

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

Relación entre las corridas de homocigosidad y la eficiencia reproductiva en camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus* vannamei.

QUE PRESENTA EL ALUMNO

David Lozada Salas

Matrícula 2173027679

ASESORES:

Dr. Gabriel R. Campos Montes NE 34761

(Vi Caroli)

M.C. Brenda Berenice Hurtado Sandoval CP 11934612

Brenda Hurrado

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	3
Justificación	4
OBJETIVOS	5
Objetivo general	5
Objetivo específico	5
ANTECEDENTES	6
La reproducción del camarón	6
Consanguinidad en los caracteres reproductivos de Litopenaeus vannamei	6
Corridas de Homocigosidad	7
Ejemplos del uso de ROH en especies productivas	8
Estimación de la consanguinidad por pedigrí comparada con las corridas de h	omocigosidad9
METODOLOGÍA	10
RESULTADOS	13
DISCUSIÓN	18
Variables reproductivas	18
Estimadores de consanguinidad	18
Análisis de correlación entre indicadores de consanguinidad	19
Relación entre indicadores de consanguinidad y variables reproductivas	20
Observaciones	21
CONCLUSIÓN	21
REFERENCIAS	22

Resumen:

El objetivo de este estudio fue evaluar la relación y calcular los efectos entre las corridas de homocigocidad con el Total de huevos (TH), Numero de Huevos (NN) y Porcentaje de eclosión (PE) en seis generaciones de pedigrí y dos generaciones de ROH para poblaciones de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Se realizó un análisis de correlación de Pearson un análisis de regresión lineal entre los datos de ROH y los datos de pedigrí para los años 2021 y 2022. En los años 2017 y 2022 se presentaron los años con mayor consanguinidad calculada por pedigrí (2017: Fped=0.0217, 2022: Fped=0.0228) y los valores calculados con ROH fueron FROH10=12.89, FROH20=0.878 para 2021 y FROH 10=31.923, FROH 20=2.898 para 2022. Los años con mayor cantidad de atributos reproductivos (TH, NN, PE) fueron los años 2020 y 2021 con un TH=156.99, NN=61.61, PE=37.91 y TH=159.79, NN=56.59, PE=33.06 respectivamente, No se encontró relación entre los atributos reproductivos y la consanguinidad medida a partir de FROH ni de Fped. Aunque el estudio del efecto entre estos factores sea limitado en crustáceos, se considera prudente mantener al mínimo la cantidad de consanguinidad dentro de las poblaciones como precaución.

INTRODUCCIÓN

A través de los años la producción camaronícola en México se ha desarrollado para ser una de las producciones acuícolas más grandes del país. En 2017 se tenía registrado que, de las 404 mil toneladas de biomasa acuática producida, alrededor de 150 mil fue de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). La producción del camarón blanco es importante a nivel internacional, los principales productores son: China, Tailandia, Indonesia, Brasil, Ecuador, México y Venezuela (CONAPESCA, 2017).

Una alternativa para mejorar la productividad del sector camaronícola ha sido la implementación de programa de selección. Un efecto secundario de la selección es la reducción de variabilidad, esta surge porque se asegura que solo la porción seleccionada de organismos aporte la carga genética a las siguientes generaciones, incrementando la probabilidad que la descendencia esté emparentada, lo que incrementa la homocigosis y por lo tanto la consanguinidad. Es importante saber el estado de la consanguinidad en la población, principalmente por el efecto detrimental sobre los caracteres productivos de los organismos, lo que se conoce como depresión endogámica.

Se ha demostrado que cuando aumenta la consanguinidad, la tasa de crecimiento disminuye, así como la supervivencia frente a patógenos (Moss et al., 2007; Luo et al., 2014).

Aunque los atributos en los que usualmente se enfoca el mejoramiento genético en camarón son el crecimiento y la supervivencia, existen estudios que comprueban que la consanguinidad afecta caracteres reproductivos de *L. vannamei* al igual que a otros peneidos (Moss et al., 2008). Los caracteres afectados en *L. vannamei* incluyen la tasa de fertilización, el porcentaje de eclosión y el número de nauplios (de los Ríos-Pérez et al., 2017).

Para controlar la consanguinidad y facilitar los planes de apareamiento, el pedigrí es útil. Esto porque a partir de él se puede predecir la magnitud de la consanguinidad de cualquier apareamiento dentro de una población. Sin embargo, el uso del pedigrí tiene deficiencias, por ejemplo, asume que los individuos fundadores no estén emparentados, o bien el no detectar una inadecuada identificación de los organismos, lo que puede resultar en asignar paternidades equivocadas (Peripolli et al., 2017). Una opción más eficiente para estimar la consanguinidad es el uso de segmentos con corridas de homocigocidad conocidas como ROH (por las siglas en ingles de Runs of homozygosity). Este método utiliza los segmentos homocigotos en el genoma de un organismo para cuantificar la desviación de su homocigocidad con respecto a la población. Además, toma en cuenta el valor absoluto de homocigosidad y no requiere que exista un registro detallado de la genealogía. Es por estas razones que el uso de ROH es una alternativa libre del efecto en los errores de asignación de parentescos en la población o de los parentescos desconocidos (Peripolli et al., 2017).

Justificación

Los programas de selección en camaronicultura requieren de un monitoreo constante de los niveles de consanguinidad con fin de detectar posibles efectos deletéreos. Este monitoreo suele hacerse a partir del uso del pedigrí, pero este sistema presenta inconvenientes como los errores de asignación de paternidades o la existencia de parentescos desconocidos, lo que se puede reflejar en falta de precisión en su estimación y, por lo tanto, en el análisis de sus efectos (Curik et al., 2014). Las corridas de homocigosidad son una opción para cuantificar la consanguinidad, que no presenta las adversidades existentes en el uso del pedigrí, por lo que es importante considerarla

como alternativa a la hora de monitorear los efectos de la consanguinidad sobre los atributos reproductivos de *L. vannamei*.

OBJETIVOS

Objetivo general

-Evaluar la relación entre las corridas de homocigocidad con el número de huevos totales, el porcentaje de eclosión y el número de nauplios en el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*.

Objetivo específico

-Calcular los efectos de la consanguinidad, estimada por pedigrí, sobre el número de huevos totales, el porcentaje de eclosión y el número de nauplios en el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*.

ANTECEDENTES

La reproducción del camarón

La reproducción de *Litopenaeus vannamei* de manera general consta de dos fases. La primera consiste en la implantación del espermatóforo en la hembra por parte del macho. La segunda fase es cuando la hembra expulsa los huevos sin fertilizar a través del télico, estos huevos serán fertilizados externamente por el espermatóforo que fue implantado previamente. Una vez que los huevos eclosionan comienza el desarrollo larval, este consiste en cinco fases de nauplio, tres de protozoea, tres de mysis y una de postlarva. Después de estas fases, el organismo ha llegado al final de su madurez. Para llevar a cabo este proceso es importante remarcar que existen factores críticos que están relacionados directamente con la eficiencia reproductiva de estos organismos como: número de huevos, número de células de esperma, número de nauplios, peso corporal entre otros (Chan y T. Y. 1998; FAO, 2009; Peralta et al., 2013; Peralta et al., 2019).

Consanguinidad en los caracteres reproductivos de Litopenaeus vannamei

La consanguinidad de un individuo se define como la probabilidad de que el par de alelos de los gametos que lo generaron sean idénticos a causa de que los progenitores compartan ascendencia. Generalmente se utiliza el método basado en pedigrí, lo cual requiere del mapeo genealógico de la población. Cuando este registro existe, se pueden hacer cálculos para cuantificar la consanguinidad, para esto se utilizan los coeficientes de emparentamiento para poder planear las cruzas con la menor consanguinidad posible. Una clara desventaja que presenta este método es el de la falta de información, la cual puede ser por error de manejo o porque se asume que la población fundadora no estaba emparentada. No importa qué enfoque ni qué fórmula se utilice, nunca se podrá mitigar el efecto de la falta de datos en las estimaciones (Cassell et al., 2003; Falconer 1970).

La información que existe sobre los efectos de la consanguinidad en los atributos reproductivos es limitada, sin embargo, existen estudios que indican una asociación negativa entre la consanguinidad y la calidad de los atributos reproductivos, tanto en *L. vannamei* como en otras especies utilizadas en producción. Por ejemplo, en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), se registraron casos de disminución en los huevos por desove, aunque el tamaño del huevo y otros atributos no fueron afectados. Por otro lado, en el caso de la producción equina se encontraron casos en los que organismos reproductores que presentaban alta consanguinidad perdían la

fecundidad en promedio 1 a 2 años antes que su contraparte no consanguínea (Cothran et al., 1984; Su et al., 1995; de los Ríos-Pérez et al., 2017).

Corridas de Homocigosidad

La alternativa que existe para el uso del pedigrí son las corridas de homocigocidad (ROH), estas corridas son segmentos homocigotos continuos, los cuales son heredados por los progenitores del organismo en cuestión. Este método requiere el genotipado a partir de SNP del individuo y a ubicación de ellos en el genoma, con el cual se utilizan segmentos conocidos dentro del genoma para comparar la homocigocidad total que existe en los individuos. Las ventajas que existen con el uso de las ROH provienen principalmente de que no se requiere un registro previo de la población de interés, toda la información puede ser obtenida de manera contemporánea aparte de poder analizar relaciones de ascendencia y descendencia genética (Scienski et al., 2019; Ferenčaković et al., 2013).

La manera en la que las corridas de homocigocidad pueden cuantificar la consanguinidad es mediante la división de todas las ROH del genoma entre la longitud especificada del genoma autosómico cubierto por SNPs. El proceso para identificar estos valores consiste de tres pasos: Primero se requiere definir el tamaño de una ventana de rastreo en SNPs y el número máximo de SNPs heterocigotos permitidos, esta ventana rastrea en el genoma del individuo y evalúa la proporción de SNPs homocigotos que aparecen dentro de esta. En el segundo paso, segmentos de SNPs son identificados en todo el genoma mediante un umbral de sensibilidad. El tercer paso es definir segmentos homocigotos de menor tamaño al estipulado que podrían identificarse como ROH, y con esto definir los segmentos de ROH finales (Meyermans et al., 2020).

La metodología presentada por Meyermans et al. (2020) acerca del software Plink consiste de tres pasos: el primer paso establece una ventana de escaneo por un número predeterminado de SNP (-homozyg-window-snp) y con un máximo número de SNP heterocigotos (--homozyg-window-het), esta ventana escanea el genoma del individuo y evalúa para cada uno de los SNP la proporción que este aparece en una ventana homocigota. El segundo paso, segmentos de SNP son identificados en todo el genoma mediante un umbral para estos valores por SNP (--homozyg-window-threshold). Para un tamaño de ventana de 100 SNP y un umbral de 0.05, un SNP tiene

que aparecer al menos 5 veces antes de ser identificado como parte del segmento. El tercer paso es añadir limitantes a estos segmentos homocigotos para identificar el segmento de ROH final. Se verifica el máximo intervalo entre dos SNP (--homozyg-gap), al igual que el máximo número de SNP heterocigotos permitidos en el segmento final de ROH (--homozyg-het). Después, los segmentos de ROH que no cumplieron estos dos requerimientos son separados y reevaluados con el fin de intentar encontrar segmentos de ROH de menor tamaño que la ventana de escaneo. Con todo esto se evalúa la densidad de SNP mínima (kb/SNP) por segmento evaluado (--homozyg-density) al igual que la longitud y número mínimo de SNPs (--homozyg-kb y --homozyg-snp) todos los segmentos que no cumplan estas condiciones son removidas.

Ejemplos del uso de ROH en especies productivas

Existen estudios en donde se ha utilizado ROH para el estudio de caracteres reproductivos y productivos: En el caso de las vacas Holstein se encontró mediante la utilización de las ROH, que existía una correlación positiva entre los atributos reproductivos y la consanguinidad. Las ROH también se han usado para la optimización de las estrategias de apareamiento en ganado lechero, ya que este método no excluye casos de similaridad genética entre individuos a pesar de pertenecer a familias distintas. En acuacultura, el ROH ha sido utilizado para medir la magnitud de la deriva genética resultante de las poblaciones domésticas con respecto a las poblaciones silvestres de lenguado *Scophthalmus maximus*. Lo anterior con el fin de observar el efecto que tiene la producción sobre el incremento de la consanguinidad. Otro uso que tienen las ROH es el de determinar asociaciones entre genotipo y fenotipo en animales productores, se tiene registro de la detección de regiones genéticas asociadas con la predisposición a enfermedades de tipo infecciosas, metabólicas y reproductivas (Biscarini et al., 2014; Kim et al., 2015; Scienski et al., 2019; Aramburu et al., 2020).

El factor de la precisión en cuanto al cálculo de la consanguinidad es de vital importancia por la posible influencia negativa que esta tiene sobre los atributos reproductivos, si estos atributos se ven perjudicados, la eficiencia de la producción y la viabilidad económica lo harán de igual manera. Para esto se plantea el uso de las ROH para poder estimar con mayor precisión la consanguinidad y los efectos que esta puede tener sobre los atributos reproductivos de una

población. Adicionalmente estas estimaciones pueden servir como un precedente para poder aumentar el control sobre la consanguinidad en la industria productora (Curik et al., 2014).

Estimación de la consanguinidad por pedigrí comparada con las corridas de homocigosidad Actualmente el uso del pedigrí es extenso y presenta una gran diversidad de usos dentro de la producción animal. Es bien sabido que el pedigrí como método de estimación de la consanguinidad presenta desventajas, principalmente el asumir que la población fundadora no presenta emparentamiento, lo que a la larga puede generar un sesgo en los cálculos de consanguinidad en una población. Es por estas razones que el uso de las corridas de homocigosidad supondría un reemplazo como la metodología para calcular consanguinidad, esto es debido a que este método es altamente preciso y versátil porque utiliza información genética de la generación actual y no requiere de un registro genealógico (Curik et al., 2014).

METODOLOGÍA

El estudio se realizó con datos del núcleo genético de camarón blanco del Pacífico de la empresa Maricultura del Pacífico de los ciclos 2020 y 2021. La población está ubicada en el municipio de Los Pozos, en Sinaloa.

El análisis de pedigrí se llevó a cabo con datos recopilados de 6 generaciones de camarones las cuales abarcan los años 2016 a 2022. Estos organismos son pertenecientes a una línea genérica la cual fue fundada en 1995 a partir de camarones silvestres de México, Venezuela, Colombia y Estados Unidos, de 2002 a 2005, estos organismos fueron seleccionados a partir de valores genéticos familiares para peso a la cosecha, supervivencia en estanque comercial y resistencia al virus del síndrome de mancha blanca para un total de entre 150-300 familias de camarones las cuales presentarían un nivel de consanguinidad bajo gracias a la gran variedad de poblaciones de las cuales surgieron, la segunda fase fue basada en un índice de selección que consideraba peso y supervivencia en condiciones comerciales, para esto fueron seleccionadas 80 de 150 familias.

Debido a un brote de necrosis aguda del hepatopáncreas en el año 2013 fue necesario un cambio en el enfoque de la selección, para esto se generó la línea de resistencia, a partir de organismos de Ecuador, Panamá y los Estados Unidos de América. Esta población fue involucrada en un plan de mejoramiento el cual se llevó a cabo durante varias generaciones, los índices de selección utilizados fueron principalmente resistencia al síndrome de mancha blanca y necrosis aguda del hepatopáncreas.

En los años 2014 a 2017 las líneas genéticas fueron incluidas en un programa de evaluación de cruzamiento entre la línea de crecimiento y la especializada en resistencia de mancha blanca y necrosis del hepatopáncreas, supervivencia y crecimiento.

Para obtener las variables de la eficiencia reproductiva se consideró la información de desove y apareamientos de 6 generaciones, realizados por inseminación artificial. Los desoves fueron concentrados en recipientes con 15 litros de agua y entre 16 y 18 horas después de la inseminación, se realizó el conteo de nauplios y huevos a partir de la suma de los conteos de tres muestras de 1

ml extraídos con una pipeta posicionada perpendicular a la superficie del agua y multiplicado por 5000. El número total de huevos (NTH) se calculó con la suma de los huevos sin eclosionar y el número de nauplios (NN), el porcentaje de eclosión (PE) fue calculado como: número de nauplios/el total de huevos x 100. No fue posible recuperar los registros de campo de los parámetros reproductivos del ciclo 2018 por lo que fueron excluidos de los análisis, aunque los registros genealógicos de 2018 si fue posible recuperarlos.

De cada hembra de los ciclos productivos 2021 y 2022 se obtuvo el primer par de pleópodos los cuales fueron conservados en micro tubos con 96% etanol por 72 horas, los cuales fueron retirados para ser transferidos al Centro de Tecnologías de Acuicultura (CAT) para ser genotipados, usando el AquaArray HD (50k) vannamei® panel desarrollado por Neogen® (Nebraska, USA), el cual contiene 50,811 SNPs. El control de calidad de los genotipos fue llevado a cabo en el software Plink ver 1.9 (Purcell et al., 2007), de acuerdo con los siguientes criterios de exclusión: Tasa de llamado por snp de 80%, frecuencia de alelo menor a 0.01, equilibrio de Hardy-Weinberg con valor de P < 1 x 10⁻⁸ y exclusión de camarones con tasa de llamado menor a 75%.

La consanguinidad por pedigrí se llevó a cabo en el software ENDOGV4.8, el cual estima el incremento de F como:

$$\Delta F = (Ft - Ft-1)/(1-Ft-1)$$

El método utilizado por el programa Endog para computar los coeficientes de consanguinidad es el de la descomposición de la matriz de relación genética aditiva, propuesta por Henderson (1976):

Donde L es la matriz triangular la cual contiene la fracción de los genes provenientes de sus ancestros y D es la matriz diagonal la cual contiene la variación genética aditiva dentro de la familia.

La consanguinidad por ROH (F_{ROH}) se estimó como:

$F_{ROH} = L_{ROH}/L_{AUTO}$

Donde L_{ROH} es la longitud total de todos las ROH del genoma de un individuo, mientras que L_{AUTO} se refiere a la longitud especificada del genoma autosómico cubierto por SNPs. Los parámetros utilizados para la detención de las corridas de homocigocidad fueron: --homozyg-kb 300 --homozyg-window-snp 20 --homozyg-snp 20 --homozyg-window-het 1 --homozyg-density 50.

Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre los datos de ROH de 10 y 20 SNPs y los datos de pedigrí para los años 2021 y 2022. Posteriormente se realizó un análisis de regresión lineal donde las estimaciones de F_{ROH} y F_{PED} fungieron como la variable explicativa y las variables reproductivas serán la variable de respuesta.

RESULTADOS

Las estadísticas descriptivas de las variables reproductivas se muestran en el cuadro 1. El número total de huevos observados incrementó a lo largo de los años teniendo su punto más bajo en el año 2016 (85,000 huevos), los valores máximos se presentaron en 2021 (109,000 huevos). En el caso del Número de Nauplios y Porcentaje de Eclosión el año 2020 tuvo los valores más altos (61,000 nauplios y 37.9% de eclosión) y los mínimos en 2016 (28,500 nauplios y 26.9% de eclosión).

Cuadro 1. Estadística descriptiva de número de huevos totales, número de nauplios I y porcentaje

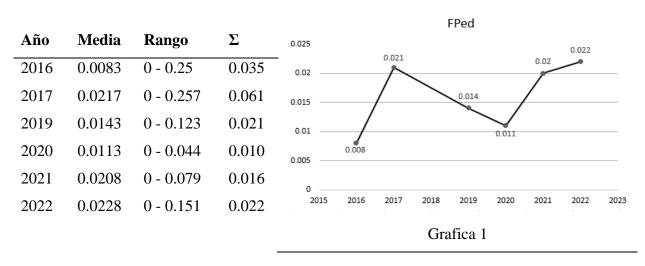
de eclosión de los ciclos 2016 a 2022 de Núcleo genético de Litopenaeus vannamei.

Año N	Total de huevos		Número de Nauplio I		Porcentaje de eclosión		
	IN	Promedio	Rango	Promedio	Rango	Promedio	Rango
2016	355	85.04 ($\sigma = 60.85$)	0-270	28.59 ($\sigma = 34.17$)	0-160	26.96 ($\sigma = 28.5$)	2.38-100
2017	307	122.9 $(\sigma = 88.59)$	0-480	49.11 $(\sigma = 55.66)$	0-275	30.26 ($\sigma = 29.08$)	0-100
2019	300	94.74 $(\sigma = 88.07)$	0-415	25.02 ($\sigma = 42.57$)	0-250	16.19 $(\sigma = 26.3)$	0-100
2020	298	156.99 ($\sigma = 59.77$	0-335	61.61 ($\sigma = 50.63$)	0-240	37.91 ($\sigma = 28.42$)	0-100
2021	412	159.79 ($\sigma = 69.26$)	0-345	56.59 ($\sigma = 53.32$)	0-340	33.06 ($\sigma = 26.98$)	0-100
2022	426	109.38 ($\sigma = 42.07$)	0-233	36.73 ($\sigma = 38.19$)	0-170	30.32 ($\sigma = 28.28$)	0-94.73

Los valores de Número total de huevos y Número de Nauplio están expresados en miles. Desviación estándar entre paréntesis.

Los datos de consanguinidad calculada por método de pedigrí se muestran en el cuadro 2. Los valores de consanguinidad tuvieron su valor más bajo en 2016 y el más alto en 2022, aunque el incremento de los valores no fue constante, se puede notar que con el paso de los años los valores de consanguinidad parecen incrementar (Gráfica 1).

Cuadro 2. Estadística descriptiva de coeficiente de consanguinidad estimada con pedigrí de los ciclos 2016 a 2022 de Núcleo genético de *Litopenaeus vannamei*.



En los datos de consanguinidad estimada a partir de las ROH (cuadro 3). Los promedios mostraron un incremento entre los años 2021 y 2022 al igual que lo observado en el cálculo de Fped.

Cuadro 3. Estadística descriptiva de coeficiente de consanguinidad estimada con pedigrí y por corridas de homocigosidad de los ciclos 2021y 2022 de Núcleo genético de *Litopenaeus vannamei*

Año	FPed		RO	H 10	ROH 20	
	Promedio	Rango	Promedio	Rango	Promedio	Rango
2021	0.0208	0-0.079	12.890	9.45-18.22	0.878	0.19-2.73
	$(\sigma = 0.016)$	0-0.079	$(\sigma = 1.68)$		$(\sigma=0.45)$	
2022	0.0228	0.015	31.923	24.31-41.95	2.898	0.73-6.46
	$(\sigma = 0.022)$	0-0.15	$(\sigma = 3.09)$		$(\sigma=1.05)$	

Desviación estándar entre paréntesis.

Se estimaron las correlaciones entre Fped y ROH de 10 y 20 SNPs en los años 2021 y 2022 (Cuadro 4), las correlaciones se comportaron de manera consistente entre años. En el caso del pedigrí con ambos ROH, las correlaciones fueron bajas, alrededor de 0.30 (P<0.0001) mientras que entre las ROH fueron mayores a 0.70 (P<0.0001)

Cuadro 4. Correlaciones entre estimadores de consanguinidad de los ciclos 2021 y 2022 de Núcleo genético de *Litopenaeus vannamei*

. ~		2021			2022	
Año	ROH 10	ROH 20	FPed	ROH 10	ROH 20	FPed
ROH 10		0.717	0.367	1	0.860	0.297
ROH 20			0.320			0.281

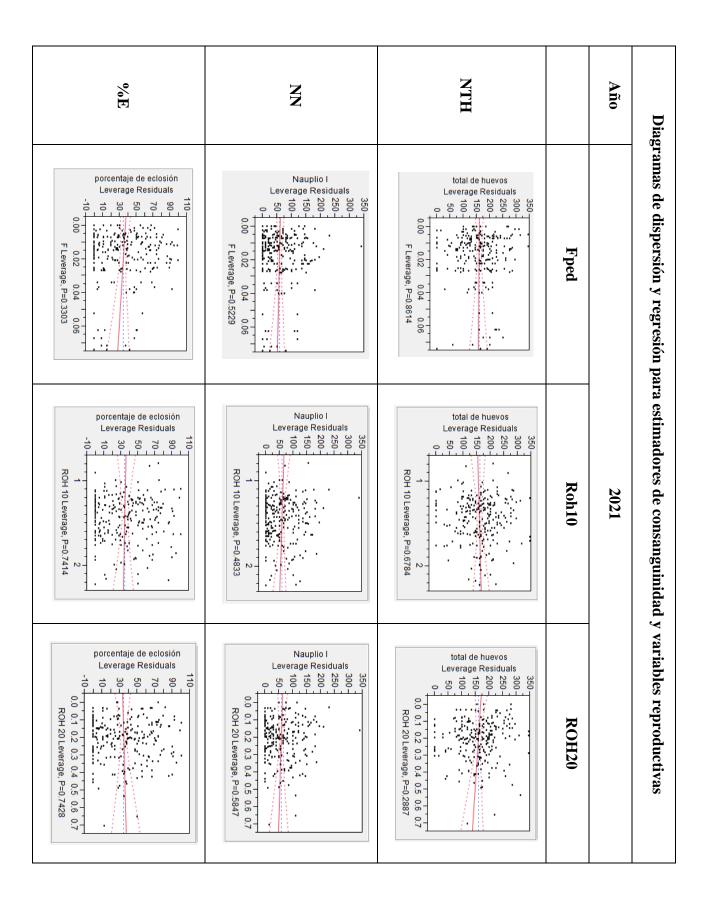
Correlación de Pearson entre Fped y ROH con ventanas de 10 y 20 SNPs

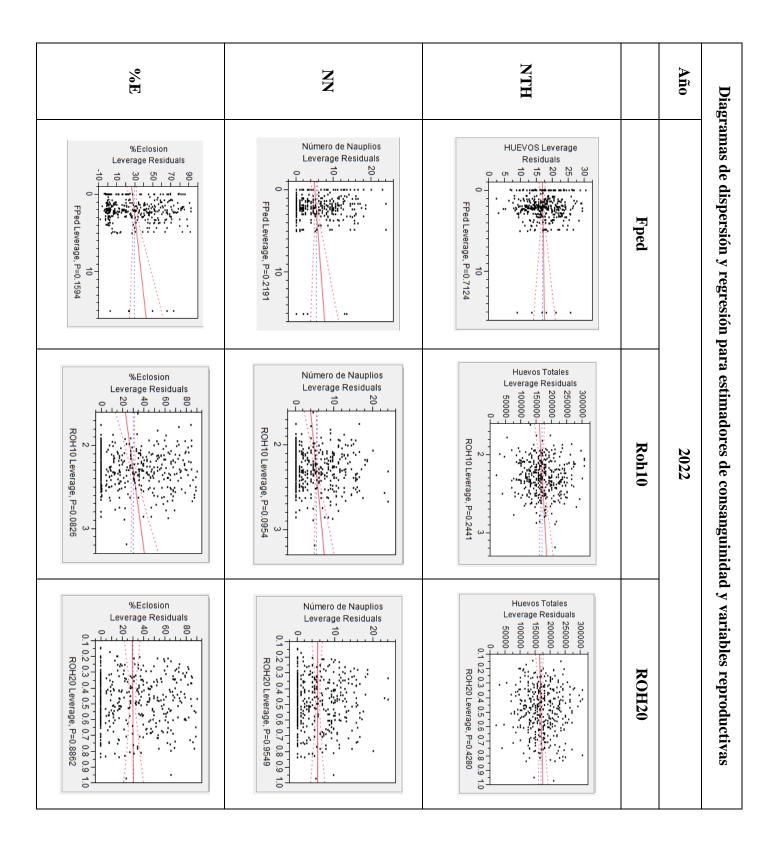
Los valores de los coeficientes de regresión se muestran en los cuadros 5 y 6. Con respecto a los coeficientes de regresión de Fped del año 2021 muestran una tendencia negativa para las tres variables, aunque no fueron significativas (p>0.05), en tanto que los coeficientes de regresión de Fped para las tres variables reproductivas del año 2022 tuvieron una tendencia positiva, sin embargo, tampoco fueron significativas (p>0.05). Los coeficientes de regresión para FROH10 y FROH20 tampoco fueron significativos en ninguno de los casos (p>0.05) y las gráficas de tendencia se presentan en los cuadros 7 y 8.

Cuadro 5. Coeficiente de regresión entre estimadores de consanguinidad y parámetros de eficiencia reproductiva de los ciclos 2021 y 2022 de Núcleo genético de *Litopenaeus vannamei*.

2021	Ped	ROH 10	ROH 20	
2021	$\mathbf{b_1} \pm \mathbf{e.e.}$	$\mathbf{b}_1 \pm \mathbf{e.e.}$	$\mathbf{b}_1 \pm \mathbf{e.e.}$	
Total de huevos	-50.72 ± 290.2	7.09 ± 17.09	-40.7 ± 39.3	
Porcentaje de eclosión	-112.3 ± 115.1	-2.24 ± 6.79	5.01 ± 15.27	
Numero de Nauplios	-147.7 ± 230.9	-9.55 ± 13.6	-16.7 ± 30.5	
2022	Ped	ROH 10	ROH 20	
	$b_1 \pm e.e.$	$\mathbf{b}_1 \pm \mathbf{e.e.}$	$\mathbf{b}_1 \pm \mathbf{e.e.}$	
Porcentaje de eclosión	0.974 ± 0.691	10.92 ± 6.427	1.27 ± 8.91	
Número de nauplios	0.167 ± 0.135	2.062 ± 1.233	0.09 ± 1.75	

 $b_1 \pm e.e. =$ coeficiente de regresión y error estándar Ningún coeficiente de regresión fue significativo (P>0.05).





DISCUSIÓN

Variables reproductivas

Para llevar a cabo la medición de variables reproductivas, el método utilizado consistió en subconteos de huevos a partir de muestras extraídas de los tanques en los cuales se encuentran los huevos. Existen varias propuestas acerca de diferentes aproximaciones hacia el conteo de huevos, Li et al. (2021), realizó una compilación acerca de métodos para el conteo de huevos en el que se concluyó que, a pesar de la simplicidad que presentan los métodos de conteo manual, los métodos de conteo automático presentan una ventaja muy marcada en cuanto a la precisión del conteo.

El número de huevos encontrado en el presente estudio no corresponde al número de huevos encontrado en estudios similares, por ejemplo, en el estudio realizado por Arcos et al. (2003), se obtuvo un rango de huevos que fue de 149,000 a 190,000 huevos, de igual manera Wouters et al (2002), tuvo conteos de huevos que rondaban de los 180,000 a 230,000. Esto es contrastado por el hecho de que el rango de huevos totales encontrados fue desde 85,000 a 159,000, lo cual implica una reducción de producción de huevos para nuestra población, esto es remarcado por el hecho de que los rangos de peso son similares entre los demás estudios y los obtenidos en nuestro estudio.

Una diferencia metodológica que existe entre los estudios de Arcos et al. (2003), y Wouters et al. (2002), con el nuestro, consiste en que presentan datos de las variables reproductivas a partir de las hembras que desovaron, mientras que en nuestro caso se calculó a partir de todas las hembras de la población, así que es relevante mencionar que se promediaron todas las hembras que no desovaron lo cual baja el promedio de huevos y nauplios. Adicionalmente, cabe resaltar que el método de inseminación artificial usando un solo espermatóforo el cual fue utilizado, produce menor porcentaje de eclosión y por lo tanto de numero de nauplios comparado contra los desoves naturales.

Estimadores de consanguinidad

Los niveles de Fped promedio encontrados en este estudio difieren con los encontrados en el estudio realizado por de los Ríos-Pérez et al. (2017), en el cual el rango de consanguinidad de fue de 0-51.2% con un promedio de 8.5% mientras que nuestro estudio fue de 0-15% con un promedio de 2.2%. Una diferencia entre ambos resultados es que el estudio de de los Ríos-Pérez se utilizó

una población diseñada para evaluar consanguinidades altas. Moss et al. (2007), encontró dentro de su estudio que en una población de 11 generaciones se calcularon consanguinidades de 7.1% en promedio. Una de las diferencias metodológicas entre los resultados de Moss et al. (2007), y los obtenidos en este estudio es que su población se conformó de 40-80 familias por generación sin restricciones importantes de consanguinidad, mientras que la de nosotros se generó a partir de 176 familias con restricciones de consanguinidad máxima esperada de 6.25 en los apareamientos.

En cuanto a FROH, las magnitudes encontradas exceden los niveles presentados por Wang et al. (2022), en *L. vannamei*, en su estudio se consideraron 6 poblaciones y una ventana de 100kb de pares de bases obteniendo un rango de consanguinidad de 1-14.7%, mientras que en nuestro análisis se calcularon niveles de 0.8-31.9% usando ventanas de 10 y 20 SNPs que aproximadamente equivaldrían a 400 y 800kb respectivamente. Por otro lado, Yoshida et al. (2020), en salmón coho *Oncorhynchus kisutch* encontró rangos de consanguinidad que iban desde 5-14% utilizando ventanas de 24 a 40 SNPs.

Una diferencia metodológica importante que se puede remarcar con los casos anteriores es el tamaño de la ventana de detección, en nuestro estudio se utilizaron ventanas de 10 y 20 SNP de detección que son más grandes que las de Wang et al. (2022), pero más pequeñas que las de Yoshida et al. (2020). Adicionalmente Meyermans et al. (2020), menciona que existen parámetros muy específicos a la hora de realizar el análisis de ROH que pueden generar problemas, como es el control de calidad para frecuencia de alelo menor, las cuales pueden afectar la detección de ROH en chips de mediana densidad (50k) como fue el caso en poblaciones de cerdo Pietrain y gato Burmés los cuales presentaron cambios en sus rangos de consanguinidad al momento de hacer el control de calidad para frecuencia del alelo menor (0.01), mientras que en nuestro caso esto no afecto los resultados.

Análisis de correlación entre indicadores de consanguinidad

Las correlaciones obtenidas entre FROH (10 y 20) y Fped no fueron correspondientes a resultados obtenidos en otros estudios, como es el caso de Purfield et al. (2012), en ganado bovino el cual su estudio encontró correlaciones fuertes (r = 0.75) entre FROH y Fped en 9 razas diferentes de *Bos taurus taurus*, contrastando las correlaciones obtenidas en este estudio las cuales tuvieron un rango

de 0.28-0.36. De igual manera Ceballos et al. (2018), encontró en su estudio de poblaciones humanas que el coeficiente de FROH y Fped tenían un coeficiente de correlación de muy alto (r = 0.82) lo que implicaba una relación muy estrecha entre estos.

Sin embargo, Yoshida et al. (2020), reportó niveles de baja o nula correlación (r = 0.39) y agrega que las bajas correlaciones se pueden deber a la profundidad del pedigrí y a la calidad de este mismo, ya que se puede asumir que con el método de pedigrí se detecta menos consanguinidad de la real debido a que se puede asumir erróneamente, que las poblaciones fundadoras no están emparentadas. Por otro lado, en población que utilizamos para este estudio ingresaron organismos importados de Ecuador, los cuales se asumió que no están relacionados entre ellos ni con la población, sin embargo, si existiera parentesco entre ellos se reflejaría en una subestimación de la consanguinidad.

Relación entre indicadores de consanguinidad y variables reproductivas

En el estudio realizado no se encontró relación entre los atributos reproductivos y la consanguinidad medida a partir de FROH ni de Fped. Esto parcialmente corresponde con los resultados obtenidos por Gallardos et al. (2004) y de los Ríos-Pérez et al. (2017), en salmón coho *Oncorhynchus kisutchy* camarón blanco respectivamente. Gallardos et al. (2004) agrega que en salmón coho, el efecto de la depresión endogámica se expresaba en diferentes magnitudes y caracteres dependiendo de la población en cuestión, y concluyen que los factores relevantes son la variabilidad de dominancia y las diferencias de carga genética. En el estudio realizado por de los Ríos-Pérez et al. (2017), el cual se llevó a cabo a partir de un experimento de reproducción endogámica, no se encontró relación entre el número de huevos y los niveles de consanguinidad, lo cual concuerda con los resultados de este estudio, sin embargo, estos autores encontraron correlaciones negativas entre la consanguinidad; el número de nauplios y el porcentaje de eclosión. Estos efectos son atribuidos en ambos trabajos a la depresión endogámica, que, aunque el estudio de su efecto sea limitado en crustáceos, se considera prudente mantener al mínimo la cantidad de consanguinidad dentro de las poblaciones como precaución.

Observaciones (Factores externos)

Existen factores dentro del estudio que podrían interferir con los resultados obtenidos, por ejemplo: la metodología del conteo de atributos reproductivos, los parámetros utilizados para el análisis de ROH en el programa PLINK y el chip utilizado.

La metodología utilizada para el conteo de atributos reproductivos de este estudio requirió de extrapolaciones debidas al tamaño de los desoves, esto pudo afectar la precisión de las mediciones de los atributos reproductivos, lo cual resultaría en dificultades para detectar efectos pequeños de la consanguinidad sobre el número de huevos, porcentaje de eclosión y numero de nauplios.

Los parámetros utilizados en el análisis de ROH fueron basados en estudios de chips de similar densidad en otras especies, esto debido a la poca información disponible acerca de estudios genéticos de *L. vannamei*, esto puede causar problemas al momento de determinar parámetros de detección, ya que no ha habido los suficientes estudios de *L. vannamei* con chips de mediana densidad para llegar a parámetros más óptimos.

CONCLUSIÓN

- No se detectaron efectos (P>0.05) de la consanguinidad medida a través del pedigrí en el número de huevos, porcentaje de eclosión y numero de nauplios.
- No se detectó relación (P>0.05) entre los efectos de la consanguinidad medida a través de ROH utilizando dos tamaños de ventana de SNPs (10 y 20 SNPs), en el número de huevos, porcentaje de eclosión y numero de nauplios.
- Este estudio encontró que ninguno de los métodos detectó efecto de la consanguinidad sobre el número de huevos, porcentaje de eclosión y número de nauplios en estos niveles de consanguinidad.

REFERENCIAS

- Aramburu González, Ó., Ceballos, F., Casanova Chiclana, A., Le Moan, A., Hemmer-Hansen, J., Bekkevold, D., ... & Martínez Portela, P. (2020). Genomic Signatures After Five Generations of Intensive Selective Breeding: Runs of Homozygosity and Genetic Diversity in Representative Domestic and Wild Populations of Turbot (Scophthalmus maximus).
- Arce, S. M., Moss, S. M., & Argue, B. J. (2000). Artificial insemination and spawning of pacific
 white shrimp Litopenaeus vannamei: implications for a selective breeding program. Spawning and
 Maturation of Aquatic Species. Proceedings of the Twenty-Eighth US-Japan Natural Resources
 Aquaculture Panel. UJNR Tech. Rep. 28, 5-8.
- Arcos, F. G., Ibarra, A. M., Palacios, E., Vazquez-Boucard, C., & Racotta, I. S. (2003). Feasible
 predictive criteria for reproductive performance of white shrimp Litopenaeus vannamei: egg quality
 and female physiological condition. *Aquaculture*, 228(1-4), 335-349.
- Aumenta en 2017 la producción pesquera y acuícola nacional a 1.8 millones de toneladas:
 CONAPESCA. (2018, Marzo, 28). Gobierno de México.
 https://www.gob.mx/conapesca/articulos/aumenta-en-2017-la-produccion-pesquera-y-acuicola-nacional-a-1-8-millones-de-toneladas-conapesca-152749
- Biscarini, F., Biffani, S., Nicolazzi, E. L., Morandi, N., & Stella, A. (2014). Applying runs of homozygosity to the detection of associations between genotype and phenotype in farm animals. *Reproduction*, 5(6656617), 6976839.
- Cassell, B. G., Adamec, V., & Pearson, R. E. (2003). Effect of incomplete pedigrees on estimates
 of inbreeding and inbreeding depression for days to first service and summit milk yield in Holsteins
 and Jerseys. *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2967-2976.
- Ceballos, F. C., Joshi, P. K., Clark, D. W., Ramsay, M., & Wilson, J. F. (2018). Runs of homozygosity: windows into population history and trait architecture. *Nature Reviews Genetics*, 19(4), 220-234.

- Ceballos, F. C., Joshi, P. K., Clark, D. W., Ramsay, M., & Wilson, J. F. (2018). Runs of homozygosity: windows into population history and trait architecture. *Nature Reviews Genetics*, 19(4), 220-234.
- Chan, T. Y. (1998). Shrimps and prawns. FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific, 2, 851-966.
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. (2018). Produce acuacultura mexicana más de 400 mil toneladas de pescados y mariscos. 15/03/22, de Gobierno de México Sitio web: https://www.gob.mx/conapesca/prensa/produce-acuacultura-mexicana-mas-de-400-mil-toneladas-de-pescados-y-mariscos-172466
- Cothran, E. G., MacCluer, J. W., Weitkamp, L. R., Pfennig, D. W., & Boyce, A. J. (1984).
 Inbreeding and reproductive performance in Standardbred horses. *Journal of heredity*, 75(3), 220-224.
- Curik, I., Ferenčaković, M., & Sölkner, J. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. Livestock Science, 166, 26-34.
- de los Ríos-Pérez, L., Campos-Montes, G. R., Martínez-Ortega, A., Castillo-Juárez, H., & Montaldo, H. H. (2017). Inbreeding effects on reproductive traits in a breeding population of Pacific white shrimp Penaeus (Litopenaeus) vannamei. *Aquaculture*, 479, 442-446.
- de los Ríos-Pérez, L., Campos-Montes, G. R., Martínez-Ortega, A., Castillo-Juárez, H., & Montaldo, H. H. (2015). Inbreeding effects on body weight at harvest size and grow-out survival rate in a genetic selected population of pacific white shrimp Penaeus (Litopenaeus) vannamei. *Journal of the World Aquaculture Society*, 46(1), 53-60.
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. (1996). Introducción a la Genética Cuantitativa. 4 edición.
 Editorial Acribia. Zaragoza, España. 469p.FAO. 2009. Penaeus vannamei. In Cultured aquatic

species fact sheets. Text by Briggs, M. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual).

- Ferenčaković, M., Sölkner, J., & Curik, I. (2013). Estimating autozygosity from high-throughput information: effects of SNP density and genotyping errors. *Genetics Selection Evolution*, 45(1), 1-9.
- Gallardo, J. A., Garcia, X., Lhorente, J. P., & Neira, R. (2004). Inbreeding and inbreeding depression of female reproductive traits in two populations of Coho salmon selected using BLUP predictors of breeding values. Aquaculture, 234(1-4), 111-122.
- Ibarra, A. M., Racotta, I. S., Arcos, F. G., & Palacios, E. (2007). Progress on the genetics of reproductive performance in penaeid shrimp. *Aquaculture*, 268(1-4), 23-43.
- Kim, E. S., Sonstegard, T. S., Van Tassell, C. P., Wiggans, G., & Rothschild, M. F. (2015). The
 relationship between runs of homozygosity and inbreeding in Jersey cattle under selection. *PloS*one, 10(7), e0129967.
- Li, D., Miao, Z., Peng, F., Wang, L., Hao, Y., Wang, Z., ... & Zheng, Y. (2021). Automatic counting methods in aquaculture: A review. *Journal of the World Aquaculture Society*, 52(2), 269-283.
- Luo, K., Kong, J., Luan, S., Meng, X. H., Zhang, T. S., & Wang, Q. Y. (2014). Effect of inbreeding on survival, WSSV tolerance and growth at the postlarval stage of experimental full-sibling inbred populations of the Chinese shrimp Fenneropenaeus chinensis. *Aquaculture*, 420, 32-37.
- Meyermans, R., Gorssen, W., Buys, N. et al. How to study runs of homozygosity using PLINK? A guide for analyzing medium density SNP data in livestock and pet species. BMC Genomics 21, 94 (2020). https://doi.org/10.1186/s12864-020-6463-x

- Meyermans, R., Gorssen, W., Buys, N., & Janssens, S. (2020). How to study runs of homozygosity using PLINK? A guide for analyzing medium density SNP data in livestock and pet species. *BMC genomics*, 21(1), 1-14.
- Moss, D. R., Arce, S. M., Otoshi, C. A., & Moss, S. M. (2008). Inbreeding effects on hatchery and growout performance of Pacific white shrimp, Penaeus (Litopenaeus) vannamei. *Journal of the World Aquaculture Society*, *39*(4), 467-476.
- Peralta-Martínez, M. D. L. Á., Martínez Morales, I., Unzueta Bustamante, M. L., Montaldo, H. H.,
 & Castillo-Juárez, H. (2013). Morfología del sistema reproductor y del espermatóforo de Litopenaeus vannamei, camarón blanco del Pacífico. *Hidrobiológica*, 23(3), 313-319.
- Peripolli, E., Munari, D. P., Silva, M. V. G. B., Lima, A. L. F., Irgang, R., & Baldi, F. (2017). Runs of homozygosity: current knowledge and applications in livestock. *Animal genetics*, 48(3), 255-271.
- Purfield, D. C., Berry, D. P., McParland, S., & Bradley, D. G. (2012). Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC genetics*, *13*, 1-11.
- Ren, S., Mather, P. B., Prentis, P., Li, Y., Tang, B., & Hurwood, D. A. (2020). Quantitative genetic assessment of female reproductive traits in a domesticated pacific white shrimp (Penaeus vannamei) line in China. *Scientific Reports*, 10(1), 1-10.
- Scienski, K., Ialacci, A., Bagnato, A., Reginelli, D., Durán-Aguilar, M., & Strillacci, M. G. (2019).
 Variabilidad genética en una población de vacas Holstein utilizando marcadores SNP y su uso para monitorear estrategias de apareamiento. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 10(3), 643-663.
- Su, G. S., Liljedahl, L. E., & Gall, G. A. (1996). Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Aquaculture*, 142(3-4), 139-148.

- Vela Avitúa, S., Montaldo, H. H., Márquez Valdelamar, L., Campos Montes, G. R., & Castillo Juárez, H. (2013). Decline of genetic variability in a captive population of Pacific white shrimp Penaeus (Litopenaeus) vannamei using microsatellite and pedigree information. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(4), 9-9.
- Wang, H., Teng, M., Liu, P., Zhao, M., Wang, S., Hu, J., ... & Zeng, Q. (2022). Selection signatures of Pacific White Shrimp Litopenaeus vannamei revealed by whole-genome resequencing analysis. *Front. Mar. Sci.*, 9.
- Wouters, R., Zambrano, B., Espin, M., Calderon, J., Lavens, P., & Sorgeloos, P. (2002). Experimental broodstock diets as partial fresh food substitutes in white shrimp Litopenaeus vannamei B. *Aquaculture Nutrition*, 8(4), 249-256.
- Yoshida, G. M., Cáceres, P., Marín-Nahuelpi, R., Koop, B. F., & Yáñez, J. M. (2020). Estimates of autozygosity through runs of homozygosity in farmed coho salmon. *Genes*, 11(5), 490.