECCIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES PARA LAS ESPECIES DEL GÉNERO <i>OREOCHROMIS</i>	28
6.6.1.- Optimización de la reacción de PCR	30
6.6.2.- Análisis de los productos de PCR.....	31
6.7.- GENOTIPIFICACIÓN DE TRES ESPECIES DE TILAPIA <i>O. MOSSAMBICUS</i>, <i>O. AUREUS</i> Y <i>O. NILOTICUS</i>	32
6.7.1.- Determinación del número, tamaño y frecuencias alélicas de las muestras de las tres especies de tilapia.....	32
6.8.- Variabilidad genética	32
6.8.1.- Equilibrio de Hardy- Weinberg	33
6.8.2.- Número efectivo de alelos (A_e).....	33

6.8.3.-Análisis coeficiente de consanguinidad (FIS) por especie.	34
6.8.4.- Tamaño efectivo de la población y diversidad génica (N_e)	34
6.8.5.- Análisis de diferenciación genética entre poblaciones.	34
6. 9.- Análisis estadístico	¡Error! Marcador no definido.
7. – RESULTADOS	36
7.1.- PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DEL AGUA.....	36
7.1.1.- Oxígeno disuelto	36
7.2.- Temperatura	37
7.3.- Evaluación de las variables de producción.....	38
7.4.- Supervivencia final promedio de <i>O. mossambicus</i> , <i>O. niloticus</i> , y <i>O. aureus</i>	39
7.5.- FACTOR DE CONVERSIÓN ALIMENTICIA	40
7.6.- GANANCIA EN PESO DIARIA.....	40
7. 7.- RESULTADOS DE VARIABILIDAD GENÉTICA.....	41
7.7.1.- Obtención de ADN genómico	41
7.7.2.- SELECCIÓN DE LOS MICROSATÉLITES UTILIZADOS EN EL SECUENCIADOS SEMIAUTOMÁTICO LI – COR.	41
7.7.3.- CONDICIONES DE OPTIMIZACIÓN DE LAS REACCIONES DE PCR	41
7.7.5.- ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS DE PCR.....	43
7.8.- ANÁLISIS GENÉTICO	43
7.8.1. Análisis de diversidad genética.	43
7.8.4.- Diversidad alélica	46
7.8.5. -Tamaño efectivo de población	52
7.8.6.- DIFERENCIACIÓN GENÉTICA.	53
8.- DISCUSIÓN	54

8.1. -PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DEL AGUA.....	54
8.2.- Variables de producción de tres especies de tilapia del género Oreochromis.....	54
8.3.- Evaluación de variabilidad genética de tres especies de tilapia del género Oreochromis.....	57
8.4.- TAMAÑO EFECTIVO DE LA POBLACIÓN.....	61
9.- CONCLUSIONES.....	63
9.- BIBLIOGRAFÍA	64
10.-ANEXOS.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Número	Título	Página
1	Descripción externa de tilapia.	7
2	Características sexuales de macho y hembra de tilapia (Tomado de Saavedra, 2006).	8
3	Unión de los mapas genéticos de <i>O. niloticus</i> y la <i>O. aureus</i> (Lee et al., 2004).	12
4	Oxígeno disuelto registrado en el bioensayo de producción de tres especies durante 150 días de cultivo.	30
5	Temperatura registrada en el bioensayo de producción de tres especies de tilapia durante 150 días de cultivo.	31
6	Peso final promedio <i>O. aureus</i> , <i>O. mossambicus</i> , y <i>O. niloticus</i> . La gráfica muestra la media \pm error estándar (barras). Letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$).	32
7	Sobrevivencia final promedio de <i>O. mossambicus</i> , <i>O. aureus</i> y <i>O. niloticus</i> . No se encontraron diferencias significativas para esta característica ($p < 0.05$). La gráfica muestra el promedio \pm error estándar (barras). Letras diferentes representa diferencias significativas ($p < 0.05$).	35
8	Factor de conversión alimenticia (FCA) de las tres especies evaluadas (media \pm error estándar). Letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$).	34
9	Muestras de DNA genómico de Tilapia. Se muestra el resultado de la extracción de DNA genómico separado por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. Los carriles 1-18 corresponden a la especie <i>Oreochromis aureus</i> .	35
10	Marcador microsatélite Locus UNH 207 (174 pb) especie <i>O. niloticus</i> . Carril M, marcador de peso molecular. Las líneas azules nos indican los tamaños de los alelos esperados de acuerdo al marcador de peso molecular de cada una de las muestras de la población en estudio.	39
11	Diferenciación genética por medio del análisis factorial entre las especies de tilapia <i>O. mossambicus</i> , <i>O. aureus</i> y <i>O. niloticus</i> . Los cuadros amarillos representan la especie <i>O. mossambicus</i> , los cuadros azules representan a la especie <i>O. aureus</i> y los cuadros blancos representa a la especie <i>O. niloticus</i> .	49

ÍNDICE DE TABLAS

Número	Título	Página
1	Características de desarrollo y crecimiento de tilapia.	9
2	Secuencia de oligonucleótidos para amplificar los 11 loci microsatélites a ser probados en tres especies de <i>Tilapia Oreochromis mossambicus</i> , <i>O. aureus</i> y <i>O. niloticus</i> .	29
3	Experimentos básicos de optimización de PRCs.	30
4	Condiciones de electroforesis de los productos de PCR.	30
5	Interpretación de valores de FST	34
6	Ganancia diaria en peso (GDP) de las tres especies evaluadas media \pm error estándar).	39
7	Condiciones para la amplificación de cada <i>locus</i> microsatélite seleccionado	41
8	Programas de amplificación por PCR incluidos en el programa Touchdown del termociclador Perkin Elmer (PT 9700).	42
9	Niveles informativos de los microsatélites en variabilidad genética de las tres especies de tilapia.	46
10	Parámetros de diversidad genética para la especie de <i>Oreochromis mossambicus</i> .	46
11	Parámetros de diversidad alélica para la especie <i>Oreochromis aureus</i> .	47
12	Parámetros de diversidad alélica para la especie <i>Oreochromis niloticus</i> .	48
13	Coeficiente de consanguinidad y heterocigocidad y equilibrio de Hardy -Weinberg estimado para tres especies de tilapia del género <i>Oreochromis</i> .	50
14	El tamaño efectivo de población para cada una de las especies.	51

GLOSARIO

Acuicultura.- Conjunto de técnicas y actividades cuyo objetivo es la cría en cautiverio de organismos acuáticos (peces, moluscos, crustáceos, reptiles o algas) en agua cuyo mayor o menor carácter intensivo depende del grado de intervención del hombre en los ciclos biológicos de los organismos en cuestión.

Adaptación: Conjunto de características estructurales, fisiológicas o de comportamiento que incrementan la probabilidad de que un individuo sobreviva o deje más progenie en un ambiente particular.

ADN: Ácido desoxirribonucleico; ácido nucleico del material genético.

ADN microsatélite: Tipo de ADN repetitivo, que consiste en repeticiones muy cortas, tales como dinucleótidos, trinucleótidos o tetranucleótidos. Denominado también repeticiones de secuencia simple (SSR).

Alelo: Una de las formas variantes de un gen en un locus o de un marcador particular en un cromosoma. Diferentes alelos de un gen producen variaciones en las características hereditarias tales como el color del cabello o el tipo de sangre.

Aireación.- Mezcla mecánica de aire y agua, en general se refiere a un proceso mediante el cual los gases contenidos en el aire son transferidos a través de la interface aire-agua.

Alimento balanceado.- Es el alimento que confiere nutrimentos en cantidades y proporciones que satisfacen los requerimientos y necesidades fisiológicas de los or

Biodiversidad: Se refiere a la variabilidad de la vida; abarca tres niveles de expresión: ecosistemas, especies y genes. Esta diversidad se expresa en los diferentes tipos de ecosistemas, el número de especies, el cambio de riqueza de especies de una región a otra, el número de especies endémicas, las subespecies y variedades o razas de una misma especie.

Conservación: El manejo del uso de la biosfera para que pueda producir el mayor beneficio sostenible a las generaciones actuales mientras se conserva su potencial para satisfacer las necesidades y aspiraciones de las generaciones futuras. En estos términos, la conservación es positiva; abarca la preservación, el mantenimiento, el uso sostenible, la restauración y el mejoramiento del ambiente natural.

Cromosoma: Es el resultado del empaquetamiento del ADN y las proteínas previo a la división celular para su segregación posterior en las células hijas. Los cromosomas se encuentran en el núcleo de las células y diferentes especies tienen diferente número y morfología de cromosomas. Cada uno de los progenitores aporta un cromosoma a cada par, de manera que los hijos reciben la mitad de los cromosomas de la madre y la mitad del padre.

Deriva genética: Es un proceso natural que tiende a homogeneizar la información genética de los individuos de una población como consecuencia de la transmisión aleatoria de determinados alelos de una generación a otra. Se trata de un proceso que al mismo tiempo que provoca una reducción en la variación genética dentro de razas, con un incremento en la frecuencia de homocigotos dentro de la misma, va a ocasionar que poblaciones aisladas se vayan diferenciando más, puesto que la probabilidad de que dos poblaciones aisladas evolucionen igual es muy baja.

Desequilibrio del ligamiento: a la propiedad de algunos genes de las poblaciones genéticas de no segregarse de forma independiente, esto es, poseen una frecuencia de recombinación menor del 50%. Esto suele deberse a que los dos *loci* implicados se

encuentran en el mismo cromosoma, lo que imposibilita su transferencia a la progenie de manera aleatoria con la separación de los cromosomas en anafase.

Diploide: El número de cromosomas en la mayoría de las células, excepto en los gametos o células germinales. En los humanos el número diploide es 46. El término diploide describe el número completo de copias del genoma en una célula determinada. Di significa dos y ploide se refiere al número de copias. Así, la inmensa mayoría de las células normales contienen dos copias del genoma, cada una proveniente de cada progenitor y se conocen como células diploides.

Distancia genética: El grado de afinidad entre subgrupos o poblaciones estimado mediante diversos estadísticos.

Diversidad biológica: La totalidad de genes, especies y ecosistemas en una región dada, sea ésta un microhábitat o la biosfera. Se llama también biodiversidad.

Diversidad de especies: Es una función de la distribución y abundancia de las especies. Su significado es similar a 'riqueza de especies'. En la literatura más técnica, incluye consideraciones sobre la uniformidad de la abundancia de especies. Según la definición más técnica, se dice que un ecosistema es más diverso si las especies presentes tienen poblaciones de igual tamaño y que es menos diverso si muchas especies son raras y algunas son muy comunes.

Diversidad genética: Es la variación en la composición genética de los individuos dentro de la especie o entre especies diferentes; es la variación genética hereditaria dentro de las poblaciones y entre ellas.

Domesticación: Evolución de las plantas o los animales, de manera natural o por selección artificial, hacia las formas más útiles para el hombre.

Endogamia: Apareamiento entre individuos de un mismo linaje.

Especie: se denomina especie (del latín *species*) a cada uno de los grupos en que se dividen los géneros, es decir, la limitación de lo genérico en un ámbito morfológicamente concreto.

Equilibrio de Hardy-Weinberg: La ley de Hardy-Weinberg representa a una población grande de individuos diploides, con reproducción sexual aleatoria, sin selección, mutación y migración, las frecuencias génicas y genotípicas permanecen constantes de generación en generación y, además, existe una relación simple entre ambas. Así, una población con frecuencias génicas y genotípicas constantes, se dice que está en equilibrio H-W.

Factor de conversión alimenticia.- Se determina estableciendo la relación entre el alimento proporcionado y la ganancia de peso en el tiempo de suministración del alimento.

Fenotipo: Apariencia física de un organismo, producto de la interacción de su genotipo y el ambiente en el que se encuentra.

FIS: Coeficiente de consanguinidad, mide la reducción de la heterocigocidad de un individuo debido a los apareamientos no al azar dentro de una subpoblación. Se refiere a la consanguinidad individual (I), en relación a la subpoblación (S) a la cual pertenece. Mide la deficiencia o el exceso de heterocigotos promedio en cada población.

Gen: La unidad física y funcional de la herencia, que se pasa de padres a hijos. Los genes están compuestos por ADN y la mayoría de ellos contiene la información para elaborar una proteína específica.

Genética de poblaciones: El estudio cuantitativo y la medida de las poblaciones en términos estadísticos; por ejemplo, el estudio de los fenómenos genéticos en función

de parámetros estadísticos estándar como cuadros y distribuciones de frecuencia, medias, varianza y desviaciones estándar.

Genoma: Todo el ADN contenido en un organismo o célula, que incluye tanto los cromosomas dentro del núcleo como el ADN en las mitocondrias.

Genotipo: La identidad genética de un individuo que no se muestra como características externas.

Haploide: Una dotación sencilla de cromosomas (la mitad de la serie completa de material genético) presente en cada óvulo y célula espermática de los animales.

Heterocigosidad esperada H_e : Es la frecuencia relativa de individuos heterocigotos observados en la muestra para cualquiera de los *loci*.

Heterocigosidad observada H_o : Es la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean diferentes.

Heterocigoto: Que posee dos formas diferentes de un gen en particular; cada una heredada de cada uno de los progenitores. Un individuo diploide que tiene diferentes alelos en uno o varios *loci* genéticos. (Del griego: heteros, igual).

Homocigoto: Que posee dos formas idénticas de un gen específico heredadas de cada uno de los progenitores.

Informatividad: Para un marcador genético, la probabilidad de que un descendiente de una pareja sea informativo, es decir, que se pueda deducir el origen parental de cada uno de los alelos de ese locus.

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

Marcador microsatélite: Un tipo de secuencia simple de longitud polimorfa de unidades di, tri o tetranucleótidos repetidas en tándem. También llamadas repeticiones cortas en tándem (STR por sus siglas en inglés).

Mutación: Cambio en el ADN que modifica su información génica. Puede darse por inserción, sustitución o pérdida de nucleótidos. Comúnmente se emplea también para designar un cambio en el número o en la disposición de los cromosomas.

Nucleótido: Monómero de ácidos nucleicos, cada uno con tres partes: un azúcar (ribosa o desoxirribosa), un grupo fosfato y una base nitrogenada; el fosfato está unido al azúcar y al carbono 5' y a la base del carbono 1'.

Oreochromis: es un gran género de tilapiine cíclidos , peces endémicos de África. Los miembros de este género, así como las de los géneros *Tilapia* y *Sarotherodon* , comparten el nombre común " tilapia ".

Población: Biológicamente hablando, debe llenar las siguientes características: a) ser un grupo de organismos de una especie, b) que puedan intercambiar genes, c) que interactúen, d) que se desarrollen bajo condiciones ambientales similares, e) que se encuentren bajo la influencia de sus propios efectos sobre el ambiente y la de sus vecinos y f) cuya selección natural está afectada por sus atributos demográficos y por el medio físico y biótico.

Polimorfismo: Es la variación existente entre y dentro de los individuos de una población. Desde el punto de vista molecular, esta variación se denomina polimorfismo y deriva de cambios espontáneos en el ADN que van desde la sustitución, deleción o inserción de un solo nucleótido (SNPs), hasta mutaciones que involucran mayores números de sitios nucleotídicos (STRs).

Sobrevivencia.- Número de organismos vivos después de un intervalo de tiempo, dividido por el número inicial. Generalmente expresado sobre base anual o para el periodo de cría.

Taq ADN polimerasa: Enzima termoestable derivada de la bacteria *Thermus aquaticus* que cataliza la síntesis de ADN.

Tilapia.- Grupo de peces de origen africano que habita mayoritariamente en regiones tropicales del mundo. Sus extraordinarias cualidades, como crecimiento acelerado, tolerancia a altas densidades, adaptación al cautiverio, aceptación a una amplia gama de alimentos, resistencia a enfermedades, carne blanca de calidad y amplia aceptación, han despertado gran interés comercial en la acuicultura mundial.

ABREVIATURAS

A	Número de alelos
Ae	Número efectivo de alelos
ADN Ácido desoxirribonucleico	Ácido desoxirribonucleico
dNTPs trifosfatados	Desoxirribonucleótidos Desoxirribonucleótidos trifosfatados
°C	Grado centígrado
EDTA Ácido	Ácido Etilendiaminotetra-acético
EE	Error Estándar
FCA	Factor de Conversión Alimenticia
FIS	Coefficiente de consanguinidad
g	Gramos
G	Diversidad genética
He	Heterocigosidad esperada
GDP	Ganancia Diaria de Peso
Ho	Heterocigosidad observada
h	Horas
HW	Equilibrio de Hardy-Weinberg
L	Litro
m³	Metro cúbico
mL	Mililitro
mg/L	Miligramos por litro
mm	Milímetro

µg	Microgramo
µl	Microlitro
ng	Nanogramo
pb	Pares de bases (nucleótidos)
PIC	Contenido de información polimorfica (Polymorphic Information Content)
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction)
%	Porcentaje
pH -log[H⁺]	Potencial de iones hidrógeno
SNPs	Polimorfismos de un solo Nucleótido
RA	Rango alélico
STRs	Repeticiones Cortas en <i>Tandem</i>
Taq	ADN polimerasa de <i>Thermus aquaticus</i>

Abstract

The tilapia is the fish most commonly grown in freshwater lagoons and aquaculture systems in Mexico. This is because tilapia is a warm water species, and has the ability for adapting to changing conditions of salinity and temperature. In recent decades, the development of molecular techniques has impacted significantly the scope of aquaculture. This knowledge and tools can be applied in animal breeding, and helps to evaluate the genealogy, the levels of biodiversity and the productive potential of animal genetic resources. In the present study we evaluated genetic variants and production of three species of tilapia, *Oreochromis aureus*, *O. niloticus* and *O. mossambicus*. 3m diameter circulars containers with continuous aeration were used to assess production variables such as weight, length, feed conversion (FCR), survival and total biomass. The genetic variables measured were: genotypic and allelic frequencies, number of alleles observed and expected heterozygosities, Hardy Weinberg equilibrium, combined probability of exclusion, as well as informative parameters microsatellite panel such as the probability of exclusion. Eight microsatellite markers were used for this work (UNH145, UNH155, UNH160, UNH166, UNH190, UNH207, UNH208 and UNH211) and DNA banks made of 24 individual (12 males and 12 females) for each species was made. In the experiment, the average of water temperature was 24 ° C, and dissolved oxygen was 8 ± 1.3 mg/L. After 150 days, *O. aureus* and *O. mossambicus* showed the highest weight ($71.56 \pm 3.2g$, $69.23 \pm 4.8g$, respectively). There were no significant differences between treatment for FCA, daily weight gain and survival. The highly informative panel was designed for the three tilapia species evaluated, which showed 0.442 heterogocity and an average of 19 alleles for each species. The average of genetic diversity for *O. mossambicus* was 0.552, 0.813 for *O. aureus* and 0.789 for *O. niloticus*. *O. mossambicus* had less genetic variability, whereas *O. aureus* specie showed the highest genetic variability. Acceptable values of inbreeding were found for the three species of tilapia, and all of them are in Hardy – Weimberg disequilibrium. The effective number of population was 75.0 NE. Optimum conditions were established for the molecular characterization of three species of tilapia, through the use of microsatellite markers. The allele frequency analysis showed that genetic variability exists in the tilapia populations studied, ruling out the possibility that the observed phenotypic changes such as the size of individuals is caused by the effect of inbreeding.

Resumen

La tilapia es el pez que más se cultiva en agua dulce en sistemas lagunares y acuícolas en México. Esto es debido a que las tilapias son especies de aguas cálidas, y tienen la capacidad de adaptarse a condiciones diversas de salinidad y de temperatura. En las últimas décadas, el desarrollo de las técnicas moleculares está impactando significativamente los alcances de la acuicultura. La aplicación de estos conocimientos y herramientas en el mejoramiento genético animal, permite evaluar la genealogía, los niveles de biodiversidad y el potencial productivo de los recursos genéticos animales. En el presente estudio se evaluaron variables genéticas y productivas de tres especies de Tilapia: *Oreochromis aureus*, *O. niloticus* y *O. mossambicus*. Para evaluar variables productivas se utilizaron tinas circulares de linner de 3m de diámetro con aireación continua evaluando: peso, longitud, factor de conversión alimenticia (FCA), sobrevivencia y biomasa total. Las variables genéticas medidas fueron: frecuencias genotípicas y alélicas, número de alelos, heterocigosidades esperadas y observadas, equilibrio de Hardy Weinberg, probabilidades combinadas de exclusión, así como los parámetros informativos del panel de microsatélites como las probabilidades de exclusión, se utilizaron ocho marcadores microsatélites (UNH145, UNH155, UNH160, UNH166, UNH190, UNH207, UNH208 Y UNH211), y se realizó un banco de ADN de 24 organismos (12 machos y 12 hembras) para cada especie. Durante la evaluación de variables productivas la temperatura promedio del agua fue de 24°C y de oxígeno disuelto de 8 ± 1.3 mg/l. Después de 150 días se observó que *O. aureus* y *O. mossambicus* presentaron mayor peso ($71.56 \pm 3.2g$, $69.23 \pm 4.8g$). No se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para el FCA, ganancia diaria de peso y sobrevivencia.

El panel de microsatélites diseñado fue altamente informativo para las tres especies de tilapia evaluadas, las tilapias presentaron una heterocigosidad promedio de 0.442 y 19 alelos promedio para cada especie, así como una diversidad genética promedio para la especie *O. mossambicus* de 0.552, *O. aureus* de 0.813 y *O. niloticus* de 0.789; *O. mossambicus* fue la especie que presentó menos variabilidad genética y *O. aureus* la especie que presentó mayor variabilidad genética. Se encontraron valores aceptables de endogamia para las tres especies de tilapia, y las tres poblaciones en estudio se encuentran en desequilibrio de Hardy – Weimberg. Así como el número efectivo de población de 75.0 NE. Se establecieron las condiciones óptimas para la caracterización molecular de tres especies de tilapia, a través de la utilización de marcadores microsatélites. El análisis de frecuencias alélicas, mostró que existe variabilidad genética en las poblaciones de tilapia estudiadas, lo que descarta la posibilidad de que los cambios fenotípicos observados tales como la talla de los individuos sean ocasionados por efecto de consanguinidad.

1.- INTRODUCCIÓN

La producción de la acuicultura mundial contribuye de manera importante a cubrir las demandas de peces y organismos acuáticos para consumo humano. En 2002, la contribución de la acuicultura fue del 30% del total consumido mundialmente, y se calcula que en 2015 podría llegar hasta el 41% (FAO, 2000).

La producción piscícola mundial está sustentada principalmente por organismos dulceacuícolas (FAO, 2000). En este sentido, el cultivo de tilapia es el de mayor importancia en la acuicultura tropical, por ser una fuente importante de proteína y generación de divisas en los países con economías menos aceleradas (Fitzsimmons, 2000).

El cultivo comercial de tilapia en latinoamérica ha crecido enormemente en los últimos 25 años (FAO, 2000). En México, se han construido estanques con la intención de hacer de la piscicultura una actividad productiva rutinaria del campo, debido a que es una actividad capaz de proporcionar, además de alimento, recursos económicos y empleo (Arce-Moreno, 1989). En la última década, México se ha distinguido por ser uno de los principales consumidores y productores de tilapia, generando anualmente más de 80,000 toneladas (Fitzsimmons, 2000). Aunque se conocen más de 100 especies de tilapia sólo algunas se cultivan debido a la importancia económica en la producción en condiciones controladas.

En la industria de la acuicultura las tilapias han adquirido una mayor importancia en los últimos años (Atwood, 2003), específicamente *O. niloticus* que representa en la actualidad el 70% de la tilapia cultivada (Fitzsimons, 2004). El cultivo de la tilapia ha crecido de manera significativa en el mundo, y el desarrollo de tecnologías avanza a pasos agigantados, esto se debe a la aceptación de esta especie en el mercado internacional, principalmente Estados Unidos de América. México, es uno de los principales productores de tilapia en Latinoamérica, pero sus exportaciones son mínimas (Ruiz *et al.*, 2006), por lo tanto, se requiere una producción sostenida y organizada que permita lograr la exportación. El cultivo de tilapia en tanques circulares

de geomembrana, se ha desarrollado sólo en algunos sitios de la República Mexicana, pero no en cantidades de producción industrial para la exportación; han existido algunas limitantes para la producción durante todo el año, uno de los factores principales es la temperatura ya que las tilapias son considerados peces de aguas cálidas y su distribución está limitada geográficamente (Philippart y Ruwet, 1982), su actividad y alimentación se reduce a temperaturas menores de 20 °C, ya que debido a que dejan de alimentarse (Chervinski, 1983).

Una de las estrategias biotecnológicas que está contribuyendo, de gran manera, en el proceso de selección, mejoramiento y consolidación de las características genéticas de especies de interés productivo es la genotipificación o caracterización a escala molecular de poblaciones animales. El análisis genético ó genotipificación permite la detección de variaciones alélicas o polimorfismos en el genoma de cada individuo mediante el uso de marcadores moleculares. Estas variaciones se heredan genéticamente lo que permite identificar un individuo así como diferenciarlo de otro (Perales, 2003).

El estudio genético de poblaciones de peces, y de cualquier otra especie económicamente importante, toma especial relevancia por el impacto que causa a nivel productivo. La variabilidad genética es el recurso básico de cualquier programa exitoso (Allendorf *et al.*, 1987). El conocimiento genético provee, además, información importante para incrementar la producción en los cultivos, a la vez que puede influir en la solución de situaciones, por ejemplo consanguinidad, que hayan o estén limitando su evolución a sistemas de alto rendimiento.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la producción y variabilidad genética de especies de tilapia del género *Oreochromis* en el estado de Sinaloa. Este estudio es pionero en México y presenta información sobre el desempeño productivo y la caracterización genética de tilapia del género *Oreochromis*.

2.-ANTECEDENTES

2.1.- Acuicultura en México

En México, como en muchos países del mundo, la piscicultura se inició con la explotación de las poblaciones silvestres de peces de lagos y ríos. Antes de la conquista, los indígenas explotaron y cultivaron peces, como lo demuestran los estanques piscícolas construidos por los Zapotecas, que causaron admiración en tiempos de la Colonias (Rosas, 1981).

A partir de que la tilapia se introdujo a México, en el año de 1964, su reproducción se extendió a la mayoría de los estados, incluyendo Sinaloa. Para el cultivo de este pez se utilizan presas, lagos, ríos, reservorios y granjas construidas especialmente para su reproducción en altas densidades (Rodríguez y García., 2009).

2.2.- Métodos de cultivo

Según la intensidad del método de cultivo que se aplique la piscicultura se divide en: extensivo, semintensivo e intensivo.

Extensivo: El sistema extensivo se caracteriza por aquellos que se realizan en grandes áreas de agua, por sus bajos costos operativos debido a la baja densidad de siembra, y por ende, produciendo cosechas que oscilan entre los 500 a 5,000 kilos de tilapia por hectárea en cada ciclo de producción. No se necesita infraestructura para el requerimiento de agua, más es recomendable que el nivel no se sitúe por debajo de un metro de profundidad; debe promoverse y mantenerse la productividad primaria (natural) del estanque (agua verde) ya que representa la única fuente de alimento; y debe establecerse cierta vigilancia para evitar el robo o la depredación (Rosas, 1981).

Semintensivo: Se caracteriza por el control de algunos factores de los ecosistemas; se fertiliza y se ofrece alimentación complementaria; el cuerpo de agua que se usa es creado para este fin. Se realiza principalmente en estanques, corrales y jaulas. Se

practican dos modalidades de cultivo intensivo, el cultivo en jaulas flotantes y el “raceway” (Barreda, 1999). Este método cultivo se caracteriza por ser altamente tecnificado; se usan alimentos peletizados, comederos automáticos, fertilizantes inorgánicos y aereadores cuando se cultivan en grandes estanques (Rosas, 1981).

Intensivo: Los cultivos intensivos se realizan normalmente en instalaciones separadas del medio natural, en tanques o piscinas aisladas con sistemas técnicos de captación y recirculación de agua, con un control casi total del medio y de los individuos. Son mucho más caros que los procesos menos tecnificados, pero el aumento de rendimiento o la necesidad de un mayor control de la producción es determinante (Rosas, 1981).

2.3.- La acuicultura de Sinaloa

Sinaloa cuenta con una de las industrias acuícolas más desarrolladas de México por sus volúmenes de producción, número de granjas en operación, estudios de investigación y personal técnico calificado. El Estado tiene más de 28,000 ha disponibles para el establecimiento de granjas productoras de camarón. Actualmente 25,000 ha están en producción. Sinaloa tiene el segundo lugar en producción de camarón de granja. Además, existen 154 cuerpos naturales de agua en Sinaloa donde se cultivan especies de agua dulce (CONAPESCA 2010).

La industria acuícola en el estado ha experimentado un crecimiento significativo en los últimos años, especialmente en la producción de camarón y tilapia. En 1989, la producción total de la industria acuícola fue de 6,107 toneladas, mientras que en el 2000, la producción alcanzó 21,765 toneladas. Esto representa un crecimiento del 198% en tan sólo 10 años. Además en Sinaloa se cultivan diferentes tipos de especies (Crustáceos, peces, macroalgas, y cocodrilos) (CONAPESCA 2010).

El camarón fue la principal especie cultivada en el año 2000 representando el 71% de la producción total en la acuicultura. El siguiente más importante fue la tilapia que representó el 25% de la producción total (CONAPESCA 2010).

El cultivo del camarón se ha incrementado de 2,736 toneladas producidas en 1989 a 60,441 durante el año 2008, lo cual significa un crecimiento de 30 veces en un periodo de casi 20 años. Este incremento ha sido posible gracias al desarrollo de infraestructura y a la cantidad y calidad de la postlarva (PI's) disponible para el cultivo del camarón. Dado el gran potencial para desarrollar la acuicultura en Sinaloa, se espera que el número de granjas crezca significativamente en los próximos años. Actualmente existen 161 granjas acuícolas operando (CONAPESCA 2010).

2.4.- Cultivo de tilapia

La tilapia es originaria del sur de África Central y a partir del año 1939, comenzó su distribución en otros países, de tal forma que, hoy en día, se la encuentra en casi todo el mundo. Esto es debido especialmente, a su alto valor comercial y social. La tilapia es una especie destinada a la alimentación familiar y de autoconsumo cuando se cultiva a baja densidad en estanques. Su cultivo se realiza en numerosos países de América del Norte, Central, incluyendo al Caribe, Sudamérica, Sudeste Asiático, norte de Australia y algunos países europeos. El entusiasmo inicial por su cultivo, se detuvo cerca de la década del 50 al 60 debido al problema suscitado por el exceso de población resultante en estanques, al trabajarse con individuos de ambos sexos. Estos problemas fueron en parte resueltos a partir del año 1960, con la obtención de poblaciones monosexos y el control de los cultivos. En México, la tilapia fue introducida en el año 1964 extendiendo su producción en la mayoría de los estados, incluyendo Sinaloa. Para el cultivo de este pez se utilizan presas, lagos, ríos, reservorios y granjas construidas especialmente para su reproducción a altas densidades. Las especies de tilapia más utilizadas han sido tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus* con sus diversas variedades), tilapia mozambique (*Oreochromis mossambicus*) y tilapia plateada (*Oreochromis aureus*). Cada una de estas especies presenta características específicas

que optimizan su crecimiento en diferentes condiciones de cultivo. Por ejemplo, *O. niloticus* es la especie más usada por adaptarse fácilmente al manejo, mostrar un crecimiento más rápido y de mayor producción de carne, siendo cultivada en ambientes semitropicales y tropicales. Por otro lado, *O. aureus*, crece mejor a temperaturas frías (Rodríguez y García., 2009).

2.2.- DATOS BIOLÓGICOS BÁSICOS DE TILAPIA

2.2.1.- Descripción taxonómica y morfológica de tilapia del género *Oreochromis*

El género *Oreochromis* es de origen africano, perteneciente a la familia de los cíclidos y está representado por cerca de 100 especies. La mayor parte de ellas se encuentra en África y algunas en Asia Menor. Muchas de éstas han sido introducidas en otras partes del mundo, en aguas dulces y salobres.

Descripción taxonómica según Berg y modificado por Trewavas (1983).

Phylum - Chordata

Subphylum - Vertebrata

Superclase - Gnathostomata

Serie - Pisces

Clase - Actinopterygii

Orden - Perciformes

Suborden - Percoide

Familia - Cichlidae

Géneros - *Tilapia; Oreochromis*

Especies - *rendalli, aureus, niloticus, mossambicus, urolepis, hornorum*

A cada lado de la cabeza, la tilapia presenta un solo orificio nasal que sirve simultáneamente como entrada y salida de la cavidad nasal. El cuerpo es generalmente comprimido y discoidal, es decir, raramente alargado. La boca es frecuentemente ancha y bordeada por los labios gruesos; las mandíbulas presentan dientes cónicos y, en algunas ocasiones, incisivos. Para su locomoción posee aletas pares e impares; las aletas pares las constituyen las pectorales y las ventrales mientras que las impares incluyen las dorsales, caudal y anal. La parte anterior de la aleta dorsal y anal es corta, consta de varias espinas; sus aletas dorsales se disponen en forma de cresta. La aleta caudal es redonda y trunca (Rodríguez y García., 2009) (Figura. 1).

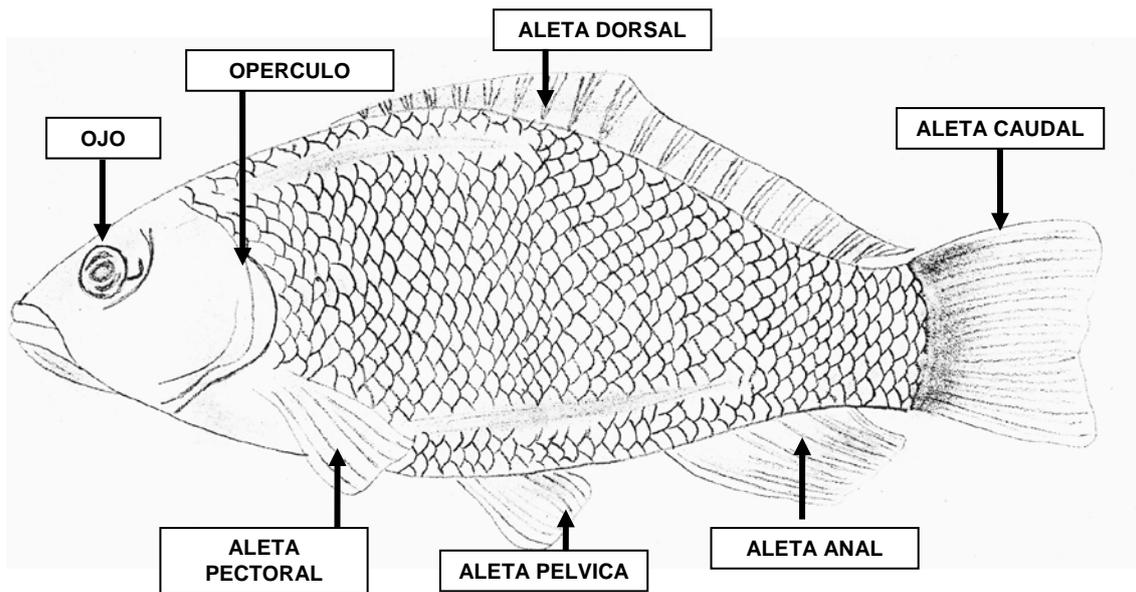


Figura 1. Descripción externa de tilapia (Rodríguez y García., 2009).

2.2.2.- Hábitat

Dentro de sus áreas originales de distribución, las tilapias han colonizado hábitats muy diversos tales como arroyos permanentes y temporales, ríos anchos y profundos o con rápidos, lagos profundos y/o pantanosos, lagunas dulces, salobres o saladas, alcalinas, estuarios y lagunas costeras e incluso hábitats marinos. Son de aguas cálidas y su distribución se limita a un mínimo de temperatura (Philippart y Ruwet, 1982), ya que no crecen por debajo de los 16 °C (Chervinski, 1982).

Todas las tilapias tienen una tendencia hacia hábitos alimenticios herbívoros, a diferencia de otros peces que se alimentan o bien de pequeños invertebrados o son piscívoros. Las adaptaciones estructurales de las tilapias a esta dieta son principalmente un largo intestino muy plegado, dientes bicúspides o tricúspides sobre las mandíbulas y la presencia de dientes faríngeos. Debido a la diversidad de alimentos que varían desde vegetación macroscópica como pastos, hojas, plantas sumergidas, etc., hasta algas unicelulares y bacterias. Los dientes también muestran variaciones en cuanto a dureza y movilidad. (Rodríguez y García., 2009).

2.2.3.- Reproducción y sexualidad

Las tilapias poseen la habilidad de madurar sexualmente a tallas pequeñas, cuando el cuerpo tiene alrededor de 8 y 10 centímetros de largo, y a temprana edad. En regiones templadas, la época de reproducción inicia durante los meses de primavera (Morales, 2003).

Externamente, el macho y la hembra se diferencian en que el primero presenta dos orificios bajo el vientre (ano y orificio urogenital), mientras que la hembra cuenta con tres (ano, poro genital y orificio urinario). El ano siempre está visible, es un agujero redondo; por su parte, el orificio urogenital del macho es un pequeño punto, mientras que el orificio urinario de la hembra es microscópico, apenas visible a simple vista. El poro genital se encuentra en una hendidura perpendicular al eje del cuerpo (Rodríguez y García., 2009).



Figura. 2 Características sexuales de machos y hembras, (Tomado de Saavedra, 2006).

2.2.4.- Crecimiento y desarrollo

El crecimiento de la tilapia se divide en cinco fases: huevos, alevín, cría, juvenil y adulto. La talla y peso que se alcanza en cada estadio está directamente relacionada con los factores ambientales, como alimento, espacio, calidad de agua, etc. En la tabla 1 se muestra la talla, peso y duración de cada estadio de la tilapia (Morales, 2003).

Tabla 1. - Características de desarrollo y crecimiento de tilapia

ESTADÍO	TALLA	PESO	TIEMPO
Huevo	2 a 4mm	0.01g	1 – 5 días
Alevín	2.4 a 6.2cm	4 a 8g	10 días
Cría	6.2 a 11.4cm	8 a 30g	30 días
Juvenil	13.7 a 15.9cm	60g a 150g	60 días
Adulto	> a 19.9cm	> a 250g	90 días

2.2.5.- Ventajas del cultivo de tilapia

Dentro de las especies piscícolas de mayor explotación las tilapia son consideradas como las mejores para la acuicultura de agua dulce por las siguientes características (FAO, 2000):

- Son especies de aguas cálidas (Philipart y Ruwet, 1982).
- Se adaptan a condiciones diversas de salinidad y de temperatura. (Chervinski, 1982).
- Presentan alta fecundidad.
- Son de rápido crecimiento.
- Presentan tolerancia a desarrollarse en condiciones de alta densidad.
- Son omnívoras (Morales, 2003).

2.3.- PRINCIPALES PROBLEMAS GENÉTICOS EN TILAPIA

Son muchos los factores genéticos que se encuentran involucrados en los procesos de selección para obtener una línea adecuada a las condiciones de producción proyectadas, y que debe ser identificado por los productores de alevines para lograr una máxima eficiencia en la producción (García-Ulloa, 1998 y Castillo, 2001, 2006).

Los recursos genéticos en tilapia no han sido manejados de manera óptima, es por ello que se ha ido perdiendo pureza de las especies por la hibridación ínterespecífica ya que se ha identificado que una sola variedad comercial contiene genes de hasta cuatro especies (McAndrew, 1993). Así como los altos niveles de entrecruzamiento causan una “depresión”, ya que se ha demostrado que especies silvestres de África se desarrollan mejor que aquellas ya domesticadas (Tave y Smitherman, 1980; Teichert-Coddington y Smitherman, 1988).

La endogamia es una de los problemas de mayor impacto en el cultivo de tilapia. Los perjuicios más evidentes ocasionados por la endogamia, causada por el constante cruce entre mismos organismos son:

- Elevados coeficientes de consanguinidad.
- Aumento en el número de alevines con daños genéticos y congénitos (deformaciones).
- Reducción en la eficiencia de la conversión alimenticia.
- Drástica reducción de la supervivencia.
- Reducción del crecimiento, principalmente a los 150 y 300 días, se encuentra una gran variación en el peso y la talla de un mismo lote de hermanos. (Morales, 2003).

2.3.1.- Genoma de la tilapia

El análisis de cariotipos de varias especies de tilapia ha mostrado mucha similitud entre ellos. El genoma de la tilapia está constituido por 22 pares de cromosomas sin distinción sexual. De hecho sólo dos pares son identificables, los otros 20 son similares en tamaño y morfología. A nivel molecular, el tamaño del genoma de varias especies es de 1000 Mb, aproximadamente una tercera parte del genoma de mamíferos y el tamaño varía entre las especies hasta en un 44% (Majumdar y McAndrew., 1986).

El mismo autor mencionado anteriormente realizó un mapa genético de dos especies la *O. niloticus* y la *O. aureus* (Figura. 3), y encontró marcadores genéticos que pudieron identificar a cada una de las especies, ya que hay marcadores que se repiten en las dos especies y algunos que son específicos para cada una. De ahí que con los mapas generados se puedan seleccionar cuatro microsatélites que diferencien a estas dos especies, dos que se encuentren presentes en *O. niloticus* y que no sean identificables en *O. aureus* y viceversa (Lee *et al.*, 2004).

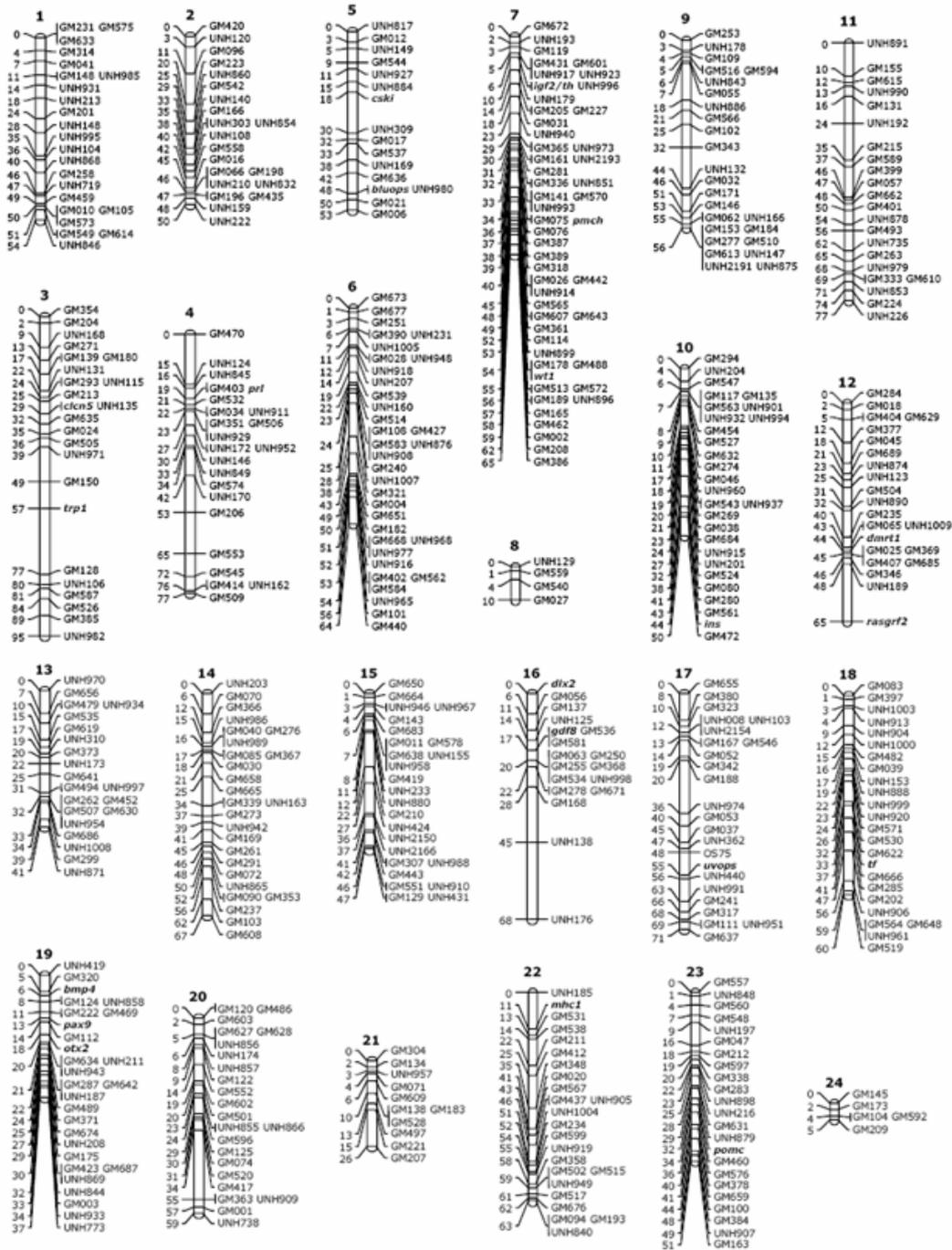


Figura 3. Unión de los mapas genéticos de *O. niloticus* y la *O. aureus* (Lee et al., 2004).

2.3.2.- Marcadores genéticos

Los marcadores genéticos son secuencias nucleotídicas dentro del genoma de cada individuo, provenientes de regiones altamente variables que pueden ser genes específicos ó bien regiones no codificantes, es decir, sin información directa o indirecta para la síntesis de proteínas ó RNA (Brown, 1999).

Los marcadores genéticos han demostrado tener un campo amplio de aplicaciones, como son: la definición de especies en grupos taxonómicos donde la morfología es ambigua, la reconstrucción de filogenias, los estudios filogeográficos, la estimación del grado de consanguinidad, la evaluación de flujos genéticos y la estructura de las poblaciones que permiten el mejoramiento genético de las especies de interés comercial (García de León, 2001).

Existen dos tipos de marcadores: los bioquímicos (aloenzimas) y los moleculares de ADN. El análisis de variantes proteicas (polimorfismos, los enzimáticos y/ó bioquímicos) no muestran suficiente variabilidad para resolver varios problemas en la evaluación de la diversidad genética (García de León., 2001). El análisis de ADN ofrece millones de caracteres posibles entre los cuales pueden encontrarse enorme variación. Entre los marcadores de ADN que se conocen actualmente los siguientes:

- Polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLPs), por sus siglas en inglés Restriction Fragment Length Polymorphism.
- Polimorfismos de los fragmentos de longitud amplificados (AFLPs), por sus siglas en inglés Amplified Fragment Length Polymorphism Polimorfismos de amplificación con oligos al azar (RAPDs), por sus siglas en inglés (Random Amplification of Polymorphic DNA).
- Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), por sus siglas en inglés Single Nucleotide Polymorphism.
- Polimorfismos de longitud de secuencias simples (SSLPs) por sus siglas en inglés Simple Sequence Length Polymorphisms;(García, 2000).

2.3.3.- Polimorfismos de Longitud de Secuencias Simples (SSLPs)

Estos marcadores son conocidos también como repeticiones de secuencia simple. Y se clasifican en:

a) Satélites: secuencias repetidas en *tandem* (de manera consecutiva) que comprenden varias regiones del genoma que pueden ser tan extensas como 5 Mb, y están asociadas preferentemente con regiones centroméricas (Goldstein y Schlotterer, 2000).

b) Minisatélites: secuencias repetidas en *tandem* mayores a 10 pb, también conocidos como repeticiones de números variables VNTR, Variable Number Tandem Repeat por sus siglas en inglés que comprende regiones de tamaño intermedio de 0.5 a 30 kb.

c) Microsatélites: secuencias cortas repetidas en *tandem* (STRs, short tandem repeat por sus siglas en inglés), de 2-8 pb, los cuales pueden ser muy abundantes y comprender arreglos cortos de 20 a 100 pb a lo largo de todo el genoma (Goldstein y Schlotterer, 2000).

2.3.4.- Marcadores microsatélites

Entre las principales características que hacen de los marcadores microsatélites de gran utilidad en estudios de genotipificación es que son abundantes en todos los genomas de eucariotas, y que se encuentran distribuidos de manera regular a lo largo del genoma en regiones no codificantes o intergénicas. Además, son codominantes y se agregan de manera mendeliana, es decir, cada individuo presenta un patrón simple de dos secuencias, una heredada del padre y la otra de la madre. Los microsatélites son también útiles porque poseen un elevado grado de variabilidad entre poblaciones (Povh *et al.*, 2008).

Por lo tanto, los microsatélites (SSR) son una herramienta potencial para monitorear la variación genética de poblaciones y lotes de peces. Los microsatélites se consideran los

marcadores más eficientes para revelar altos niveles de variación alélica y permiten frecuentemente detectar diferencias entre poblaciones íntimamente relacionadas. Estos marcadores son sensibles indicadores de la homocigosis resultante de cruzamientos endogámicos y, de esta forma, son aplicables en la distinción de pequeñas diferenciaciones poblacionales (Povh *et al.*, 2008). Es así como el polimorfismo obtenido por marcadores microsatélite se ha convertido en una poderosa herramienta para el manejo de lotes en acuicultura. Estas características, convierte a los microsatélites, especialmente útiles en el análisis de estructuras genéticas de poblaciones de cualquier especie. Estos marcadores permiten la discriminación a nivel de individuo o familia, ya que permite establecer un genotipo múltiple por individuo y que resulta importante cuando los objetivos son el iniciar programas de selección familiar y gestión de reproductores en sistemas de cultivo (Povh *et al.*, 2008).

Además, por la información alélica que provee los microsatélites, algunos parámetros genéticos pueden ser estimados, tales como la variabilidad alélica, heterocigocidad, niveles de consanguinidad, el equilibrio de Hardy-Weinberg, deriva e introgresión genética, e inferencias sobre rangos de mutación y migración, entre otros (Choy y Fletcher, 2001).

2.3.5.- Biotecnología en acuicultura

La biotecnología ha hecho desde las dos últimas décadas, una gran contribución en todas las áreas de las ciencias biomédicas, industrias farmacéuticas, agricultura, ganadería y acuicultura (Choy y Fletcher, 2001). Era previsible que las técnicas y enfoques de la biotecnología acuícola moderna se complementaran con la producción acuícola convencional.

En la aplicación de la biotecnología animal existen dos estrategias principales para el mejoramiento de los individuos: el uso de mapas y marcadores moleculares para la selección de los mejores individuos y la producción de organismos transgénicos. Con

ambas estrategias se puede mejorar la reproducción y las tasas de crecimiento de las especies bajo cultivo y la eficiencia de conversión alimenticia y el desarrollo de organismos con resistencia a enfermedades y con capacidad para adaptarse a condiciones ambientales adversas ó distintas a las de su hábitat natural (García, 2000).

2.3.6.- El mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares

En general, existen dos estrategias para localizar genes de una característica de interés particular. La primera es mediante el estudio de genes candidatos, y la otra mediante el rastreo de genoma. Las estrategias del estudio de genes candidatos se enfoca en un número limitado de genes conocidos, cuya función fisiológica sugiere que la variación genética podría causar variación fenotípica en las características de interés. Por otro lado, la estrategia de rastreo genoma, intenta examinar el genoma completo para localizar regiones asociadas a la variación de las características de interés particular, se conozcan o no las regiones que contengan los genes candidatos potenciales (Haley y Visscher, 2002).

Las estrategias de rastreo del genoma pueden llevar a la identificación de los llamados QTLs Quantitative Trait por sus siglas en inglés Loci. Los QTLs son determinados como grupos de marcadores moleculares que se asocian con características fenotípicas de interés económico específicos, indicando que se encuentran en una zona de ADN cercana a la ocupada por el ó los genes que determinan esta características. La asociación sólo existe dentro de familias y varía durante el cruzamiento de los individuos. La elaboración de los mapas genéticos a través de la genotipificación de animales de interés comercial con un amplio rango de loci altamente polimórfico, ha permitido definir un conjunto de marcadores de éstas especies bajo la forma de mapas de alta densidad. Utilizando esta información, el experto mejorador, luego de un cruzamiento puede saber en qué individuo persiste el carácter que interesa incorporar (esto permitirá hacer una introgresión de genes) y al mismo tiempo conocer que porcentajes de fondos genéticos originales de cada uno de los progenitores han sido retenidos. Como generalmente interesa introducir un único ó muy pocos genes sin

modificar el fondo genético original, el uso de marcadores permite acelerar notablemente el proceso de selección. Dado que la presencia del marcador molecular puede detectarse en cualquier etapa de desarrollo del animal, los mejores candidatos para el siguiente cruzamiento pueden identificarse tempranamente, lo que permite trabajar con menor número de individuos acortando la duración y disminuyendo el número de ciclos de mejoramiento (Haley y Visscher, 2002).

2.4. Medidas de la diversidad genética

A partir de la información de los marcadores moleculares se puede calcular una gran cantidad de parámetros de la diversidad genética. La mayoría de estos datos se pueden aplicar en los diversos niveles de organización como son especie, subespecie, población e individuo. Las medidas de "*locus* único", resumen la información de varios *loci* simplemente haciendo un promedio sobre todos los *loci* y las medidas del "multilocus", están basadas en genotipos del multilocus y consideran correlaciones entre alelos en diversos *loci* (Glaubitz *et al.*, 1999).

2.4.1.- Diversidad dentro de poblaciones

Uno de los objetivos principales de la genética de poblaciones es cuantificar la variabilidad genética existente, y explicar esta diversidad en términos de origen, mantenimiento e importancia evolutiva. La probabilidad de supervivencia de las poblaciones a largo plazo está relacionada con la variabilidad genética que poseen, siendo un elemento fundamental en las estrategias de conservación el mantenimiento de la misma.

Cuando se estudia más de una población de animales, la diversidad genética se puede clasificar en dos componentes: variabilidad genética entre poblaciones, y variabilidad genética entre los individuos de una población. Estos dos componentes de la diversidad pueden ser estimados mediante el cálculo de numerosos estadísticos que

tienen en algunos casos como fuente fundamental de información, la distribución de las frecuencias alélicas de los marcadores genéticos empleados. La idea de frecuencia alélica soporta en sí misma la noción de polimorfismo y un gen se considera arbitrariamente como polimórfico desde el momento en que el alelo más común tiene una frecuencia inferior a 0,95 (Glaubitz *et al.*, 1999).

El porcentaje de *loci* polimórficos en una población es una evaluación cruda de la variación genética para los estudios evolutivos pues está sujeto a un error de muestreo genómico grande, es decir, es solamente confiable cuando se muestrean una gran cantidad de *loci*. Sin embargo, esta medida se ha utilizado extensivamente para comparar diversidad genética entre los taxa, la especie, y las poblaciones. La uniformidad del alelo o de las frecuencias del genotipo es considerada por las medidas de heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e) y el número efectivo de los alelos (A_e).

La H_o es la frecuencia en la cual los individuos heterocigotos están presentes en una población en un *loci* dado. Se hace un promedio de las estimaciones de *loci* únicos para una estimación total a través de *loci*. La H_e es la medida de diversidad genética más ampliamente utilizada, principalmente porque su interpretación genética es absolutamente clara y aplicable a casi todos los organismos. Además, las características del muestreo se han estudiado bien, y puede ser estimado confiablemente a partir de muestras relativamente pequeñas. H_e mayores del 50 % son aceptables para población a la cual se le está evaluando variabilidad genética.

El número efectivo de los alelos (A_e) se define como el recíproco del homocigoto, ($\text{homocigosidad} = 1 - H_e$). A_e es solamente igual al número real de alelos en un *locus* cuando los alelos son todos equivalentes en frecuencia en la población, y esta, de una magnitud más baja en el resto de las situaciones (Glaubitz *et al.*, 1999).

La diversidad génica es un método descrito por Nei, 1973 el cual se basa en las identidades de los dos genes elegidos al azar dentro y entre las poblaciones e

independiente del número de alelos los cuales muestran que la variación genética de frecuencia en una subestructura de la población se puede analizar directamente en términos de heterocigosidad. Este método se puede aplicar a cualquier población sin tener en cuenta el número de alelos en un locus o el patrón de las fuerzas evolutivas como mutación, selección, y la migración. También es aplicable a cualquier organismo, ya sea sexual o asexual de reproducción o si se trata de diploides o no diploide, como medida en que las frecuencias genéticas se puede determinar.

2.4.2.- Pruebas de paternidad

Desde el punto de vista ecológico, la información sobre paternidad es esencial para abordar temas como la identificación. De cierta forma, la paternidad no puede ser totalmente determinada a través de observaciones conductuales directas, ya que en muchas ocasiones un individuo tiene más de una pareja durante la temporada reproductiva es difícil identificar cuál de las parejas generó la progenie (Eguiarte *et al.*, 2007).

La paternidad puede ser determinada a partir de alelos que se heredan a las crías y que, si no están presentes en los otros individuos, éstos pueden ser excluidos como padres putativos. Para determinar la paternidad con mayor certeza es necesario utilizar una gran cantidad de *loci*, los cuales proveerán de suficiente información al sistema de caracterización genética de los individuos. Para realizar los análisis de paternidad se deben considerar dos aspectos: el tipo de marcador molecular que se va a utilizar y la forma en que se va a analizar mediante un modelo o una técnica computacional (Eguiarte *et al.*, 2007).

Para que un marcador molecular sea efectivo se debe considerar lo siguiente: (1) los marcadores utilizados no deben estar ligados; (2) cada marcador debe ser específico para un solo locus, de preferencia uno que esté caracterizado en el cromosoma; (3) el marcador debe detectar un número grande de alelos de manera constante y (4) se deben crear patrones de bandeo en geles que sean fácilmente interpretables. Los

marcadores más utilizados son los microsatélites (Hancock, 1998), Los métodos para analizar la variación en un marcador molecular comparten el principio de considerar que una gran proporción de la información genética es específica del individuo y difiere entre individuos, por lo que el análisis de esta fracción diferente es la que puede proporcionar una identidad específica a cada uno de ellos. Existe otro método que incorpora modelos desarrollados para genética de poblaciones. En éste se considera que dentro de la población no existe diferenciación en subpoblaciones, por lo que cada alelo se considera una muestra aleatoria e independiente del acervo genético de la población, y la frecuencia alélica de cada *locus* puede multiplicarse para calcular la frecuencia real en la población (Lewontin y Hartl, 1991; Chakraborty y Kidd, 1991). De esta manera podemos obtener una multitud de datos, que en teoría son independientes, que nos darían información acerca del parentesco. Un segundo avance es considerar las frecuencias alélicas dentro de cada población y acotar los padres putativos a aquellos individuos cuyas frecuencias alélicas se parezcan más a nuestra muestra.

Los métodos de asignación de paternidad que incluyen el cálculo de algún grado de error pueden dividirse en tres grandes grupos: 1) métodos de exclusión, 2) métodos de asignación fraccionada y categórica, y 3) métodos de reconstrucción genotípica. Todos ellos tratan de reconstruir patrones de parentesco entre los diferentes individuos de una población. En el presente trabajo se utilizó el método de exclusión y es por ello que solo se describe ese cálculo:

Exclusión

Se basan en las reglas de herencia mendeliana y utilizan las incompatibilidades entre parientes y progenie para rechazar hipótesis particulares de parentesco. Por ejemplo, si se considera un locus autosómico neutral con dos alelos *A* y *B* en una población bajo equilibrio de Hardy-Weinberg, esperaríamos una proporción de genotipos con el siguiente arreglo 25% *AA*, 50% *AB* y 25% *BB*, y por lo tanto una frecuencia alélica en donde $p = q$. Si una madre de genotipo *AA* tiene hijos de tipo *AA*, entonces todos los individuos dentro de la población con genotipo *BB* pueden ser excluidos como padres y la probabilidad de exclusión específica sería de 0.25 o 25%.

La exclusión es un método que puede definir y asignar (en teoría) al par de padres de cada miembro de la progenie, especialmente en condiciones donde son pocos los padres potenciales y se tienen marcadores altamente polimórficos (Eguiarte *et al.*, 2007).

2.4.3.- Equilibrio de Hardy - Weinberg

El principio de equilibrio de Hardy – Weinberg es de gran importancia en genética de poblaciones, ya que nos permite predecir las frecuencias genotípicas de las poblaciones diploides a partir de las frecuencias alélicas. Las consecuencias más importantes del equilibrio de panmítico es la constancia en las frecuencias alélicas ya que, en ausencia de las fuerzas evolutivas particulares que las modifiquen (tales como mutación, migración y selección), el proceso de transmisión mendeliana por sí solo mantienen las frecuencias alélicas constantes, conservando la variabilidad genética. Otro aspecto importante que se considera para este principio, es que basta una sola generación de cruzamiento al azar para restablecer el equilibrio de las frecuencias genotípicas (Peral, 2003).

2.4.4.- Coeficiente de consanguinidad FIS

Debido a que la mayoría de las veces no se tiene la genealogía de los individuos y no se sabe cuánta endogamia había en las generaciones anteriores, a Wright *et al.*,(1965) se le ocurrió que se puede asumir que en la población ancestral todos los alelos eran únicos. Es decir, que no había endogamia en esa población ($F=0$).

De esta forma y sabiendo que con apareamientos endogámicos aumenta la tasa a la que se producen genotipos homocigotos, se puede inferir que la endogamia que había ocurrido entre generaciones se puede estimar calculando el descenso relativo en los niveles de variación genética que no deberían ocurrir en una población en donde los apareamientos fueran al azar. Para medir esta desviación en la frecuencia de heterocigotos en una población, Wright desarrolló lo que se conoce como el coeficiente de endogamia (FIS), definido como: $FIS = 1-(H_o/H_e)$

En donde H_o es la heterocigosis observada y H_e es la heterocigosis que esperamos cuando los apareamientos se dan al azar. Este coeficiente puede tomar un valor de -1 a 1 . Si es de 0 no hay endogamia y la población está en equilibrio de Hardy Weinberg. Cuando el valor es negativo, significa que hay un exceso de heterocigotos y si es positivo que hay un exceso de homocigotos, ya que cuando $H_o < H_e$ se asume que en esa población se produjeron más apareamientos endogámicos de lo que se espera por azar.

2.4.5.- Tamaño efectivo de la población

El tamaño efectivo de una población real es el número de individuos de una población ideal teórica en que la tasa de cambio por deriva (medida en función de la tasa de pérdida de heterocigosis) fuera la misma que la observada en la población real. La frecuencia esperada de heterocigotos en cualquier generación, será siempre menor que la frecuencia de heterocigotos encontrada en la generación previa. Cuanto menor sea el tamaño poblacional, más rápido será el descenso en la frecuencia de heterocigotos.

Éste es un parámetro clave en conservación y genética de poblaciones por su relación con la inversa de los incrementos de consanguinidad, las pérdidas de variabilidad genética debidas a deriva genética y sus posibilidades de adaptación a cambios ambientales (Duchev et al., 2006; Falconer y McKay, 1996). La frecuencia esperada de heterocigotos en cualquier generación, será siempre menor que la frecuencia de heterocigotos encontrada en la generación previa. Cuanto menor sea el tamaño poblacional, más rápido será el descenso en la frecuencia de heterocigotos

2.4.6.- Diferenciación de poblaciones

La medida más utilizada del grado de diferenciación genética entre las poblaciones fue desarrollada por Wright (1943, 1951) y es referido por el símbolo F_{ST} que mide la proporción de la diversidad genética total en una especie debida a la diferenciación entre las poblaciones. La magnitud de F_{ST} refleja el grado con el cual las frecuencias alélicas varían de población a población. La G_{ST} de Nei es equivalente a F_{ST} . El grado

de diferenciación entre las poblaciones está fuertemente influenciado por la tasa de migración (m), y número de migraciones por población por generación (Nem , donde N_e es el "tamaño efectivo de la población", el cual se describe como flujo génico).

El nivel del flujo génico se puede estimar indirectamente en función de F_{ST} o utilizando una aproximación basada en el número promedio de alelos privados (es decir, los presentes solamente en una población).

La divergencia genética entre dos poblaciones se puede cuantificar utilizando distancias genéticas, y dependiendo del análisis se pueden clasificar en distancias geométricas y distancias genéticas:

- 1) Las distancias geométricas se aplican para la clasificación de la población, pues utilizan frecuencias alélicas sin aplicar ningún concepto genético subyacente.

- 2) Las distancias genéticas asumen hipótesis particulares referentes a la divergencia entre las poblaciones y son entonces apropiadas para interpretar su evolución (Glaubitz et al., 1999).

3.- JUSTIFICACIÓN

El cultivo de tilapia es una actividad capaz de proporcionar además de alimento, recursos económicos y empleo. Sin embargo, un punto crítico es la falta de oferta de alevines de tilapia en cantidad y calidad para las condiciones medio ambientales del estado de Sinaloa. Actualmente existe un entrecruzamiento de los reproductores de los centros de distribución, generando una pérdida de calidad genéticas, la cual no está evaluada y se desconoce si esto influye a las variables de producción. El mejoramiento genético, como alternativa para obtener animales con mayor rendimiento de producción, ha sido propuesto como una medida que contribuya a incrementar la productividad y eficiencia en los centros de distribución acuícola.

Actualmente, la genética molecular ha probado ser auxiliar en el mejoramiento genético, mediante la implementación de técnicas moleculares de diagnóstico que permitan la identificación temprana de individuos portadores de las variantes alélicas favorables para características de importancia productiva. Por otro lado, las prácticas de acuicultura pueden afectar la diversidad genética de las especies al estar diseñadas para cambiar de un ecosistema de mayor productividad. Así, el manejo para proteger los recursos genéticos acuáticos involucra los riesgos, estimaciones, monitoreo y documentación de estos recursos genéticos.

Para incrementar la eficiencia de producción en los cultivos de tilapia y otras especies en general, es necesario el desarrollo de programas de investigación en acuicultura que tenga como objetivo el conocimiento genético de las especies de interés económico, y sostener el mejoramiento de técnicas de cultivo.

Los estudios de genotipificación permiten evaluar la diversidad genética de los individuos y ayuda al establecimiento de nuevas estrategias de mejoramiento. El presente trabajo responde a cuestionamientos que llevan a enriquecer el conocimiento genético para lograr una producción mayor de tilapia. En este sentido evaluar las variables de producción y variabilidad genética de de especies de tilapia del género *Oreochromis* en el estado de Sinaloa.

4.- OBJETIVO GENERAL

Evaluar las variables productivas y variabilidad genética de especies de tilapia en el Estado de Sinaloa.

Objetivos específicos

- 1) Evaluar el crecimiento, conversión alimenticia y sobrevivencia de tres especies de tilapia.
- 2) Analizar la variabilidad genética de las tres especies de tilapia.
- 3) Inferir el efecto del estado de variabilidad genética de las tres especies de tilapia estudiadas sobre los indicadores de producción.

5.- HIPÓTESIS

Las especies de tilapia bajo las condiciones ambientales y de manejo del estado de Sinaloa evaluadas, muestran diferencias en su desempeño productivo y variabilidad genética.

6.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Obtención de líneas genéticas de tilapia

Se compraron 10,000 alevines de las siguientes líneas: tilapia rocky mountain (*O. aureus*), tilapia roja (*O. mossambicus*), y tilapia nilotica (*O. niloticus*) variedad egipcia todas obtenidas del centro acuícola de Jala, ubicado en el estado de Colima y fueron trasladados al laboratorio de acuicultura del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa (CIIDIR SIN).

6.2.- Sistema de cultivo

Para los ensayos se empleó un sistema de producción: intensivo. Primero, los alevines de $6 \text{ g} \pm 2.0 \text{ g}$ se colocaron para su aclimatación durante 7 días en 3 tinas de 1500 litros, las cuales fueron llenadas con agua de la red potable del Municipio Guasave, Sinaloa. Posteriormente, se sembraron 734 organismos sin hormonar (machos y hembras) por tina en un sistema de 9 tanques circulares de geomembrana de 3 m de diámetro con capacidad de 7.1 m^3 de agua. Los 9 estanques fueron divididos en tres

tratamientos con tres réplicas. La alimentación de los organismos fue basada en pellet comercial con un contenido proteico de 45% durante las primeras 6 semanas del experimento y posteriormente se cambió el pellet a una dieta de 32% de proteína durante 10 semanas y el resto del experimento se proporcionó un pellet que contenía un nivel proteico de 28%. El alimento fue suministrado en tres raciones por día a las 9, 14 y 17 horas. Cada unidad estaba equipada con suministro independiente de agua, la aireación fue proporcionada por un sistema de sopladores de 2 hp, a través de una red de pvc y piedras difusoras en el fondo de cada tanque. Se realizaron recambios de agua cada semana del 30% del volumen de la tina. El bioensayo tuvo una duración de 150 días.

6.3.- Evaluación de variables productivas

Se realizaron biometrías de 50 organismos tomados al azar, se tomaron muestras al inicio del experimento, cada quince días y al final del mismo. Se registro el peso de los organismos, mediante una balanza electrónica de precisión (250 ± 0.1 g). Con los datos obtenidos, se realizaba el ajuste de la ración alimenticia. De acuerdo a la tabla de alimentación de purina. Posteriormente a los datos tomados se determinaba los siguientes valores:

Peso total ganado (peso promedio) = Peso total final – peso total inicial.

Tasa de Crecimiento ($g \cdot t^{-1}$) = (Peso promedio final – peso promedio inicial) $\times t^{-1}$.

Factor de conversión alimenticia (FCA), $FCA = \text{Alimento suministrado (g)} \times \text{peso ganado}$.

Sobrevivencia (%) = (número final de organismos $\times 100$) \times número sembrado $^{-1}$.

6.4.-Monitoreo de los parámetros fisicoquímicos

La temperatura y oxígeno disuelto (OD) del agua fueron monitoreados cada tercer día a las 8:00 y 16:00 horas. La concentración de oxígeno disuelto y temperatura se registró con un multianalizador marca YSI 150.

6.5- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar si los datos productivos obtenidos eran significativamente diferentes, se usó el software computacional STATISTICA 7, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza de dos vías (ANOVA, $p < 0.05$) y las diferencias entre medias, se compararon por la prueba de Tukey con un intervalo de confianza del 95% (Sokal y Rohlf, 1981).

Para sobrevivencia primero se transformaron los datos $\ln(x)$. Y se aplicó un análisis no paramétrico debido a que los datos no son normales (Kruskal wallis).

6.6.- EVALUACIÓN GENÉTICO MOLECULAR DE ESPECIES DE TILAPIA.

6.6.1.- Aislamiento de ADN

El aislamiento de ADN se realizó utilizando el kit comercial de la compañía Promega Wizard^(R) (DNA Purification System) donde se colocaron en tubo de 1.5 ml 600 μ l de solución de lisis nuclear (solución preparada con NH_4Cl 155 mM, NaHCO_3 10 mM, EDTA 0.1 mM, pH 7.4) y se enfrió en hielo. Una vez fría se adicionaron 20mg de músculo fresco y se homogenizó durante 10 segundos. Se incubaron las muestras a 65°C (músculo + Solución Lisis) durante 30 min. Posteriormente se adicionó 3 μ l de solución de RNAsa al lisado y se mezcló por inversión de 2 a 5 veces por 30 minutos a 37°C. Se agregaron 200 μ l de solución de precipitación de proteína y se agitó vigorosamente en el vortex a alta velocidad por 20 segundos (Mini Vortex) y se encubó en hielo por 5 minutos. Se centrifugó durante 4 min a 14,000 revoluciones por minuto (rpm) (microcentrífuga HERMLE) hasta formar una pastilla blanca al fondo del tubo. Se recuperó el sobrenadante conteniendo el ADN, y se transfirió a un tubo nuevo de 1.5 ml el cual contenía 600 μ l de isopropanol y se mezcló por inversión. Se descartó el sobrenadante y se adicionó 600 μ l de etanol al 70%, se mezcló y se centrifugó a 14,000 rpm por 1 minuto. Se repitió el mismo paso anterior para lavar la pastilla de ADN. Se desechó el sobrenadante y se recuperó la pastilla ADN, se secó y se resuspendió en

100 μ de solución de rehidratación de DNA (Tris 10Mm, EDTA 1mM) y se incubó a 65°C por 1 hora, mezclando periódicamente.

6.6.2.- Cuantificación y verificación de la calidad del ADN

El ADN se cuantificó y con el fin de verificar su calidad, las muestras se corrieron en un gel de agarosa al 1.5%, a 100 Volts durante 30 min. Usando un marcados de peso molecular LAMDA DNA (GibcoBBL® Cat N° 25250-10) a una concentración de 50 ng/1 μ l, esto con el fin de saber si nuestras muestras tenían ADN suficientemente intacto. El gel se visualizó con el analizador de imágenes Gel Logic122 (Kodak).

6.7.- SELECCIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES PARA LAS ESPECIES DEL GÉNERO *Oreochromis*.

Se seleccionaron 11 marcadores microsatélites para el estudio, los cuales fueron **UNH145, UNH146 UNH155, UNH106 UNH160, UNH166 UNH168 UNH190, UN207, UNH208 y UNH211**. Posteriormente, se diseñaron los oligonucleótidos en base a las secuencias del genoma mediante el programa de diseño de iniciadores disponible en la red, así como también grado de normatividad reportada en la literatura, número efectivo de alelos y PIC (contenido de información polimórfica), así como también el grado de dificultad técnica que presentaron para su optimización (tabla 2). Los once marcadores microsatélites seleccionados fueron marcados con fluorescencia infrarrojo (IRD800), esto permitió su análisis en el secuenciador semiautomático marca LI-COR (tabla2).

Tabla 2.- Secuencia de oligonucleótidos para amplificar los 11 loci microsatélites a ser probados en especies del género *Oreochromis*.

MARCADOR	LOCUS	SECUENCIA (5' - 3')	REFERENCIA
UNH145	G12297	Primer A: CATGCTGAAAGCTGATTT Primer B: ACCCACACCTAAAATTAGAGATA	Bhassu <i>et al.</i> , 2003 McConnell <i>et al.</i> , 2000
UN H146	G12298	Primer A: TAAGAAGGTTAGAAAGAAAGTG Primer B: TATATAATAATTTCTAAACGGC	Bhassu <i>et al.</i> , 2003
UNH155	G12307	Primer A: CGCACTTACTCTTGCT Primer B: AGAGCTGGAGTCATATGG	Bhassu <i>et al.</i> , 2003
UNH106	G12259	Primer A: CCTTCAGCATCCGTATAT Primer B:GTCTCTTCTCTCTGTCACAAG	Bhassu <i>et al.</i> , 2003
UNH160	G12312	Primer A: CCATTGGCTCTTACATC Primer B:GATAGCATTCTGTAGTTATGG	Bhassu <i>et al.</i> ,2003 McConnell <i>et al.</i> ,2000
UNH166	G12318	Primer A: CCCTCACACACTCTT Primer B: GATAACGACACGACAGTAC	Bhassu <i>et al.</i> ,2003 McConnell <i>et al.</i> ,2000
UNH168	G12320	Primer A: TAAGAAGGTTAGAAAGAAAGTG Primer B:TATATAATAATTTCTAAACGGC	Bhassu S. <i>et al.</i> ,2003
UNH190	G12342	Primer A: CGCGATCGAGCATTCTAA Primer B: TGTCTGCACGCGCTTTTGT	Rutten <i>et al.</i> , 2004 Bhassu <i>et al.</i> ,2003
UNH207	G12358	Primer A:ACACAACAAGCAGATGGAGAC Primer B:CAGGTGTGCAAGCAGAAGC	Bhassu . <i>et al.</i> ,2000
UNH208	G12359	Primer A: CTTCTTGGCCTACAATTT Primer B: CAGATGGGTGATAGCAA	Rutten <i>et al.</i> ,2004
UNH211	G12362	Primer A: GGGAGGTGCTAGTCATA PrimerB:CAAGGAAAACAATGGTGATA	Hesham <i>et al.</i> , 2005

6.7.1.- Optimización de la reacción de PCR

La optimización de las reacciones de PCR para cada uno de los oligonucleótidos marcados con fluorescencia fueron: la concentración de ADN, MgCl₂, oligonucleótidos, y temperatura de alineamiento y el programa de amplificación. La tabla 3, describe los cuatro experimentos básicos utilizados en cada evaluación para la optimización de PCR. Cada reacción de amplificación se preparó en un volumen de 10 µl.

Tabla 3. -Experimentos básicos de optimización de PRCs

Reactivo	Exp.1	Exp2	Exp3	Exp4
DNA	Bajo 1µl	Bajo 1µl	Alto2 µl	Alto2
Buffer 10x	1x	1x	10x	10x
MgCl ₂ (25mM)	Bajo 1.5mM	Alto 3mM	Bajo 1.5mM	Alto 3mM
dNTP's (10 Mm)	0.4mM	0.4mM	0.4mM	0.4mM
Oligonucleótidos	Alto 0.25µM	Bajo 0.1 µM	Bajo 0.1 µM	Alto 0.25µM
Go Taq	0.125U	0.125U	0.125U	0.125U
Programa*	Alto	Bajo	Bajo	Alto

6.7.2.-Análisis de los productos de PCR

Para analizar los tamaños alélicos, los productos de PCR se separaron en geles de poliacrilamida-bisacrilamida desnaturalizante al 6.5 %, de 25 cm de longitud y 0.4 cm de grosor, empleando TBE 1X (90 mM Tris base, 88 mM de ácido bórico y 2.0 mM EDTA pH 8.0) como amortiguador de corrimiento en cámaras de electroforesis vertical, a 1500 volts durante 1:20 h a 50 °C. En cada carril del gel se depositó 0.5 µl del producto de PCR (para cada *locus*) y un marcador de tamaño molecular (Marcador 50-350 pb, LI-COR), cada 24 carriles del gel, para la determinación del tamaño de la banda amplificada. Los productos de amplificación fueron analizados en el secuenciador semiautomatizado LI-COR (Modelo 42001G; Kovak, 2001). Las condiciones electroforesis para estos geles se resumen en la tabla 4.

Tabla 4.- Condiciones de electroforesis de los productos de PCR

Temperatura	50°C
Tiempo de corrida	1:20horas
Voltaje	1500v
Fuente de poder	40W
Corriente	40mA

6.8.-Genotipificación de tres especies de tilapia *O. mossambicus*, *O. aureus* y *O. niloticus*.

6.8.1.- Determinación del número, tamaño y frecuencias alélicas de las muestras de las tres especies de tilapia.

De los 11 marcadores seleccionados sólo se pudieron amplificar 8 marcadores microsatélites. Se determinó el rango alélico de las muestras amplificadas con cada marcador microsatélite. Para ello, se consideró el tamaño alélico menor y mayor de cada locus microsatélite analizado los cuales fueron incorporados al programa SAGA (complementario al equipo LI-COR), que analiza las imágenes y asigna el tamaño de alelos observados de acuerdo al rango que fue definido.

6.9- Variabilidad genética

Para el estadístico de la diversidad genética se evaluaron:

a) El número de alelos por *locus* en los 8 *loci* seleccionados y su valor medio

b) Los valores de Heterocigosidad esperada (H_e); la cual se definió como la proporción esperada de *loci* heterocigotos por locus y Heterocigosidad observada (H_o) en cada *loci*, la cual corresponde a la proporción observada de *loci* heterocigotos por individuo (Marshall, 1998).

c) La probabilidad de exclusión de paternidad con la ausencia del genotipo de uno de los padres (PE_1).

d) La probabilidad combinada de exclusión para los 8 *loci* (PEC_2), utilizando la ecuación propuesta por Jaimenson y Taylor (1997):

$$P = 1 - (1 - P_1)(1 - P_2)(1 - P_3) \dots (1 - P_K)$$

Donde:

P= probabilidad combinada de exclusión de paternidad del panel de *loci* utilizados

K= número total de *loci* dentro del panel utilizado

Los parámetros a, b, c y d se calcularon para cada *locus* microsatélite utilizando el programa CERVUS, versión 3.0 (Marshall, 1998; Kalinowski *et al.*, 2007), el cual evalúa la facilidad de asignar la paternidad al padre más probable mediante un módulo de simulación en el que se establecen los criterios Delta; dependiendo de los valores de Delta obtenidos en la simulación, y definiendo la proporción de falsos positivos en las asignaciones (nivel de confianza del 80% como “estricto” y del 95% como de “alta astringencia”).

6.9.1.- Equilibrio de Hardy- Weinberg

Buscando la asociación que pudiera existir entre los dos alelos que un individuo recibe para un locus específico y el posible efecto que puedan tener algunas fuerzas, como la mutación, selección, migración, subdivisión de poblaciones (efecto Wahlund), etc., sobre las frecuencias alélicas en el tiempo, se utilizaron dos procedimientos que estiman la existencia de equilibrio Hardy-Weinberg en las poblaciones estudiadas:

a) para cada locus/población siguiendo el algoritmo de cadenas de Markov (Guo y Thompson, 1992) incluido en el paquete GENEPOP versión 3.1 (Raymond y Rousset, 1995).

b) para cada una de las combinaciones *loci*/población mediante un test ji-cuadrado siguiendo el método de Fisher, (Raymond y Rousset, 1995).

6.9.2.- Número efectivo de alelos (Ae)

Este valor fue calculado a través de la siguiente fórmula: $Ae=1/\sum x_i^2$, donde x es la frecuencia del i-ésimo alelo por *locus* microsatélite.

6.9.- Cálculo de diversidad génica (G).

Los valores de G fueron estimados por medio de programa FSTA Supongamos que hay n alelos en un locus y la frecuencia del alelo X_k en una población. Las probabilidades de identidad y no identidad de dos alelos al azar de genes seleccionados son entonces son dadas por :

$$J = \sum_k X_k^2$$

6.9.4.-Análisis coeficiente de consanguinidad (FIS) por especie.

Coeficientes de consanguinidad o FIS estimados a partir de la información de cada uno de los *loci*. A través del programa GENEPOP 3.1 b (Raymond y Rousset, 1995).

6.9.5.- Tamaño efectivo de la población y diversidad génica (N_e)

El tamaño efectivo de población para cada una de las variedades fue estimado mediante el método de desequilibrio de ligamiento usando el programa LDNE (Waples y Do, 2008). Esta prueba se basa en la estimación del N_e a partir del cambio observado en algún parámetro genético.

6.9.5.- Análisis de diferenciación genética entre poblaciones.

Genetix cuenta con una herramienta que permite establecer un análisis factorial de correspondencias. Este procedimiento describe la asociación de variables cualitativas, en la que cada individuo está representado sólo una vez por el valor de cada modalidad (locus) y variable (alelos para cada locus). En este caso, los individuos analizados pertenecen a una población y están representados por los valores propios de sus frecuencias alélicas; los valores de inercia en cada eje pueden ser interpretados como combinaciones lineales de los valores FST (Varianza de frecuencias alélicas entre poblaciones) monocus, los resultados son mostrados como gráficas bidimensionales o tridimensionales en las que los individuos se ven como nubes de puntos en el

hiperespacio, que tiene tantas dimensiones como modalidades (alelos) haya en todas las variables(alelos en los diferentes *loci*) la relación que guarda con respecto a los demás individuos está en función de la distancia que existe entre ellos (Belkhir *et al.*, 2004). F_{ST} , es el índice de fijación, mide los efectos de la subdivisión de la población, es decir, el grado de diferenciación génica entre las poblaciones, en función de las frecuencias alélicas y se refiere a la consanguinidad en las subpoblaciones (S), en relación a la población total (T), de la cual ella es parte.

El rango de F_{ST} es de 0-1, según se muestra en el tabla 5 el grado de diferenciación genética puede inferirse de acuerdo a los valores de F_{ST} . En cero no existe divergencia genética y en uno hay fijación para alelos alternos en diferentes subpoblaciones (Cornell University, 2004).

Tabla 5. Interpretación de valores de F_{ST}

Diferenciación genética	F_{ST}
0 a 0.05	Escasa
0.05 a 0.15	Moderada
0.15 a 0.25	Alta
> 0.25	Muy alta

7. – RESULTADOS

7.1.- PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DEL AGUA

7.1.1.- Oxígeno disuelto

El Oxígeno disuelto no presentó diferencias significativas entre las unidades experimentales ($p < 0.05$). Los promedios durante la mañana fueron de 7.43 ± 1.30 mg/l. mientras que la concentración de oxígeno disuelto por la tarde fue de 8.05 ± 1.51 mg/l durante los 150 días de bioensayo (fig. 4).

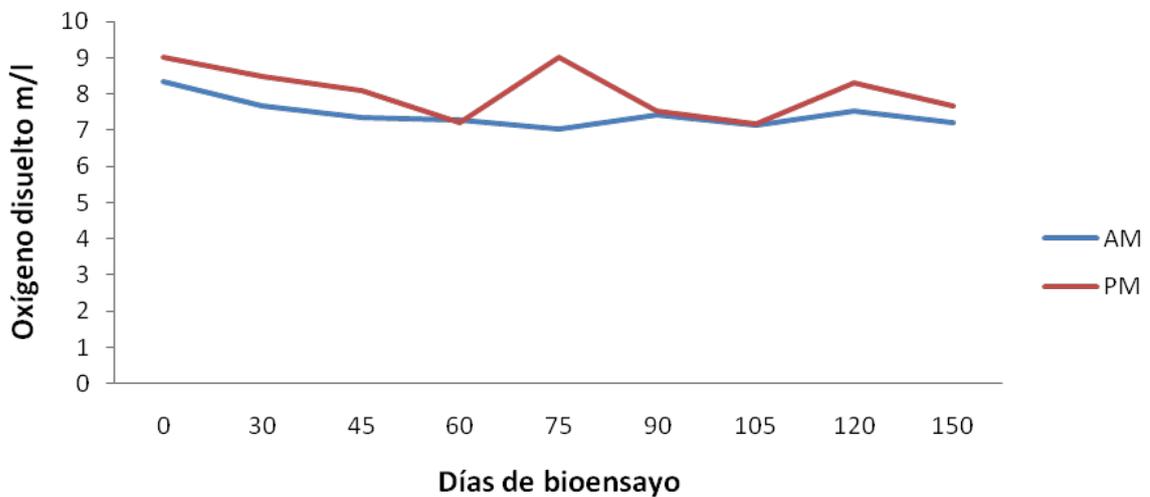


Figura 4. Oxígeno disuelto registrado en el bioensayo de producción de tres especies de tilapia durante 150 días de cultivo.

7.2.- Temperatura

La temperatura registró un promedio durante la mañana de $21.24 \pm 2.13^\circ \text{C}$ mientras que la temperatura por la tarde fue de 24.30 ± 1.83 durante los 150 días de bioensayo. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las unidades experimentales (fig. 5).

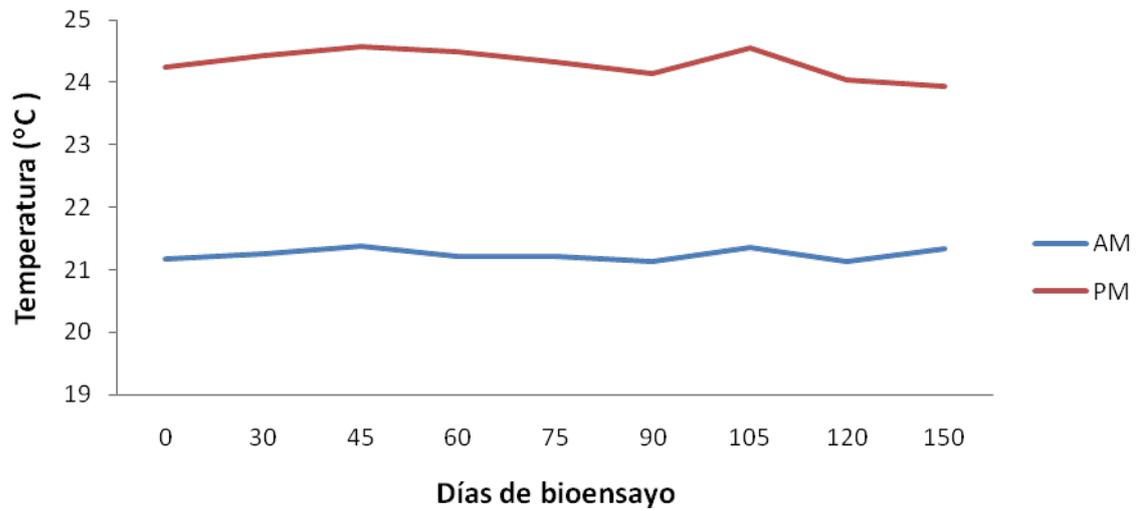


Figura 5. Temperatura registrada en el bioensayo de producción de tres especies de tilapia durante 150 días de cultivo.

7.3.- Evaluación de las variables de producción.

Terminado el período de estudio (150 días) el peso promedio final (fig.6) para *O. aureus* fue de 82.54 ± 3.2 g para machos y las hembras tuvieron un peso de 61.34 ± 3.2 g. Los machos de la especie *O. mossambicus* presentó un peso final promedio de 85.74 ± 4.8 g, y las hembras de 52.51 ± 4.8 g. Las dos especies mostraron mejor crecimiento ($p < 0.05$) con respecto a la especie *O. niloticus* la cual tuvo un peso promedio en machos 74.28 ± 4.2 g mientras que las hembras de 42.16 ± 4.2 g. El modelo estadístico indicó que existe una interacción entre la variedad y el sexo ($p < 0.05$) lo que indica el dimorfismo sexual en cada una de las especies evaluadas.

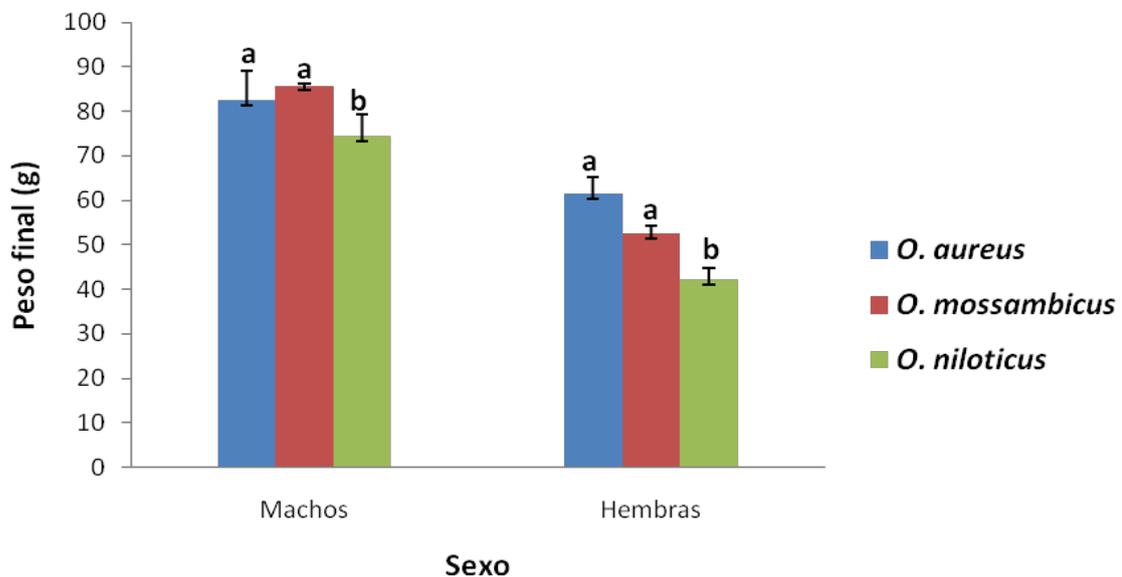


Figura 6. Peso final promedio de las diferentes especies *O. aureus*, *O. mossambicus*, y *O. niloticus* tras 150 días de cultivo (Noviembre – Abril). La gráfica muestra la media \pm error estándar (barras). Letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$).

7.4.- Supervivencia final promedio de *O. mossambicus*, *O. niloticus*, y *O. aureus*

Entre las especies de tilapia en relación a su supervivencia, no se presentaron diferencias significativas ($p > 0$, registrando para *O. mossambicus* de $69.23 \pm 0.9\%$, mientras que para la especie *O. aureus* $81.56 \pm 9.3\%$ aparentemente y *O. niloticus* fue la especie que presentó una menor supervivencia (67.80 ± 9.6) aunque no fue estadísticamente diferente (figura. 7).

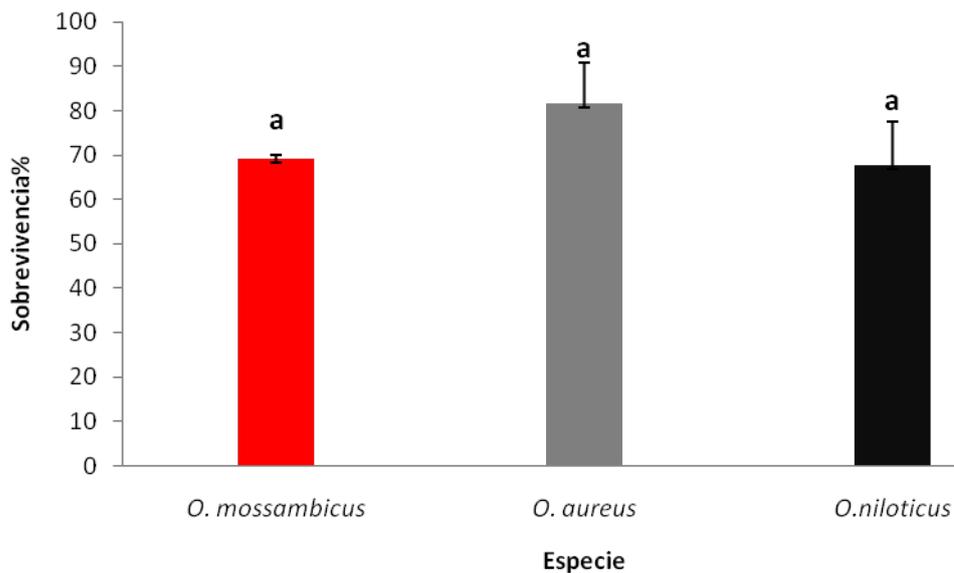


Figura 7. Supervivencia final promedio de *O. mossambicus*, *O. aureus* y *O. niloticus*. No se encontraron diferencias significativas para esta característica ($p < 0.05$). La gráfica muestra el promedio \pm error estándar (barras). Letras diferentes representa diferencias significativas ($p < 0.05$).

7.5.- Factor de conversión alimenticia

El factor de conversión alimenticia (FCA) para las tres especies, estuvo entre 1.4 y 1.5. Sin embargo no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la comparación de este indicador entre especies (figura. 8).

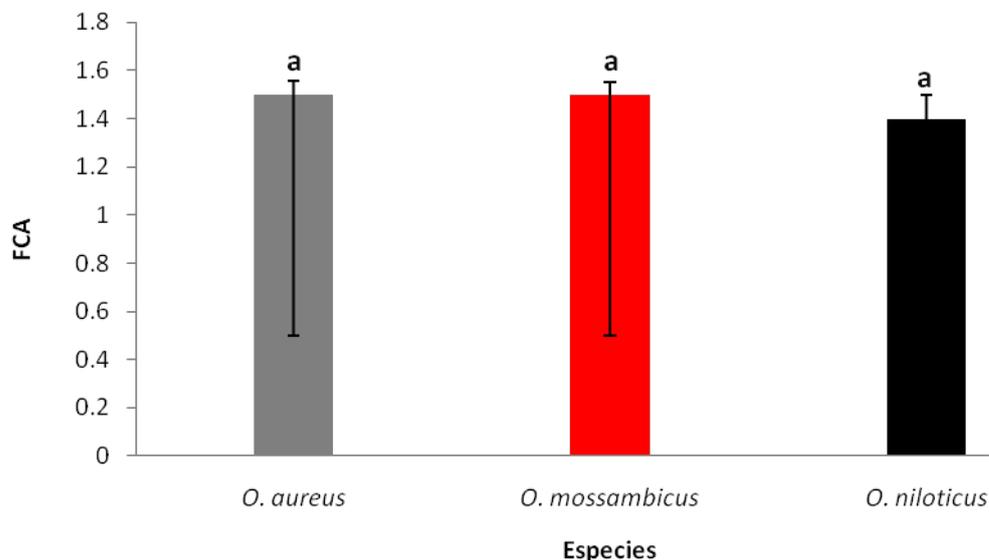


Figura 8. Factor de conversión alimenticia (FCA) de las tres especies evaluadas. Letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$). La grafica muestra el promedio \pm error estándar.

7.6.- Ganancia en peso diaria

Para la ganancia diaria en peso (PGA) se encontraron valores entre 0.54 a 0.64g para las tres especies; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) tabla 6.

Tabla 6.- Ganancia diaria en peso (GDP) de las tres especies evaluadas (media \pm error estándar).

	<i>O. mossambicus</i>	<i>O. aureus</i>	<i>O. niloticus</i>
GDP	0.64 \pm 0.03 a	0.55 \pm 0.03 a	0.54 \pm 0.03 a

Letras diferentes significan diferencias significativas ($p < 0.05$). Los valores representan promedio \pm error estándar)

7. 7.- RESULTADOS DE VARIABILIDAD GENÉTICA

7.7.1.- Obtención de ADN genómico

Para cada especie de tilapia se obtuvieron satisfactoriamente 74 muestras de ADN, los cuales se organizaron en tres bancos distintos de acuerdo a la especie. A cada muestra se le asignó un número indicando el nombre de la especie y el sexo. En la figura. 9 se muestra un ejemplo de la integridad de ADN de muestra *O. aureus* como resultado de la extracción de ADN genómico.

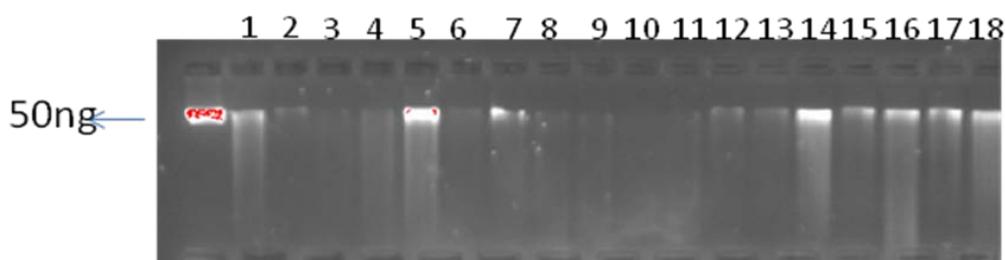


Figura 9. Muestra de ADN genómico de tilapia. Se muestran los resultados de la extracción de ADN genómico separado por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. Los carriles de 1 -18 corresponden a la especie *O. aureus*.

7.7.2.- Selección de los microsatélites utilizados en el secuenciado semiautomático LI – COR.

La obtención de los polimorfismos en el análisis de los 74 individuos permitió realizar la selección de 8 de los 11 microsatélites con base en su normatividad y para su posterior análisis en el secuenciador semiautomático LI-COR que fueron los que tuvieron una menor dificultad técnica para su optimización. El microsatélite UNH208 sólo se pudo amplificar para la especie *O. niloticus*.

7.7.3.- Condiciones de optimización de las reacciones de PCR

En la tabla 6 se muestran las condiciones óptimas para la amplificación por PCR, mismas que fueron optimizadas en base a las concentraciones de ADN (1 - 3µl), MgCl₂ (1.5 – 3Mm), oligonucleótidos y temperatura de alineamiento (tabla 7) y el programa

de amplificación (TD55, TD60 y TDTG).

Tabla 7.- Condiciones para la amplificación de cada *locus* microsatélite seleccionado

REACTIVOS	UNH145	UNH155	UNH160	UNH166	UNH190	UNH207	UNH208	UNH211
ADN	3µl	2µl	1µl	2 µl	2µl	2µl	2µl	1.5µl
Buffer10x	1X							
MgCl ₂	1.5mM	3mM	2.5 mM	1.5mM	1.5mM	1.5mM	2.5mM	3mM
dNTP's(10mM)	0.4mM							
Oligonucléotidos 5´	0.25µM							
Oligonucléotidos 3´	0.25µM							
Go Taq polimerase	0.125 U							
Programa*	TD55	TD60	TDTG	TD55	TD55	TD60	TD60	TD60

ng/ µl: nanogramos por microlitro, mM: mili molar, µM: micro molar, U: unidades, *Programa: programa de amplificación dentro del método *Touchdown*. (Hecker y Roux, 1996; McPherson y Møller, 2000).

El método *Touchdown* (Hecker y Roux, 1996; McPherson y Møller, 2000) consiste en ir disminuyendo la temperatura de alineamiento 2°C en cada uno de los primeros cinco ciclos. Para la amplificación de los microsatélites analizados en este trabajo se utilizaron cuatro programas *Touchdown* que difieren el número de ciclos la temperatura inicial y final de alineación (tabla 8).

Tabla 8.- Programas de amplificación por PCR incluidos en el programa *Touchdown* del termociclador Perkin Elmer (PT 9700).

Tiempo	TDTG		TD55		TD60		TD65	
	Temp. °C	No. Ciclos						
5 min	95	1	95	1	95	1	95	1
45 s	95	} 5	95	} 5	95	} 5	95	} 5
45 s	58 – 2		62 – 2		65 – 2		68 – 2	
	cada ciclo		cada ciclo		cada ciclo		cada ciclo	
45 s	72		72		72		72	
45 s	95		95		95		95	
45 s	50		55		60		65	
45 s	72	30	72	30	72	25	72	25
10 min.	72	1	72	1	72	1	72	1

7.7.5.- Análisis de los productos de PCR

Se realizó la amplificación de los 8 marcadores microsatélites para los 72 individuos muestreados de las tres especies seleccionadas. En la figura. 10 se muestra un gel de electroforesis con la calidad ideal para ser leído por el programa SAGAGT para genotipificación. En este ejemplo se muestra la amplificación de la población de la especie *O. niloticus* con el marcador UNH207. Los carriles 1 – 24 muestran cada una de las muestras amplificadas.

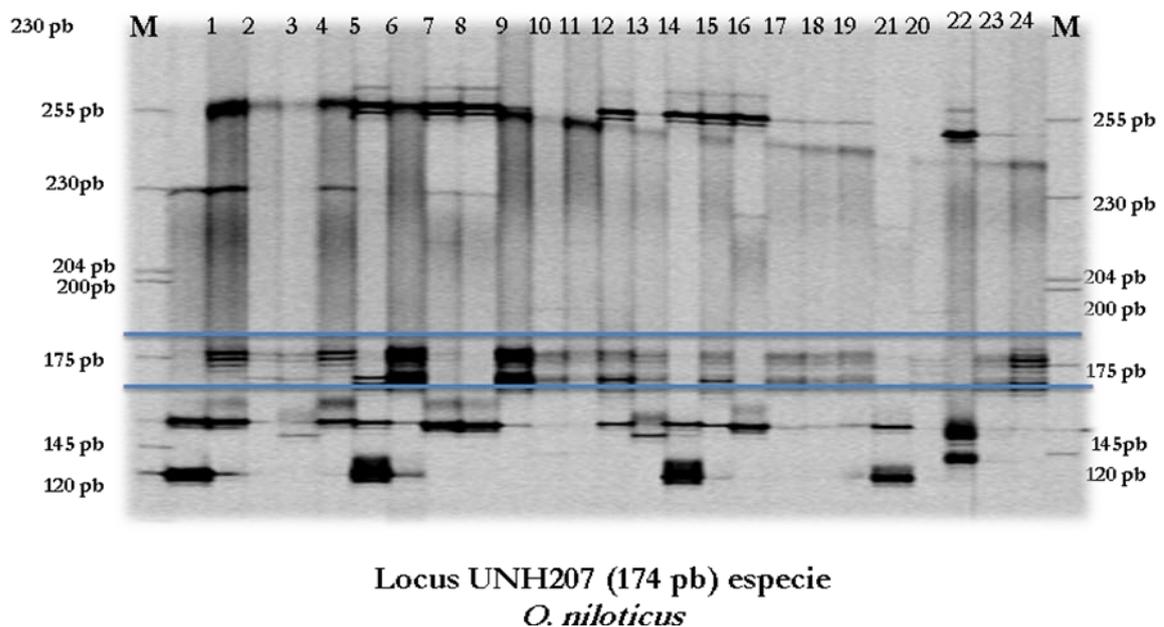


Figura 10. Amplificación del marcador microsatélite Locus UNH 207 (174 pb) especie *O. niloticus*. Carril M, marcador de peso molecular. Las líneas azules nos indican los tamaños de los alelos esperados de acuerdo al marcador de peso molecular de cada una de las muestras de la población en estudio.

7.8.- ANÁLISIS GENÉTICO

7.8.1. Análisis de diversidad genética.

Inicialmente se seleccionaron 11 *loci* microsatélites para su optimización y con base en su informatividad teórica. Consecuentemente, para establecer el panel de trabajo para las tres especies de tilapia, fueron eliminados aquellos *loci* que no amplificaron con las muestras de ADN obtenidas, quedando un total de 8 *loci* teniendo en cuenta

que el locus UNH208 sólo amplificó para la especie *O.niloticus*. Los 8 loci microsatélites fueron altamente polimórficos para las tres especies en estudio. Con ellos, se analizó la población total para obtener los datos de número de alelos y sus frecuencias, valores con los cuales se determinaron los parámetros de diversidad genética. Los resultados permitieron observar diferencias en el número de alelos obtenidos para cada marcador microsatélite. El locus UNH208 como ya se mencionó anteriormente sólo amplificó para la especie *O. niloticus*. Para dicha especie se encontrando 11 alelos teniendo que el alelo más frecuente fue el alelo 52 el cual estuvo presente en 17 de 24 individuos evaluados con una frecuencia de 0.562 (Anexos).

El locus UNH166 fue el más polimórfico encontrando valores de los parámetros H_e de 0.889 y H_o de 0.514 y se encontraron 24 alelos de los cuales el alelo 161 se encontró en 29 de 74 individuos evaluados con una frecuencia de 0.201 (Anexos) con un rango alélico de 134 a 204 pb.

El locus UNH160 mostró valores de H_e de 0.847 y H_o de 0.444 respectivamente, con 17 alelos, teniendo que el alelo 180 se encontró en 36 de 74 individuos evaluados con una frecuencia de 0.250 (Anexos) presentando un rango alélico de 154 a 200 pb.

El locus UNH190 mostró valores de H_e de 0.869 y H_o de 0.292, mostrando 24 alelos de los cuales el alelo 155 se encontró en 45 de 74 individuos con una frecuencia de 0.312 (Anexos) mientras que este locus presentó un rango alélico de 119 a 205 pb.

En el presente estudio el locus UNH211 se encontraron H_e de 0.798 y H_o de 0.389, mostrando 20 alelos donde el alelo 54 se encontró en 56 de 74 individuos con una frecuencia 0.388 (Anexos) teniendo un rango alélico de 54 a 170 pb.

El locus UNH155 se encontraron H_e de 0.897 y H_o de 0.389, mostrando 17 alelos de los cuales el alelo 148 se encontró en 28 de 74 individuos con una frecuencia 0.194 (Anexo a) este locus tuvo un rango alélico de 132 a 192 pb.

Para el caso del *locus* UNH145 se obtuvo en este estudio, H_e de 0.819 y H_o de 0.883 así como 17 alelos donde el alelo 174 se encontró en 31 de 74 individuos con una frecuencia de 0.215 (Anexos) teniendo un rango alélico de 134 a 204 pb.

Finalmente el *locus* UNH207 se obtuvieron H_e de 0.894 y H_o de 0.458 presentando 27 alelos de los cuales el alelo 158 se encontró en 41 de 74 individuos con una frecuencia de 0.284 (Anexos) con un rango alélico de 96 a 108 pb.

Para el panel de microsatélites diseñado para las tres especies de tilapia, se presentaron algunos alelos nulos, los cuales se describen como aquellos que son incapaces de generar algún fenotipo. Esto suele ser ya sea por la ausencia de un producto génico normal, por la falta de expresión génica de ese alelo, o por alguna mutación en su secuencia que lo incapacita para desempeñar su función biológica. De este modo, la posesión de un alelo nulo en homocigosis es indistinguible de la delección absoluta del *locus* en el cromosoma (Griffiths *et al.*, 2002). El *locus* que presentó un mayor número de alelos nulos fue el *locus* UNH190 con 0.507 mientras el *locus* que presentó un menor número de alelos nulos fue el *locus* UNH145 con 0.036.

Al término del estudio de diversidad genética se procedió a calcular la probabilidad combinada de exclusión para los ocho *loci* (PEC1, PEC2, PECP y PECI). En la tabla 9 se muestra la probabilidad combinada de exclusión para el panel de microsatélites. Los resultados obtenidos muestran que el *locus* con mayor variabilidad genética dentro del estudio fue el UNH166, seguido por el UNH145. Por su parte, el *locus* UNH208 fue el menos informativo de los ocho seleccionados, los valores obtenidos se consideran aceptables para la asignación/verificación de relaciones de parentesco (Ron *et al.*, 1996; Heyen *et al.*, 1997; Curi y López, 2002; Salazar *et al.*, 2004; Riojas *et al.*, 2006).

Tabla 9.- Niveles informativos del panel de microsatélites utilizados en el presente estudio para las tres especies de tilapia.

<i>Loci</i>	No. de alelos	Rango alélico (pb)	He	Ho	PEC1	PEC2	PECP	PECI
UNH145	17	134-204	0.883	0.819	0.393	0.244	0.090	0.026
UNH155	17	132-192	0.897	0.389	0.357	0.217	0.072	0.021
UNH160	17	154-200	0.847	0.444	0.471	0.307	0.132	0.042
UNH166	24	137-221	0.903	0.514	0.335	0.202	0.062	0.018
UNH190	24	119-205	0.869	0.292	0.403	0.252	0.085	0.027
UNH207	27	96-180	0.894	0.458	0.344	0.208	0.059	0.018
UNH208	11	52-108	0.669	0.292	0.720	0.577	0.306	0.137
UNH211	20	54-170	0.798	0.333	0.548	0.371	0.306	0.061
Media	19		0.845	0.442	0.992	0.938	0.947	0.275

pb: pares de bases, He: heterocigosidad esperada, Ho: heterocigosidad observada, PIC: contenido de información polimórfica, PEC1: probabilidad de exclusión combinada primer padre cada locus, PEC2: Probabilidad de exclusión combinada segundo padre para cada locus, PECP: Probabilidad de exclusión combinada par de progenitores, PECI: Probabilidad de exclusión combinada de identidad.

7.8.4.- Diversidad alélica

O. mossambicus fue la especie que presentó una diversidad génica menor con 0.547 y por consiguiente un número efectivo de alelos de 2.97; mientras que *O. aureus* presentó la mayor diversidad génica con 0.813 y un número efectivo de alelos de 6.37 y *O. niloticus* presentó una diversidad génica de 0.789 y un número efectivo de alelos de 5.54. Teniendo una media de 9.79 alelos por locus para cada especie.

Cada una de las especies fue evaluada de manera individual para poder obtener los datos de rango alélico, número de alelos, alelos específicos así como también la diversidad genética para cada una de las especies en estudio. Dentro del panel de microsatélites estudiado para la especie *O. mossambicus* (tabla 10). El locus UNH190 mostró la menor diversidad génica (0.259) siendo el locus menos diverso, ya que en la población analizada sólo se encontraron 2 alelos. Respectivamente, el locus UNH155 fue el que mostró mayor diversidad génica (0.863), siendo el locus más variable.

Tabla 10.- Parámetros de diversidad genética para la especie de *Oreochromis mossambicus*.

<i>Loci</i>	<i>RA</i>	<i>A</i>	<i>Ae</i>	<i>G</i>
UNH145	158-178	8	3.320	0.722
UNH155	132-146	7	6.128	0.863
UNH160	154- 182	7	4.114	0.780
UNH166	137- 173	10	3.097	0.697
UNH190	153-154	2	1.332	0.259
UNH207	124-162	5	1.358	0.273
UNH211	54 -170	6	1.300	0.237
Promedio		6.42	2.949	0.552

RA: Rango alélico, *A*: Número de alelos, *Ae*: Número efectivo de alelos.
G: Diversidad génica.

Para el estudio de diversidad alélica de la especie *O. aureus* se analizaron siete *locus* microsatélite. Dentro del panel de microsatélites estudiado para la especie *O. aureus* el *locus* UNH211 mostró la menor diversidad génica (0.611) presentando siete alelos siendo el *locus* menos diverso. Contrariamente, el *locus* UNH166 fue el que mostró mayor diversidad génica (0.952), siendo el *locus* más variable para la especie *O. aureus* presentando 18 alelos de igual manera este *locus* presentó el mayor número efectivo de alelos (13.395). El *locus* UNH211 con 6 alelos presentó el menor número efectivo de alelos (0.292) para la especie *O. aureus* (tabla 11).

Tabla 11.- Parámetros de diversidad alélica para la especie *Oreochromis aureus*.

<i>Loci</i>	<i>RA</i>	<i>A</i>	<i>Ae</i>	<i>G</i>
UNH145	162- 182	11	8.533	0.905
UNH155	142- 192	10	5.309	0.835
UNH160	156-184	7	4.315	0.683
UNH166	139-187	18	13.395	0.952
UNH190	125-179	12	4.364	0.797
UNH207	96-180	17	8.409	0.909
UNH211	56-138	7	0.292	0.611
Promedio		11.71	6.373	0.813

RG: Rango alélico, A: Número de alelos, Ae: Número efectivo de alelos, G: Diversidad génica

Para el estudio de diversidad alélica de la especie *O. niloticus* se analizaron ocho *locus* microsatélites para poder obtener los datos de rango alélico, número de alelos, alelos específicos así como también la diversidad génica para cada una de las especies en estudio. Dentro del panel de microsatélites estudiado para la especie *O. niloticus* el *locus* UNH155 mostró la menor diversidad génica (0.566) siendo el *locus* menos diverso presentando cinco alelos. Contrariamente, el *locus* UNH190 fue el que mostró mayor diversidad genética (0.928), siendo el *locus* más variable para la especie *O. niloticus* presentando 14 alelos. De igual manera este *locus* presentó el mayor número efectivo de alelos (9.931). El *locus* UNH155 con 6 alelos presentó el menor número efectivo de alelos (0.974) para la especie *O. niloticus* (tabla 12).

Tabla 12.- Parámetros de diversidad alélica para la especie *Oreochromis niloticus*

<i>Loci</i>	<i>RA</i>	<i>A</i>	<i>Ae</i>	<i>G</i>
UNH145	134-204	14	8.288	0.898
UNH155	144-188	5	0.974	0.566
UNH160	154-200	11	4.315	0.789
UNH166	141-221	8	3.008	0.684
UNH190	119-205	14	9.931	0.928
UNH207	114-178	14	8.597	0.906
UNH208	52-108	11	2.902	0.678
UNH211	54-170	13	6.365	0.868
Promedio		11.25	5.5475	0.7896

RG: Rango alélico, A: Número de alelos, Ae: Número efectivo de alelos, G: Diversidad génica.

La prueba con los ocho *loci* polimórficos estudiados a partir del estimador FIS de Weir y Cockerham, y los valores de probabilidad obtenidos a partir de la prueba exacta de Fisher reveló que las 3 especies están en desequilibrio de Hardy-Weinberg. La tabla 13 presenta los resultados del análisis del equilibrio de Hardy - Weinberg para cada una de las especies. El valor de probabilidad del FIS ($P < 0.05$) es estadísticamente significativo. Así que de acuerdo a éste valor, las observaciones fueron las siguientes: Para la especie *O. mossambicus*, los valores significativos fueron observados en los *loci* UNH155, UNH160, UNH166, UNH190, UNH207, UNH211 y no para el *locus* UNH145. Para la especie *O. aureus*, los valores significativos fueron observados en todos los *loci* con excepción del UNH145. Para la especie *O. niloticus* todos los *loci* mostraron valores significativos excepto UNH145 y UNH166. Los valores significativos, en la mayoría de los *loci* en cada población indican que existe desequilibrio de Hardy – Weinberg en las tres especies de tilapia que conforman el estudio.

Los promedios obtenidos de He y Ho para la especie *O. mossambicus* fueron de 0.320 y 0.541, respectivamente. Las heterocigosidades para *O. aureus* fueron de He de 0.806 y Ho de 0.464 mientras que para *O. niloticus* fueron de He de 0.784 y Ho de 0.642.

Los valores de FIS encontrados en este estudio fueron de 0.348 para la especie *O. mossambicus*, para *O. aureus* de 0.436, mientras que para *O. niloticus* fue de 0.314. Teniendo que el *locus* UNH190 para la especie *O. mossambicus* mostró valores altos de 0.839 mostrando valores significativos de endogamia para esta población con respecto a este *locus*.

Las heterocigosidades promedio para cada una de las especies fueron de H_e 0.541 y H_o 0.784 para *O. niloticus*, H_e 0.806 y H_o 0.446 para *O. aureus*, mientras que para la especie *O. mossambicus* se pudieron observar H_e 0.532 y H_o 0.351.

Tabla 13.- Coeficiente de consanguinidad y heterocigosidades equilibrio de Hardy - Weinberg estimado para tres especies de tilapia del género *Oreochromis*.

<i>Loci</i>	<i>Fis₁</i>	<i>Fis₂</i>	<i>Fis₃</i>	<i>Ho₁</i>	<i>Ho₂</i>	<i>Ho₃</i>	<i>He₁</i>	<i>He₂</i>	<i>He₃</i>	<i>HW_{1 p-val}</i>	<i>H-W_{2p-val}</i>	<i>H-W_{3 p-val}</i>
UNH145	-0.154	0.171	0.021	0.792	0.750	0.917	0.651	0.902	0.898	0.0526	0.0890	0.4113
UNH155	0.469	0.351	0.706	0.458	0.542	0.167	0.855	0.829	0.558	0.0003	0.0008	0.0000
UNH160	0.412	0.512	0.261	0.458	0.292	0.583	0.773	0.660	0.785	0.0027	0.0000	0.0010
UNH166	0.403	0.475	0.147	0.417	0.542	0.583	0.691	0.945	0.682	0.0001	0.0000	0.1072
UNH190	0.839	0.582	0.461	0.042	0.333	0.500	0.254	0.787	0.918	0.0009	0.0000	0.0000
UNH207	0.542	0.420	0.172	0.125	0.500	0.750	0.270	0.900	0.902	0.0008	0.0000	0.0000
UNH208			0.570			0.292			0.669			0.0000
UNH211	0.298	0.591	0.376	0.167	0.292	0.542	0.236	0.624	0.861	0.0030	0.0000	0.0000
Promedio	0.348	0.436	0.314	0.351	0.464	0.541	0.532	0.806	0.784			

Fis: coeficiente de consanguinidad *Ho*: Heterocigosidad observada; *He*: heterocigosidad esperada, *HW*: Hardy - Weinberg desviación con los niveles de P-Valores; *O. mossambicus* (1), *O. aureus* (2) y *O. niloticus* (3).

7.8.5. -Tamaño efectivo de población

El índice general de las subestructuras de las poblaciones estudiadas para obtener el tamaño efectivo de la población para cada especie fue estimado mediante el método de desequilibrio de ligamiento usando el programa LDNE (Waples y Do, 2008). En la tabla 14 puede observar que para la especie *O. mossambicus* fue de 75 individuos mientras que para la especie *O. aureus* fue de 57.9 individuos y *O. niloticus* 56.8 individuos.

Tabla 14. El tamaño efectivo de población para cada una de las especies del género *Oreochromis* estudiada.

Especie	NE	I. C
<i>O. mossambicus</i>	75.0	28.0 - Infinito
<i>O. aureus</i>	57.9	35.3 -132.6
<i>O. niloticus</i>	56.8	31.2 -212.9

NE: Tamaño Efectivo de la población. I.C.: Intervalos de confianza parámetros

7.8.6.- Diferenciación genética.

La figura. 11 muestra los resultados del análisis factorial por correspondencia entre las tres especies de tilapia. El valor de FST encontrado para *O. mossambicus* fue de 0.261, mientras que para *O. aureus* de 0.165 y *O. niloticus* tuvo un valor de FST de 0.284. Estos resultados indican que los individuos de cada especie conforman poblaciones distintas.

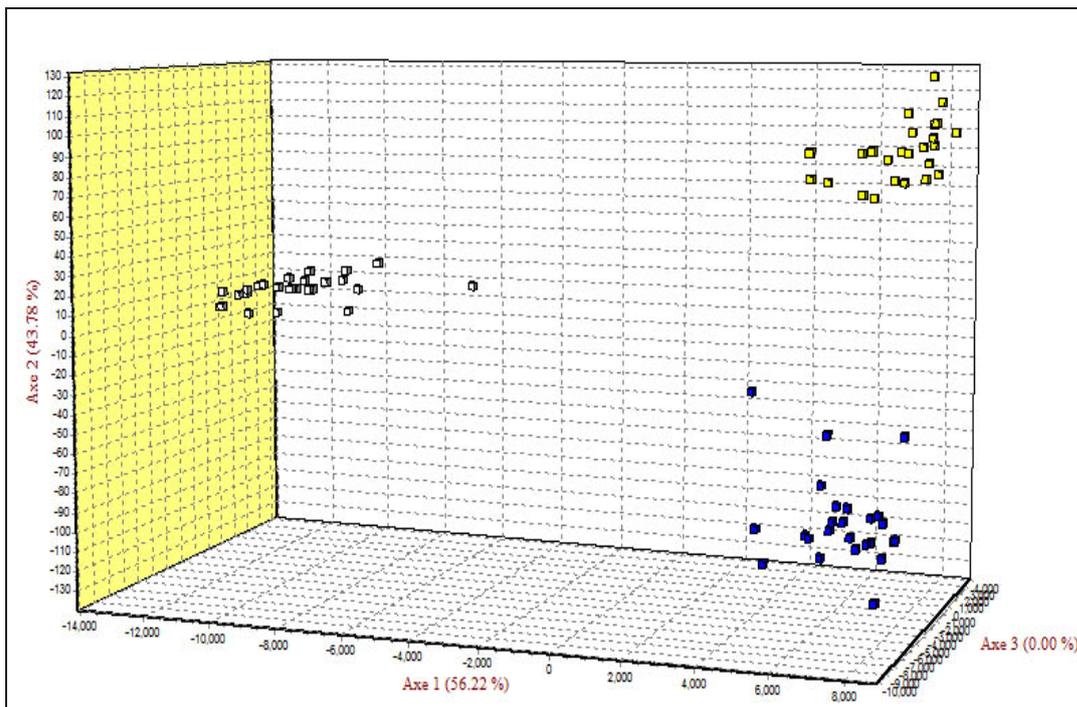


Figura 11. Diferenciación genética por medio del análisis factorial entre las especies de tilapia *O. mossambicus*, *o. aureus* y *O. niloticus*. Los cuadros amarillos representan la especie *O. mossambicus*, los cuadros azules representan a la especie *O.aureus* y los cuadros blancos representa a la especie *O.niloticus*.

8.- DISCUSIÓN

8.1. -Parámetros fisicoquímicos del agua

Las tilapias son organismos poiquiloterms es decir, la temperatura de su cuerpo se ajusta pasivamente a la temperatura del agua del ambiente (Lagler *et al.*, 1977). Es importante considerar que la variación de la temperatura del agua influye directamente en la tasa metabólica de tilapias y por consecuencia en su crecimiento y sobrevivencia. La temperatura del agua en las tinas del presente trabajo fue influenciada por las diferentes condiciones ambientales que se desarrollaron en ese periodo (Noviembre – Abril). Presentando temperaturas en el agua de 21 °C por la mañana y 24 °C por la tarde las cuales se mantuvieron por debajo de los niveles óptimos para la especie (Wicki y Gromenida, 1998). Sin embargo, en el presente trabajo se presentaron diferencias estadísticas en el peso final promedio para la especie *O. aureus* y *O. mossambicus* con respecto a la especie *O. niloticus* la cual tuvo un peso promedio menor, esto pudo deberse a que *O. niloticus* presenta menor resistencia al frío, lo que ocasiona una disminución en la ingesta de alimento y esto influye en su crecimiento (Morales, 2003).

Las tilapias pueden sobrevivir en concentraciones hasta 0.5 mg l⁻¹ de oxígeno disuelto. La sobrevivencia de las tilapias en agua con bajo concentración de oxígeno disuelto (< 1 mg l⁻¹), es posible, por su habilidad de usar el oxígeno en la interface aire-agua. Por lo tanto, las concentraciones de oxígeno disuelto no fue un factor limitante del crecimiento de los organismos en ninguno de los tratamientos presentes trabajo, debido a que las concentraciones de oxígeno disuelto se mantuvieron en 7.43 ± 1.30 mg/l por la mañana y 8.05 ± 1.51 mg/l por la tarde, que es considerado como óptimo para el cultivo de tilapias.

8.2.- Variables de producción de tres especies de tilapia del género Oreochromis

Se ha comprobado que los machos crecen más que las hembras debido a que las hembras al momento de su reproducción incuban sus huevos en la boca por un

periodo de 5 a 8 días. Durante este tiempo las hembras dejan de comer y por lo tanto desvían su energía en la incubación de los huevos. El número de desoves puede variar, y se ha observado y comprobado que puede ser continuo durante todo el año (Morales, 2003).

El crecimiento se puede expresar como el incremento en la talla, volumen o peso ganado en un determinado tiempo (Rojo, 2009). Los resultados del bioensayo evidencian que en el crecimiento de las tres especies de tilapia se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) para las especies *O. aureus* y *O. mossambicus* con respecto a la especie *O. niloticus*. Se puede inferir que *O. niloticus* tuvo un menor crecimiento debido a que esta especie se desarrolla en temperaturas superiores a 26 °C (Morales, 2003) y en el presente trabajo se tuvieron temperaturas inferiores a las óptimas para el desarrollo de esta especie.

Las hembras de la especie *O. aureus* observaron un mayor peso promedio comparado con las hembras de las otras especies cultivadas. Cnaani *et al.*, (2004), describe a *O. aureus* como una especie que alcanza una madurez sexual más tardía y necesita una temperatura no menor de 20 °C para poder iniciar su desove, aunque se ha observado que tal función se realiza hasta los 18 °C como mínima (Morales, 2003). Teniendo que las especies *O. mossambicus* y *O. niloticus* necesitan temperaturas superiores (24 y 26 °C) para poder iniciar con su desove. Cnaani *et al.*, (2004) describen a *O. aureus* como más tolerante a las aguas frías para su crecimiento. Esto es consistente con los resultados de mayor crecimiento de *O. aureus*, ya que la temperatura a la que se crecieron estos animales fue en promedio de entre los 21-24 °C. Los machos de la especie *O. mossambicus* presentaron un mayor peso promedio en comparación a los machos de las especies *O. aureus* y *O. niloticus*, aún cuando el cultivo se llevó a cabo a temperaturas por debajo de las óptimas para estas especies.

En reportes previos sobre el crecimiento de las tres especies en estudio (Qayyum y Ahmed, 1999) se obtuvieron pesos promedios finales en un periodo de cultivo 392 días mayores que el presente estudio. Para la especie *O. aureus* de 234 g y para *O. mossambicus* fue de 168 g.

En cuanto al peso promedio final de las tres especies de tilapia obtenidos en el presente estudio, el cual tuvo una duración de 150 días, los mayores pesos fueron encontrados para la especie *O. aureus* los machos crecieron 82.44g, y las hembras 61.44 g. Para *O. mossambicus* los machos alcanzaron un peso promedio de 85.74 g y las hembras de 52.51 g en cuanto a *O. niloticus*, los machos alcanzaron 74.28 g y las hembras 42.16 g). De acuerdo a Suresh *et al.*, (2000) y Castro *et al.*, (2004), en condiciones favorables las tilapias pueden ganar de 30 a 40 g en un periodo de 2 a 4 meses, lo que implica una ganancia en peso de 0.5 g al día en condiciones favorables. En este estudio, *O. aureus* obtuvo ganancias de 0.55 g al día lo que permite considerar a esta especie de tilapia con alto potencial productivo en aguas con temperaturas por debajo de las óptimas reportados previamente por Cnaani *et al.*, (2004).

Una de las características por la cual las tilapias son reconocidas como especies de alto potencial acuícola, es su elevada sobrevivencia, la cual generalmente se da entre el 85 y 100% (Rouse *et al.*, 1987; Rouse y Kahn, 1998; García-Pérez *et al.*, 2000; Garduño-Lugo *et al.*, 2003 y 2007). En el presente estudio la sobrevivencia de las tres especies de tilapia fue para *O. aureus* de 81.56%, para *O. mossambicus* presentó un porcentaje de 69.23 % mientras que *O. niloticus* tuvo una sobrevivencia de 67.80%. En estudios anteriores se reportan sobrevivencias para *O. aureus* de 72% en cultivos de crecimiento (Qayyum y Ahmed, 1999). Para la especie *O. mossambicus* se han reportado sobrevivencias de 61-95% (Qayyum., 1995, Garduño-Lugo *et al.*, 2003 y 2007) y Qayyum y Ahmed, 1999 para la especie *O. niloticus* sobrevivencia del 95 y 74% por (Castro Rivera *et al.*, 2004; en cultivos de crecimiento. Los motivos por los cuales se les atribuye la baja sobrevivencia pueden ser diferentes factores como alta densidad de siembra, temperaturas por debajo de las óptimas para el desarrollo de la tilapia.

En cuanto al FCA, en el presente estudio se obtuvieron valores para la tres especies evaluadas se observaron valores menores a los reportados por la Asociación Americana de tilapia Morales, (2003) quien reporta valores de 1.68 a 150 días de cultivo, aun cuando no se reportaron diferencias significativas entre las tres especies. *O. niloticus* presentó, un menor FCA así como también un menor peso promedio. Esto

pudo deberse a que las temperaturas bajo las cuales se desarrolló el bioensayo no fueron las ideales para el crecimiento de esta especie, mientras que para las otras dos especies en estudio se ha reportado que sí son tolerantes a aguas más frías para el desarrollo de su crecimiento para la especie *O. mossambicus*. Shafland y Pestrak (1982) en un estudio de laboratorio comprobaron que esta especie tolera temperaturas superiores a 10 °C, mientras que Cnaani *et al.*, (2004), describen a *O. aureus* como una especie que es más tolerante a las aguas frías para el desarrollo de su crecimiento.

8.3.- Evaluación de variabilidad genética de tres especies de tilapia del género *Oreochromis*.

En el presente trabajo, se optimizó un panel de ocho microsatélites para el estudio de la variabilidad genética de tres variedades (especies) de tilapias del género *Oreochromis*. El panel optimizado permitió observar *locus* muy informativos que permitirían organizar esquemas de selección y mejoramiento genético familiar dado que mostraron buenos niveles de probabilidad de exclusión para pruebas de paternidad y a nivel individual (tabla 9).

Por otros lado, varios estudios se han realizados para estimar la diversidad genética de tilapia (Romana–Eguía *et al.*, 2004; Bhassu *et al.*, 2004, Carleton *et al.*, 2002), sobre todo para el seguimiento de los programas de mejoramiento genético y conservación de patrimonio genético.

Espínola de Souza, (2007) en un estudio donde evaluaron variabilidad y diferenciación genética de dos poblaciones de tilapia *O. niloticus* y *O. niloticus* “Chitralada” ambas cultivadas en estanque de piscicultura en Sao Pablo Brasil obtuvieron heterocigosidades observadas (H_o de 0.471 y H_e de 0.674) similares encontrados en el presente trabajo para la población de la especie *O. aureus* (H_o de 0.464 y H_e de 0.806). Melo *et al.*, (2006) encontró valores más altos H_o de 0.610 en un estudio de cinco *loci* de microsatélites en seis variedades de tilapia (Ceará, chitralada, Israel, Taiwán y Red nilótica) cultivada en la región sudeste de Brasil y en cinco poblaciones de tilapia (*O.*

niloticus – Chitralda, Filipinas, Taiwán y *O. mossambicus* y malasia (He de 0.967 y Ho de 0.650) (Bhassu *et al*,2004) los cuales son similares a los encontrados para la especie *O. niloticus* (Ho de 0.642 y He de 0.784) mientras que para *O. mossambicus* (He de 0.541 y Ho de 0.350) fueron menores en el presente trabajo. Es importante mencionar que valores mayores de (He de 0.702 y Ho de 0.869) se han reportado en poblaciones silvestres de *O. niloticus* capturadas en el río Nilo (Hassanien y Gilbey, 2005), ambos con marcadores microsatélites. La Heterocigosidad representa uno de los mejores estimadores de la diversidad genética, ya que se aplica a cualquier especie independientemente de su estructura reproductiva o genética, lo cual permite hacer comparaciones (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005).

Algunas de las limitaciones deben de ser consideradas al análisis de las heterocigosidad se toman como estimadores de variabilidad debido a que el número y distribución de los alelos son también importantes. Así, una evaluación genética adecuada deben de tener en cuenta también los parámetros para estimar la variabilidad real (Beardmore *et al*, 1997).

Los resultados de este estudio en cuanto al número de alelos, un promedio de 19.79 alelos por *locus*. Son superiores a los 7.8 alelos en promedio que han reportado por Romana-Eguía *et al.*, (2004) con once variedades en un cultivo de *O. niloticu* en Brasil. Bhassu *et al.*, (2004), reportó valores de 11 alelos en un estudio de cinco poblaciones de tilapia en cautiverio. Rutten *et al.*, (2004), a su vez, encontraron valores similares muy cercanos a los nuestros (5 y 8 alelos por locus) en un estudio utilizando marcadores microsatélites, con cuatro líneas de cultivo *O. niloticus*.

Bhassu *et al.*, 2004 reportaron He de 0.966 y Ho de 0.620 con 52 alelos y un número efectivo de alelos de 24 para el *locus* UNH145 en un estudio de cinco poblaciones de tilapia en cautiverio teniendo heterocigosidades superiores (He de 0.819 y Ho de 0.883) con 17 alelos en el presente trabajo. Mientras que para el locus UNH190 (Aplayard *et al.*, 2001) reporta heterocigosidades He de 0.65 Ho de 0.71 para un estudio de diversidad genética en *O. niloticus*. Bhassu *et al.*, (2004) muestra

heterocigosidades H_e de 0.969 y H_o de 0.628 con 50 alelos, teniendo 25 número de alelos efectivos. Mientras que para el presente estudio dicho locus presenta heterocigosidades inferiores H_e de 0.869 y H_o de 0.291 con 24 alelos por locus. UNH160 en el presente estudios se observaron heterocigosidades H_e de 0.824 y H_o de 0.444 con 17 alelos inferiores a los reportados por Bhasu *et al.*, (2004) para este locus, en el cual reportaron una H_e de 0.968 y una de H_o de 0.704 con 50 alelos teniendo 24 alelos efectivos, mientras que Rutten *et al.*, (2004) para esta este locus reporta 6 alelos en un estudio utilizando marcadores microsatélites, con cuatro líneas de cultivo *O. niloticus* en un estudio en Tailandia, mientras que para el locus UNH211, Melo *et al.*, (2006) reporta 11 alelos para este locus en un estudio de 6 variedades de tilapia del género *Oreochromis* utilizando marcadores microsatélites en Brasil. Abdallah y Gilbey, (2005) reportaron heterocigosidades esperadas de 0.864 y observadas de 0.728 con 13 alelos en un estudio de diferenciación y diversidad genética en tilapia del Nilo en contraste con este trabajo se obtuvieron heterocigosidades menores H_e de 0.798 H_o de 0.333 reportando 20 alelos por *locus*. Rutten *et al.*, (2004) en un estudio con cuatro líneas de tilapia *O. niloticus* reporta para este locus 30 alelos. Bhasu *et al.*, (2004), obtuvieron heterocigosidades H_e de 0.968 y H_o de 0.676 presentando 52 alelos para el *locus* UNH155 similarmente, para nuestro trabajo se obtuvieron H_e de 0.897 y H_o de 0.389 con 17 alelos para este *locus*. UNH166 se pudieron observar heterocigosidades H_e de 0.903 y H_o de 0.514 con 24 alelos. Bhasu *et al.*, (2004) reportó para este locus heterocigosidades mayores H_e de 0.965 H_o de 0.672 con 50 alelos y 25 alelos efectivos en un estudio de cinco poblaciones de tilapia en cautiverio en Malasia. Finalmente para el locus UNH207 se obtuvieron en las tres variedades estudiadas H_e de 0.968 y H_o de 0.668, Bhasu *et al.*, (2004), reportaron para este locus H_e de 0.968 y H_o de 0.668 resultados menores comparados con los obtenidos en el presente trabajo. El valor de H_o promedio en las tres poblaciones estudiadas fue de 0.4 por lo que la diversidad de la población es en teoría similar a la encontrada en Brasil.

El análisis de equilibrio Hardy-Weinberg para los *loci* analizados en particular para cada una de las especies, *O. mossambicus*, *O. aureus* y *O. niloticus*, que existe heterocigosidad en el panel utilizado en algunos casos debido al déficit de

heterocigotos. Este déficit puede estar influenciado fuertemente por diferentes factores propiamente por el manejo de las poblaciones en las granjas de origen durante la reproducción. Posiblemente el número de reproductores no es suficiente para mantener las frecuencias alélicas en equilibrio utilizan una proporción de 1 macho para cada 3 hembras aproximadamente. Por otro lado, aunque la selección del tamaño de muestra fueron aleatorios los resultados podrían manejarse discretamente y sugerir un estudio más amplio bajo el supuesto de obtener un muestreo más representativo.

En el caso de un estudio de estructuras genéticas de cinco variedades de tilapia del género *Oreochromis* en cautiverio (Bhassu *et al.*, 2004) utilizando seis de los microsatelites incluidos en este estudio, encontrando una situación de desequilibrio de Hardy – Weinberg. Ellos atribuyen este desequilibrio a que la selección de la muestra tenia poblaciones que ya han pasado por muchas generaciones así como también al tamaño de muestra evaluada. En los resultados del presente estudio, no se tiene evidencia de la intensidad de selección a la que la población de origen de la cual proviene la muestra ha sido sometida, pero si se tiene conocimiento de que extensivamente estas poblaciones son comercializadas desde varias décadas, lo que sugiere que si no existe un esquema de reproducción que considere el control de la selección para evitar cruces consanguíneos, en posteriores generaciones la variabilidad genética dentro de la población tiende a la reducción con lo que el número de heterocigotos disminuye.

Evidencia que apoya lo anterior, es el resultado de coeficiente de diferenciación FIS, considerado como indicador de consanguinidad, en el cual los resultados positivos nos indican una disminución de los valores de heterocigosidad y un valor negativo el aumento de dicho parámetro. En este sentido, Los resultados obtenidos en el presente estudio (tabla 11) son superiores a los descritos por Rutten *et al.*, (2004) quienes reportan un promedio de FIS de 0.041, y de Melo *et al.*, (2006), FIS de 0.048 para poblaciones de *O. niloticus* domesticados. Romana–Eguía *et al.*, (2005) y Gilbey., (2005) describen valores de 0.170 y 0.192 para poblaciones de *O. niloticus* cultivados

como resultados de los programas de mejoramiento, y las poblaciones silvestres capturados en el río Nilo.

En el sentido de las particularidades de las poblaciones estudiadas, puesto que los resultados del presente estudio sugieren una reducción en los indicadores de variabilidad genética, es importante recalcar la necesidad de corroborar estos indicadores con la finalidad de evitar cualquier evento posterior relacionado con la depresión consanguínea que pueda afectar el desempeño productivo, reproducción y supervivencia en cualquiera de las especies estudiadas que son representativas de la región.

8.4.- Tamaño efectivo de la población

El conjunto de datos probados en este trabajo para el cálculo de tamaños efectivo de población mediante información molecular puede considerarse representativo para cada una de las especies. La definición de dos grupos con una estructura genética marcadamente diferente (fig. 12) permite suponer que existe una amplia variabilidad entre las especies pero conservadoramente cada muestra mantiene poca variabilidad interna, lo que nos indica que en particular las tres especies exhiben similar número efectivo de reproductores; sin embargo, levemente se observa un mayor número para la especie *O. mossambicus*. En este sentido, es importante considerar que los cambios observados en las frecuencias alélicas de las tres especies dependen en gran medida de los efectos de la deriva genética consecuentes al muestreo de genes que se produce por la selección intensiva de reproductores de la siguiente generación y que ha sido previamente referenciada como la causa más importante de variabilidad genética en tilapia (Espínola de Souza., 2007).

El tamaño efectivo de población, es un parámetro clave en conservación y genética de poblaciones por su relación inversa con los incrementos de consanguinidad, las pérdidas de variabilidad genética debidas a deriva genética y sus posibilidades de adaptación a cambios ambientales (Duchev *et al.*, 2006; Falconer y McKay, 1996). Sin embargo, en pequeñas poblaciones con poca profundidad de pedigrí el cálculo de éste

parámetro puede resultar impreciso o sesgado independientemente de que se calcule a partir del número de reproductores existentes y varianzas familiares o a partir de diferentes estimas de consanguinidad (Hill, 1979).

El método utilizado en el presente estudio, ofrece la versatilidad de utilización de información molecular, estimando el número efectivo de reproductores que participan aportando variabilidad a la población con base en el desequilibrio de ligamiento de cada uno de los *loci* utilizados. La importancia de este método, recae en la posibilidad de estimar o tener un estimado de este parámetro en ausencia de registros de genealogía, lo que representa un apoyo importante en esquemas de mejoramiento genético que llevan varios años utilizando un esquema desordenado de reproducción.

Finalmente, la posibilidad de tener un panel de microsatélites que ayude a tener esta información de manera conjunta en las tres especies representativas de la región, es un paso fundamental sin precedente en el cultivo de tilapia a nivel nacional y abre una cantidad de posibilidades para los productores que quisieran organizar un esquema de mejoramiento genético, en estanques controlados con la posibilidad de estimación del mérito genético, con la asistencia de esta información genética-molecular.

9.- CONCLUSIONES

Las especies *O. mossambicus* y *O. aureus* son las especies que presentaron un mayor crecimiento bajo las condiciones del presente estudio.

Se establecieron las condiciones técnicas óptimas para la caracterización molecular de tres especies de tilapia, a través de la utilización de marcadores microsatélites.

Se estableció un panel de ocho marcadores microsatélites que es informativo para las tres especies de tilapia del género *Oreochromis*.

El microsatélite UNH155 fue el locus más informativo para la especie *O. mossambicus*, UNH166 para la especie *O. aureus* y UNH190 para la especie *O. niloticus*.

El análisis de frecuencias alélicas, mostró que existe suficiente variabilidad genética en las poblaciones de tilapia estudiadas, sin embargo, la posibilidad de que los cambios fenotípicos observados (talla de los individuos) sean ocasionados por efecto de consanguinidad queda aún por evaluarse.

O. mossambicus fue la especie que presentó un mayor tamaño efectivo de la población con 75 reproductores para esta especie.

El análisis de diferenciación genética, generado por medio del programa GENETIX 4.0, permitió establecer que cada una de las especies bajo estudio son completamente diferentes.

9.- BIBLIOGRAFÍA

- Abdallah, H. G. 2005. Genetic diversity and differentiation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) revealed by DNA microsatellites. *Aquaculture Research*, 36. 1450 – 1457.
- Allendorf, F. W. Ryman N. and Utter F. 1987. Genetics and fishery management: past, present and future. In Fred W. Allendorf and N. Ryman (Eds.). *Genetic Management of Hatchery Stocks*. Univ. Washington Press. Seattle and London. p141 – 159.
- Appleyard, S. A. , Mather, P.B. 2000. Investigation Into the Mode of Inheritance of Allozyme and Random Amplified Polymorphic DNA Markers in Tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Aquac. Res.* 31, 435 – 445.
- Aranguren-Méndez, J. A, J. Jordana. 2001. Utilización de marcadores de ADN (microsatélites) en poblaciones de animales domésticos en peligro de extinción. Asociación Venezolana de Producción Animal. (http://www.avpa.ula.ve/articulos_libres/AVPAconservacion.pdf).
- Arce, M, B. L. 1989. Growth promoting effect of nicotinic acid and nicotinamide in hybrids of tilapia. *Veterinaria México* 20(4): 415-418.
- Atwood, 2003. LA ACUICULTURA BRASILEÑA: SITUACION ACTUAL Y PERSPECTIVAS FUTURAS. *Panorama Acuícola*, Vol. 4 No 5, Jul./Ago.: 24-25.
- Barreda, H. 1999. *AgroBiótica* No. 2 Universidad Veracruzana. Naciones de Acuicultura II. Consulta en línea: <http://members.ncbi.com/XMCM/juanmy/agrobiotica/acua2.htm>
- Beardmore, J. A., Mair, G. C., Lewis, R. I. 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquac. Res.* 28, 829-839.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi L., Raufaste, N., Bonhomme F., 1996. GENETIX 4.04, Logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Brown, T.A. 1999. GENOMES. John Wiley and Sons Inc. p 134 – 141.
- Ballarin, J. D. y Haller R. D. 1982. The intensive culture of tilapia in tanks, raceways and cage. En J. F. Muir y R. J. Roberts (Editors). *Recent advances in aquaculture*. Croom Helm. London, England. 265-355 pp.
- Baroiller, J. F., Desprez, D. C., Tacon P., Borel F., Hoareau M. C., Mélard, C. y Jalabert B. 1997. Influence of environmental and social factors on the reproductive efficiency in three tilapia species, *Oreochromis niloticus*, *O. aureus*, and the red tilapia (red Florida strain). In: K. Fitzsimmons (Editor), *Tilapia Aquaculture: Proceedings from the Fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Ithaca, NY. p. 238-252.

- Bhassu, S., Yusoff K., Panandam M., Embong W.K., Oyyan, S., Tan S.G., 2004. The genetic structure of *Oreochromis* spp. (tilapia) populations in Malaysia as revealed by microsatellite DNA analysis. *Bioch.Gen.* 42, 217-229.
- Beardmore, J. A., Mair G. C., Lewis R. I., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquac. Res.* 28, 829-839.
- Castillo, L.F. 2001. La tilapia roja en Colombia y Ecuador un éxito de la empresa privada. *Panorama Acuícola*, Julio/Agosto del 2000, México D.F. Vol. 5 No. 5: 20-21.
- Castillo, L.F. 2006. Situación del comercio de la tilapia en el año 2000. *Panorama Acuícola*, Marzo/Abril de 2001, México D.F., Vol. 6 No 3: 24-27.
- Castro, R. R., Hernández G. J. y Aguilar B. G. 2004. Evaluación del crecimiento de alevines de tres especies de tilapia (*Oreochromis* sp.) en aguas duras, en la región de la cañada Oaxaca, México. *Revista AquaTic*, 20: 38 – 43.
- Carleton, K. L., Streelman J. T., Lee B.-Y., Garnhart N., Kidd, M., Kocher T. D. 2002., Rapid isolation of CA microsatellites from the tilapia genome *International Society for Animal Genetics*, *Animal Genet.* 33, 140-144.
- Cnaani, A., Zilberman N., Tinmam S., Hulata G. and Ron M. 2004. Genome – scan analysis for quantitative trait loci in an F₂ tilapia hybrid. *Mol Gen Genomics* 272: 162 – 172.
- CONAPESCA. 2010. Anuario estadístico de acuicultura y pesca. México
- Curi A, López RC. 2002. Evaluation of nine microsatellite loci and misidentification paternity frequency in a population of Gyr breed bovine. *Brazilian Journal Veterinarian Research of Animal Science*, São Paulo. 3: 129-135.
- Chakraborty, R., D.N. Stivers, Z. Yixi. 1996. Estimation of mutation rates from parentage exclusion data: applications to STR and VNTR loci. *Mutation Research* 354:41-48.
- Chervinski, 1983. Aquaculture development in Venezuela. Pag: 209-212. In: Proceedings, First South American Aquaculture Congress. Recife, Brazil.
- Choy, L. H. y Fletcher G.L. 2001. Aquaculture. The roll of aquatic biotechnology in aquaculture. 20V. p. 191 -204.
- Duchev, Z., Distl O. y Groeneveld E. 2006. Early warning system for loss of diversity in European livestock breeds. *Archiv. Anim. Breed.*, 49: 521-531.

- Eguiarte, L. E., Souza V. y Aguirre X. 2007. Ecología molecular. Ed. Primera edición Impresora y Encuadernadora Progreso, S.A. de C.V. (IEPSA), México DF. pp. 571.
- Espíndola de Sousa, M. 2007. Tesis Doctoral: CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE REPRODUTORES DE TILÁPIA: ESTRATÉGIAS PARA A MANUTENÇÃO DA VARIABILIDADE. UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO.
- Falconer D.S. y McKay, T.F.C., 1996. Introduction to Quantitative Genetics, Longman, Harlow.
- FAO.2000. Informe de producción de tilapia <http://ola.icmyl.unam.mx/biblio/Tesisresumen.asp?>
- Fitzsimmons, K. 2000. Tilapia aquaculture in Mexico. pp. 171–183 in B.A. Costa-Pierce & J.E. Rakocy (Eds.) Tilapia Aquaculture in the Americas, Vol. 2. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
- Fitzsimmons, K. 2004. Development of new products and markets for the global tilapia trade. In: Proceeding of the Sixth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Manila, Philippines ed. By R. Bolivar, G. Mair y K. Fitzsimmons pp. 624-633. BFAR, Philippines.
- García de León, F. J. 2001. BIOTAM Los marcadores genéticos en el conocimiento y manejo de recursos bióticos. Revisión. Vol. 12 (3): 57 – 80.
- García – Ulloa, 1998. LA ACUACULTURA EN VENEZUELA, UNA ACTIVIDAD CON FUTURO. Panorama Acuícola, Vol. 4 No 6, Sep./Oct.: 32-33.
- García, G. A. 2000. Biotecnología Moderna para el desarrollo de México en el siglo XXI Retos y Oportunidades. Biotecnología Marina y Acuicultura. Concejo Nacional de Ciencias y Tecnología. (Fondo de Cultura Económica). p 215 – 216.
- García-Pérez, A., D. E. Alston y R. Cortés-Maldonado. 2000. Growth, survival, yield, and size distributions of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and tilapia, *Oreochromis niloticus*, in polyculture and monoculture systems in Puerto Rico. Journal of the World Aquaculture Society. 31(3):446–451.
- Garduño - Lugo, M., Granados-Álvarez G, Olvera-Novoa M.A. y Muñoz-Córdova G. 2003. Comparison of growth, fillet yield and proximate composition between Stirling Nile tilapia (wild type) *Oreochromis niloticus* (L.) and red hybrid tilapia Florida red tilapia Stirling red *O. niloticus* males. Aquaculture Research. 34:1023-1028.

- Garduño-Lugo, M., Herrera-Sólis J. R., Ângulo G.J., Muñoz-C. G., y Cruz M. J. 2007. Nutrient composition and sensory evaluation of fillets from wild-type Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) and red hybrid Florida red tilapia x red *O. niloticus*. *Aquaculture Research*. 38:1074-1081.
- Glaubitz, J.C., P. Garnier-Gere, y G. F. Moran. 1999. Assessment of options and research priorities for the practical, sensitive and cost effective monitoring of Montreal Regional Indicator 1.3.a – ‘The amount of genetic diversity within and between populations of representative forest dwelling species’. Forest and Wood Products Research and Development Corporation.
- Griffiths, J .F. A. 2002. *Genética*, McGraw-Hill Interamericana de Española ed. primera edición 553pp.
- Goldstein, D.B. Schlotterer C. 2000. *Microsatellites, Evolution and Applications*. Oxford University Press. p 25.
- Haley, C y Visscher P. Marcadores de AND y pruebas Genéticas en el Mejoramiento de Animales de Granja: Aplicaciones Actuales y Perpectivas Futuras. Consulta en línea: www:roslin.ac.uk/jobs/details/183.html – 22k.
- Hancock, J.M. 1998. Microsatellite and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. En: D.B. Goldstein y C. Schlötterer [eds.]. *Microsatellite evolution and aplicaciones*. Oxford University Press, New York.
- Hassanien, H. A., Gilbey, J. 2005. Genetic diversity and differentiation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) revealed by DNA microsatellites. *Aquac. Res.* 36, 1450 - 1457.
- Hecker, K. H., Roux KH. 1996. High and low annealing temperatures increase both specificity and yield in touchdown and stepdown PCR. *BioTechniques*, 20:478-485.
- Heyen WD, Becver EJ, Da Y, Evert ER, Green C, Bates ERS, Ziegle SJ, Lewin AH. 1997. Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for semiautomated parentage testing. *Animal Genetics*, 28:21-27.
- Hill, W.G., 1979. A note on effective population size with overlapping generations. *Genetics*, 92, 317-322.
- Kalinowski, L.M., Taper T.S., Marshall C.T., 2007. Revising how the computer program cervus accommodates genotyping error increases in paternity assignment. *Mol. Ecol.* 16:1099-1106.
- Lagler, K. F., J. E. Bardach, R. R. Miller y D. R. May-Passino. 1977. *Ichthyology*. 2nd ed. John Wiley y Sons, New York. 506 pp.

- Lee, S. J. Yang H. S., Zhao S. H., Fan B., Yun M., Wang H. S., Li M. H., Liu B., Xiong T. A., Li K. 2004. Genetic diversity analysis of ten Chinese pig populations based on 20 microsatellites. *J. Anim. Sci.* 82: 268-374.
- Lewontin, R.C. y D. Hartl. 1991. Population genetics in forensic DNA typing. *Science* 254:1745-1750.
- Majumdar, K. C. y McAndrew B. J., 1986. Relative DNA content of somatic nuclei and chromosomal studies in three genera, *Tilapia*, *Sarotherodon*, and *Oreochromis* of the tribe Tilapiini (Pisces,Cichlidae). *Genetica* 68: 175–188.
- Marshall, TC. 1998-2001. CERVUS 3.0 General release version-24 april 2001.Copyright.
- Melo, D.C., Oliveira D.A.A., Ribeiro L.P., Teixeira C.S., Sousa A.B., Coelho E.G.A., Crepaldi ,D.V., Teixeira E.A. 2006. Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites. *Arq. Bra. Méd. Vet. Zoot.* 58, 87-93.
- Morales, D. A. 2003. *Biología, Cultivo y Comercialización de tilapia*. Ed. AGT EDITOR México. Primera edición. pp 201.
- McConnell, S.K.J., Beynon C., and Skibinski D.O. F. 2000. Microsatellites marker based genetic linkage maps of *Oreochromis aureus* and *O. niloticus* (Cichlidae): extensive linkage group segment homologies revealed. *Animal Genetics.* 31,214 – 218.
- McAndrew, B. J., 1993. Sex Control in Tilapiines, pp. 87–98 in *Recent Advances in Aquaculture IV*, edited by J. Muir and R. J. Roberts. Blackwell Scientific, Oxford.
- McPherson M, Møller S. 2000. PCR The basics from background to bench. Springer-Verlag New Cork.
- Nei, M. 1973. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations (population structure/genetic variability/heterozygosity/gene differentiation), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* Vol. 70, No. 12, Part I, pp. 3321-3323, December 1973
- Peral, F. L. E. 2003. “Caracterización molecular del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) de granjas de cultivo del estado de Tamaulipas” 2003. Tesis de maestría. Centro de Biotecnología Genómica, Reynosa, Tamaulipas.
- Philippart y Ruwet. 1982. TILAPIAS AS NON-INDIGENOUS SPECIES IN THE AMERICAS: ENVIRONMENTAL, REGULATORY AND LEGAL ISSUES. Pages 18-33. In: B.A. Costa-Pierce and J.E. Rakocy, eds., *Tilapia Aquaculture in the Americas*, Vol. 1, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.

- Povh J. A, Lopera B. N., Ribeiro M P. R., Lupchinski E. J., Gomes. C. P y López S.T. 2008. Monitoreo genético en programas de repoblamiento de peces Mediante marcadores moleculares. Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Maringá, Grupo de Pesquisa PEIXEGEN, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brazil.
- Qayyum S. A. y Ahmed H. Al – H. 1999. Evaluation of three species of tilapia and a hybrid tilapia as culture species in Saudi Arabia.
- Raymond, M. y Rousset F. 1995. GENEPOP version 1.2: populations software of exact test and ecumenicism J. Heredity, 86:248 – 249.
- Riojas VVM, Gómez FJC, Salinas MJA, Montes de Oca LR, Wong GA. 2006. Confiabilidad del análisis de ADN en pruebas de paternidad para bovinos Brahman y Brangus en México. CIENCIA UANL, 9: 41-50.
- Rodríguez, G. H. y García - U. G. 2009. Producción de tilapia en invierno en el norte de Sinaloa. Fundación Produce Sinaloa p 9 - 10.
- Rojo, C. A .H. 2009. Tesis de Maestría: Evaluación de la factibilidad técnica y económica del policultivo de la tilapia roja *Oreochromis* sp. con el langostino *M. americanum*. CIIDIR – SINALOA. IPN.
- Romana-Eguia, M.R.R., Ikedab, M., Basiaoa, Z.U., Taniguchib, N. 2004. Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA. Aquaculture. 236, 131–150.
- Rosas, L.C. y Z. Álvarez. 1993. La acuicultura en Venezuela. Panorama Acuícola, Vol. 4 No 1, Nov. Dic.: 20-21.
- Rosas, M. 1981. Biología Acuática y Piscicultura de México. Serie de Materiales Didácticos de Ciencia y Tecnología del Mar (Secretaría de Educación Pública). P 254-257.
- Rouse, D. B. y B. M. Kahn. 1998. Production of Australian Red Claw *Cherax quadricarinatus* in polyculture with Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) Journal of the World Aquaculture Society. 29:340-344.
- Rouse, D. B., El Naggar G.O. y M. A. Mulla. 1987. Effects of stocking size and density of tilapia and *Macrobrachium rosenbergii* in polyculture. Journal of the World Aquaculture Society. 18(2):57–60

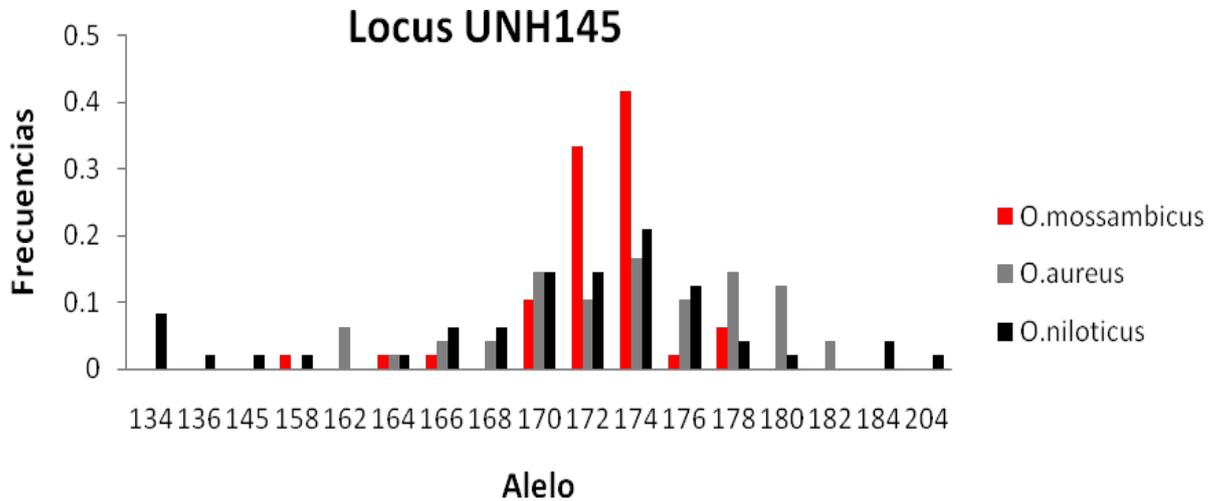
- Rousset, F. 1996. Equilibrium values of measure of populations subdivision for stepwise mutation process. *Genetics* 142, 1357-1362,
- Ruiz V. A. J., López L. M. de J., Peña M. E., Benítez V. C., Bautista C. J. C. y González V. H. Potencial Productivo de una Laguna artificial en el desarrollo del cultivo de tilapia. *Revista electrónica de Veterinaria* 1695-7504 2007 Volumen VIII Número 3.
- Rutten, M. J. M. H., Komen R. M., Deerenberg M. S. y H. Bovenhuis. 2004. Genetic characterization of four strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using microsatellite markers. Fish Culture and Fisheries Group, Animal Breeding and Genetics Group, Wageningen University, Wageningen.
- Salazar MEL, Gonzáles PM, Del Bosque GA, Resendez PD, Barrera SHA, Sifuentes RAM. 2004. Evaluación de marcadores microsatelitales para la identificación de individuo, en dos razas de ganado bovino de carne de la región noreste de México. *Técnica Pecuaria en México*, 42:429-453.
- Shafland, P.L. y J.M. Pestrak. 1982. Lower lethal temperatures for fourteen non-native fishes in Florida. *Environmental Biology of Fishes* 7:139-156.
- Sokal, R. R y Rohlf, F. J. 1981. *Biometry*. W. H. Freeman, New York, 859 pp.
- Suresh, A. V. Últimos avances en el manejo de reproductores de tilapia 1999. *Revista Aquatic* 10. URL: <http://www.Revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h c= 87>.
- Philipart, J.C. y Ruwet J.C. 1982. Ecology and distribution of tilapias. In: *The Biology and Culture of Tilapias*. ICLARM Conference Proceedings, Vol. 7 (ed. by R.S.V. Pullin & R.H. Lowe-McConell), pp. 15-59. International Center for Living Aquatic Resources Management, Bellagio.
- Tave, D. y Smitherman R.O., 1988 Predicted response to selection for early growth in *Tilapia nilotica*. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 117: 169–171. 109: 439–445.
- Teichert-Coddington, D. R., y R. O. Smitherman, 1988. Lack of response by *Tilapia nilotica* to mass selection for rapid early Trans. *Amer. Fish. Soc.* 117: 297–300.

- Trewavas, E. 1983. A review of the tilapine fish of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* y *Danakilia*. London British Museum (Natural History). 583 p.
- Waples, R. y Do C. 2008. LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources*. 8: 753-756.
- Wicki, G.A. y N. Gromenida. 1998. Estudio de desarrollo y producción de Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Revista AquaTIC*, nº 2, Febrero 1998. [Disponible el 29/09/2007 en [URL:http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=26](http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=26)].
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28: 114-138. En: Assessment of options and research priorities for the practical, sensitive and cost effective monitoring of Montreal Regional Indicator 1.3.a – ‘The amount of genetic diversity within and between populations of representative forest dwelling species’. Glaubitz, J.C., P. Garnier-Gere, y G. F. Moran. 1999. Forest and Wood Products Research and Development Corporation.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.

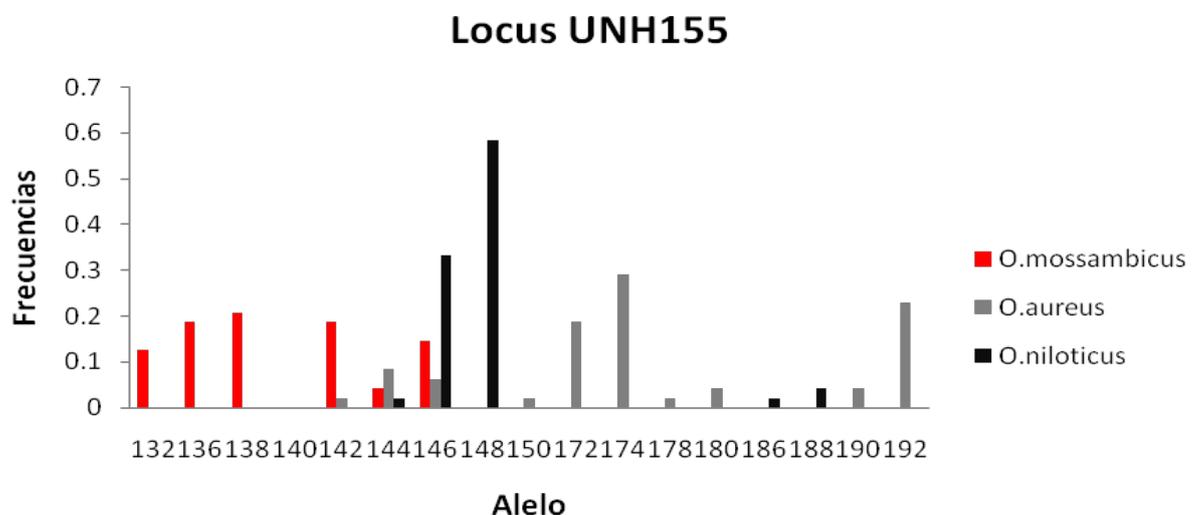
10.-ANEXOS

(Anexos)

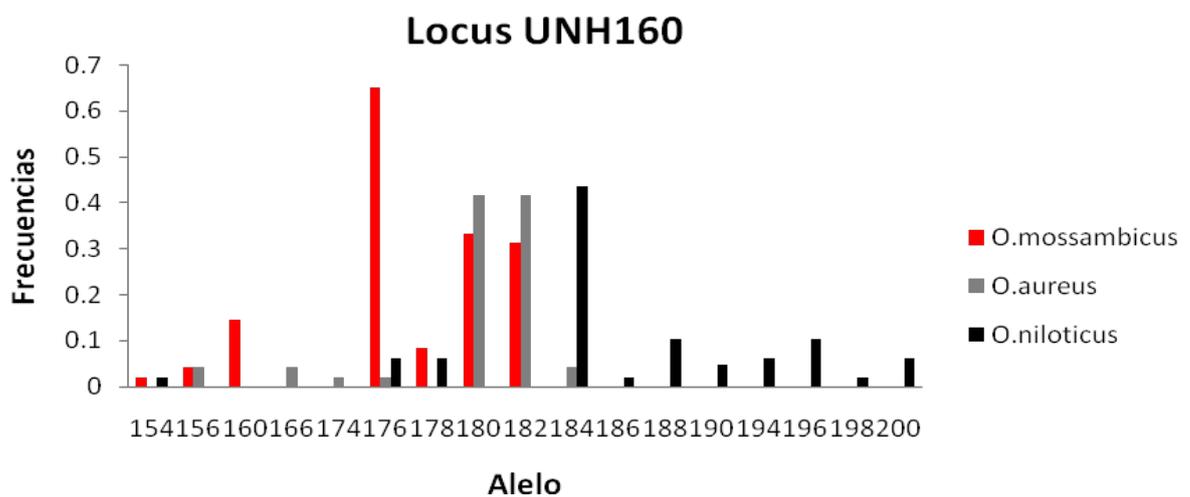
Gráficas de frecuencias alélicas obtenidas para cada locus en las tres especies de tilapia del género *Oreochromis*.



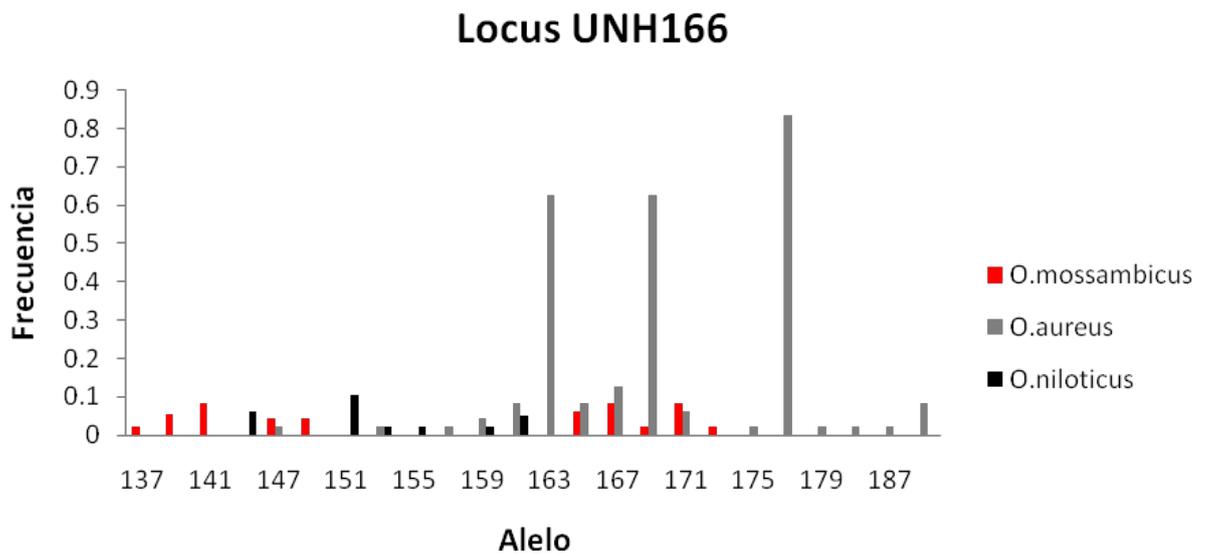
Marcador UNH145. Gráficas de la relación de frecuencias de cada uno de los alelos observados en el locus UNH145 en cada una de las poblaciones de tilapia del género *Oreochromis*. Cada población se representa con un color diferente.



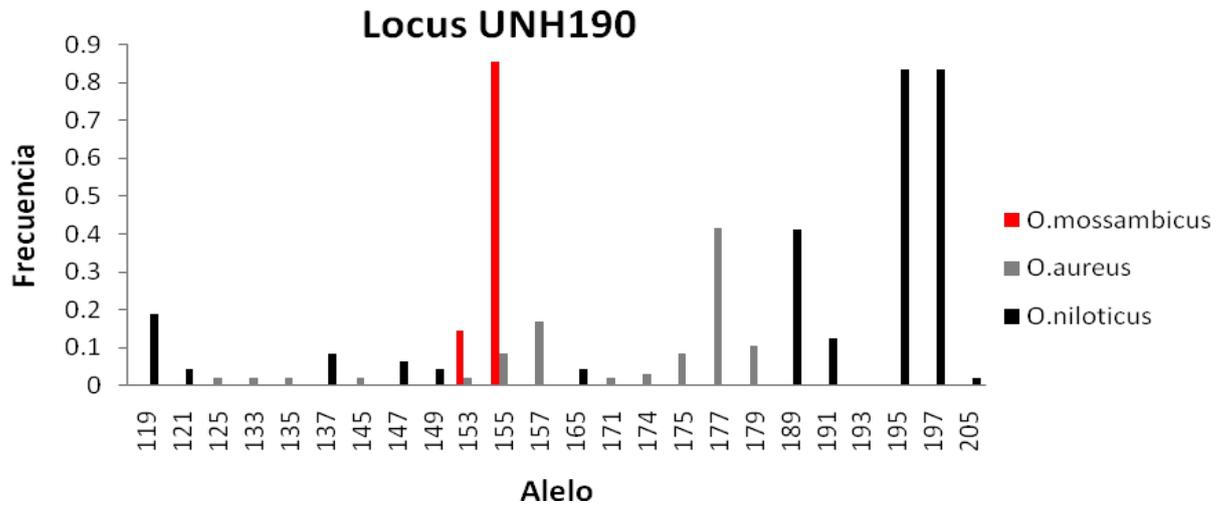
Marcador UNH155. Gráficas de la relación de frecuencias de cada uno de los alelos observados en el locus UNH155 en cada una de las poblaciones de tilapia del género *Oreochromis*. Cada población se representa con un color diferente.



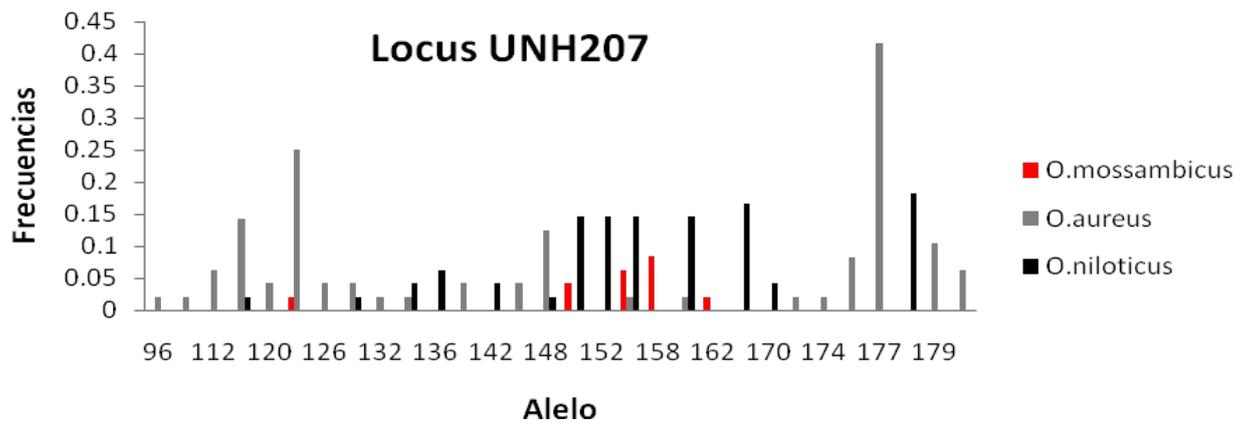
Marcador UNH160. Gráficas de la relación de frecuencias de cada uno de los alelos observados en el locus UNH160 en cada una de las poblaciones de tilapia del género *Oreochromis*. Cada población se representa con un color diferente.



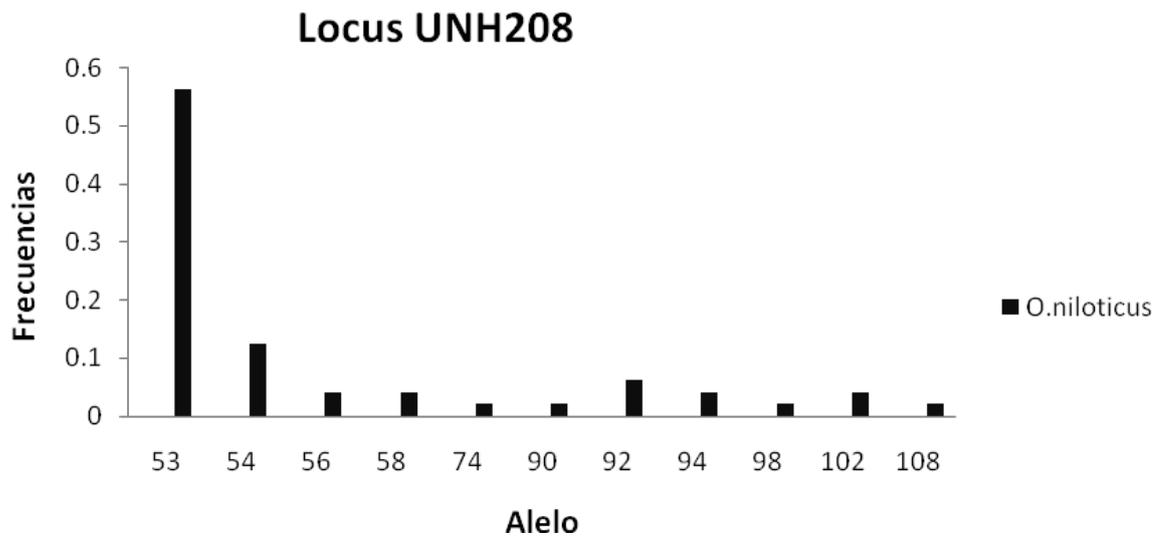
Marcador UNH166. Gráficas de la relación de frecuencias de cada uno de los alelos observados en el locus UNH166 en cada una de las poblaciones de tilapia del género *Oreochromis*. Cada población se representa con un color diferente.



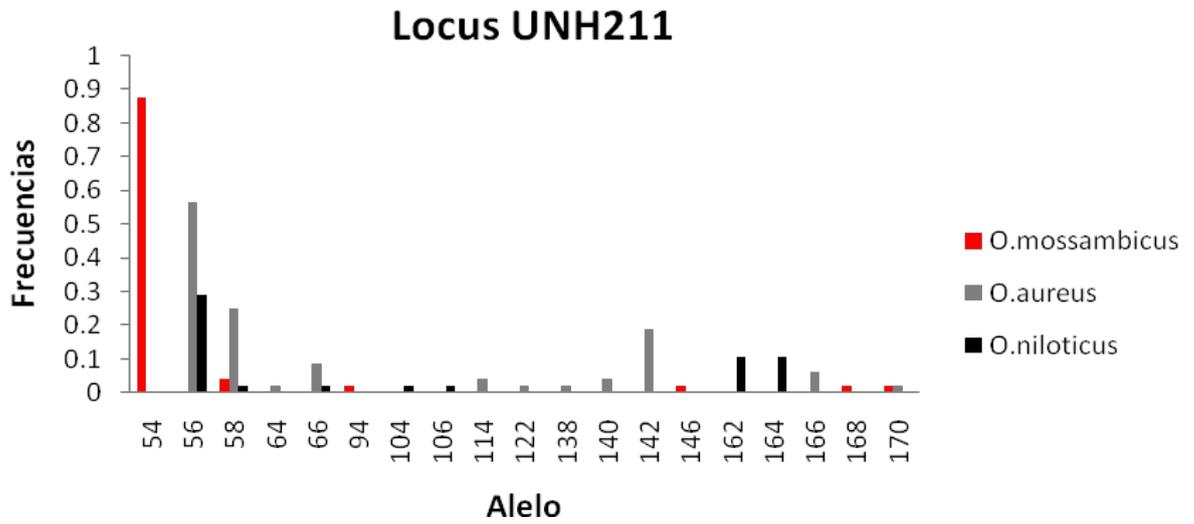
Marcador UNH190. Gráficas de la relación de frecuencias de cada uno de los alelos observados en el locus UNH190 en cada una de las poblaciones de tilapia del género *Oreochromis*. Cada población se representa con un color diferente.



Marcador UNH207. Gráficas de la relación de frecuencias de cada uno de los alelos observados en el locus UNH207 en cada una de las poblaciones de tilapia del género *Oreochromis*. Cada población se representa con un color diferente.



Marcador UNH208. Gráficas de la relación de frecuencias de cada uno de los alelos observados en el locus UNH208 en cada una de las poblaciones de tilapia del género *Oreochromis*. Cada población se representa con un color diferente.



Marcador UNH211. Gráficas de la relación de frecuencias de cada uno de los alelos observados en el locus UNH211 en cada una de las poblaciones de tilapia del género *Oreochromis*. Cada población se representa con un color diferente.