

Limitada variabilidad genética de la quinta introducción en Cuba de *Litopenaeus vannamei* estimada con el uso de marcadores microsatélites

Adriana Artilés¹, Ivón Rodríguez¹, Anna Pérez², Lourdes Pérez¹, ✉ Georgina Espinosa²

¹Centro de Investigaciones Pesqueras
5ta y 246, Barlovento, Santa Fé, Playa, La Habana, Cuba
²Facultad de Biología, Universidad de La Habana, UH
Calle 25 #455 e/ J y H, Vedado, Plaza, La Habana, Cuba
E-mail: georgina@fbio.uh.cu

RESUMEN

Se estimó la variabilidad genética y el índice de parentesco entre lotes de camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, introducidos por quinta ocasión en Cuba, procedentes del Centro de mejora del camarón, de Estados Unidos (Shrimp Improving System: SIS), para su cultivo. La variabilidad genética se estimó mediante el genotipo de 33 muestras con cuatro loci microsatélites: M1, Pvan 1815, Pvan 0040 y Pvan 1758. El quinto lote de *Litopenaeus vannamei* tuvo los valores promedios de heterocigosidad esperada y observada, más bajos de todos los introducidos en Cuba: 0.37 y 0.27, respectivamente. Esto, unido a la poca cantidad de variantes alélicas para cada región microsatélite, indica una escasa variabilidad genética. Los valores del coeficiente de parentesco alrededor de la unidad expresan una alta consanguinidad. Todo ello sugiere el cruce de los individuos de esta introducción con otros de diferente origen o más variables genéticamente.

Palabras clave: variabilidad genética, *Litopenaeus vannamei*, microsatélites, camarón

Biotecnología Aplicada 2011;28:142-146

ABSTRACT

Low genetic variability in the fifth introduction of *Litopenaeus vannamei* in Cuba, as estimated with microsatellite markers. The present work estimated the genetic variability and relatedness index of the fifth stock of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, imported into Cuba for farming purposes from the US Shrimp Improvement System (SIS). Genetic variability was estimated by genotyping 33 samples for four microsatellite loci: M1, Pvan 1815, Pvan 0040 and Pvan 1758. This stock had average expected and observed heterozygosities of 0.37 and 0.27 respectively; the lowest of all stocks previously introduced in Cuba. The above, together with the low amount of allelic variants detected for each microsatellite, was suggestive of low genetic variability. In addition, pairwise relatedness coefficients clustered around unity, indicating a high degree of consanguinity. Taken as a whole, the data suggests that this breeding stock should be crossed first with other individuals from a different source or with higher genetic variability.

Keywords: genetic variability, *Litopenaeus vannamei*, microsatellites, shrimp

Introducción

El camarón, como muchos otros recursos pesqueros, ha recibido el impacto de la sobrepesca, que junto al deterioro ambiental han ocasionado la disminución de las poblaciones naturales. Por esta razón, la camaronicultura ha devenido una alternativa útil para proporcionar una valiosa fuente de proteínas.

En el año 2003, en Cuba se introducen por primera vez dos lotes de camarón blanco del océano Pacífico, *Litopenaeus vannamei* (referidos como Lotes 1 y 2 en el presente trabajo) [1], provenientes del Centro de mejora del camarón (*Shrimp Improving System*; SIS), de Estados Unidos, y a partir de entonces se restablecen paulatinamente las técnicas de manejo, salud, nutrición y determinación de la variabilidad genética de esta especie de alto valor comercial, en las granjas que antes cultivaban la especie autóctona, *Litopenaeus schmitti*. En años sucesivos se implantaron dos lotes más (referidos como Lotes 3 y 4 en el presente trabajo), todos caracterizados mediante la utilización de marcadores microsatélites [2, 3].

En octubre de 2008, se introduce un quinto lote de esta misma especie, procedente de igual lugar, pero no

se conocen su composición genética ni el polimorfismo de sus alelos. La variabilidad de los dos primeros lotes, aunque era alta, y con poca consanguinidad, ya estaba disminuida con respecto a las poblaciones naturales [2]. De igual forma, los lotes 3 y 4 presentaban una disminución de la variación genética [3].

Para diferentes especies de camarón, se ha correlacionado la pérdida de variabilidad genética con una disminución significativa de la productividad, mediante el uso de aloenzimas o microsatélites (por ejemplo en *Marsupenaeus japonicus* [4], en *Litopenaeus stylirostris* [5], en *P. monodon* [6] y *L. vannamei* [7, 8]); aunque para el seguimiento de los niveles de variabilidad genética en poblaciones en cultivo, los marcadores microsatélites han mostrado una mayor resolución y sensibilidad [2, 9].

Por ello, los objetivos de este trabajo fueron determinar la variabilidad genética e índices de parentesco de una muestra del quinto lote de *L. vannamei* introducido en Cuba, con el empleo de cuatro loci microsatélites, y compararlos con los de los lotes previamente introducidos.

1. Tizol R, Jaime B, Laria R, Pérez L, Machado R, Silveira R. Introducción en Cuba del camarón blanco del pacífico *L. vannamei*. Etapa I Cuarentena. Repositorio digital Ocean Docs; 2004 [cited 2010 Nov 16]. Available from: <http://hdl.handle.net/1834/3588>

2. Borrell YJ, Espinosa G, Vazquez E, Sánchez JA, Blanco G. Variabilidad genética de loci microsatélites en los primeros lotes de *Litopenaeus vannamei* introducidos en Cuba para la acuicultura. *Rev Invest Mar*. 2006;27(3):237-44.

3. Machado TR. Assessment of genetic variability in two lots of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) introduced to Cuba. International Fisheries Management [Master dissertation]. Department of Aquatic Biosciences. Norwegian College of Fishery Science: University of Trondheim, Norway; 2006.

4. Sbordoni V, de Mattheis M, Cobolli Sbordoni M, La Rosa G, Mattoccia M. Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Litopenaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Aquaculture*. 1986;57:239-51.

Materiales y métodos

Toma de muestra

Se tomaron muestras de pleópodos de 40 individuos, específicamente del cuarto par, entre el exopodito y el endopodito. Se utilizó igual cantidad de machos y de hembras, de manera aleatoria, de camarones previamente aclimatados en las naves de reproductores del Centro de Genética de Camarón, de Mariel, en Cuba.

Genotipaje de loci microsatélites

La extracción de ADN, los loci microsatélites utilizados (*M1*, obtenido por Wolfus y cols.[8], *Pvan 1758*, *Pvan 1815* y *Pvan 0040*, aislados por Cruz y cols.[10]), los programas de amplificación y la electroforesis para el genotipo, se efectuaron según Borrell y cols. [2].

La extracción del ADN fue con resina Chelex al 5% y los fragmentos amplificados se corrieron en electroforesis de acrilamida-bis acrilamida al 6% con un voltaje de 2000 mV. Los geles se tiñeron con nitrato de plata al 0.1% que contenía formaldehído al 0.05%, fijados con ácido acético al 10% y revelados con carbonato de sodio al 3% con formaldehído al 0.05% y 20 µg/mL de tiosulfato de sodio. Como controles del tamaño de los alelos, se utilizaron muestras genotipadas previamente por estos autores [2] para cada región microsatélite, cuyos tamaños variaron entre 206 y 240 en *M1*, entre 140 y 146 en *Pvan 0040*, entre 110 y 136 en *Pvan 1815* y entre 174 y 188 en *Pvan 1758* y el marcador convencional: PGEM®.

Procesamiento estadístico

El número de alelos por locus, la frecuencia de cada alelo y los valores de heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e , según Nei [11]) en cada locus, así como el cálculo del equilibrio de Hardy-Weinberg se determinaron mediante el programa informático GeneA1Ex (versión 6.1) [12]. El locus que presentara al menos dos alelos y la frecuencia del alelo más común no excediera el 95%, se consideró polimórfico [13].

Se corroboraron las desviaciones del equilibrio mediante el cálculo estadístico de F_{IS} [14], acorde con la fórmula $F_{IS} = 1 - (H_o/H_e)$, mediante el programa informático FSTAT (versión 2.9.3) [15]. Esta depende del tamaño poblacional, pero no se ve afectada por la presencia de múltiples alelos por locus, por el número de individuos por población, ni por el número de poblaciones.

El coeficiente de relación genética (r) [16] entre pares de individuos se calculó mediante el programa informático GeneA1Ex (versión 6.1) [12]. La fórmula para el cálculo de este coeficiente a partir de marcadores moleculares codominantes es:

$$r = \frac{\sum_k \sum_l \sum_i (P_{y_i} - P^*)}{\sum_k \sum_l \sum_i (P_{x_i} - P^*)}$$

donde: x representa los individuos; k los loci; l las posiciones alélicas (dos para diploides y una para haploides), P_x es la frecuencia del individuo "x" para el locus k y posición alélica l , P_y es la frecuencia del alelo "y" en el grupo o individuo con que se compara x ; P^* es la frecuencia total del alelo en la población. El valor del coeficiente de relación genética debe ser $r \leq 0$ para individuos no emparentados; $r = 0.25$ para medios hermanos y $r \geq 0.5$ para hermanos completos [16].

Resultados y discusión

Variabilidad genética del quinto lote de *L. vannamei* en el contexto de los lotes anteriores

En este trabajo se analizó la variabilidad genética del quinto lote de *L. vannamei* introducido en Cuba para su cultivo, con el empleo de cuatro loci microsatélites (*M1*, aislado de *L. vannamei* [8], *Pvan 0040*, *Pvan 1758* y *Pvan 1815*) igualmente obtenidos en esta especie [10].

En la tabla se muestran los principales parámetros de estimación: número de alelos (N_a), heterocigosidades observadas y esperadas (H_o y H_e), desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (valores de F_{IS}), junto con los reportados en ocasiones anteriores. El desequilibrio de ligamiento se analizó mediante el programa informático FSTAT (versión 2.9.3), y resultó que estos loci para *L. vannamei*, no están ligados [2, 9, 17].

Valores de heterocigosidad esperada y observada

El valor medio de heterocigosidad observada del quinto lote de *L. vannamei* introducido en Cuba, es el más bajo de todos: 0.271 (Figura 1). Está por debajo de los intervalos anteriores, obtenidos por otros investigadores con el empleo de microsatélites, para camarones peneidos.

En una revisión clásica [9], sobre los loci microsatélites empleados en poblaciones naturales de cuatro especies de camarones peneidos, se describen heterocigosidades observadas entre 0.425 y 0.964, para una media de 0.666: valor inferior a la media (0.927) de las heterocigosidades esperadas. El mismo autor reporta heterocigosidades observadas entre 0.45 y 1.00 para tres especies de peneidos en cultivo, para una media de 0.594, solo un poco menor que la media de la heterocigosidad esperada: 0.674.

Por otra parte, para *P. stylirostris* cultivado por 22 y 24 generaciones [5], se reportan valores mucho menores: $H_o = 0.32$ a 0.48; $H_e = 0.46$ a 0.61. Los valores correspondientes al quinto lote introducido en Cuba

Tabla. Parámetros de variabilidad genética y desviación de los equilibrios de Hardy-Weinberg (F_{IS}) de los cuatro loci microsatélites aislados de *Litopenaeus vannamei*: *M1* [8], *Pvan 0040*, *Pvan 1758* y *Pvan 1815* [10], en los cinco lotes introducidos en Cuba para su cultivo*

Locus <i>M1</i>							Locus <i>Pvan 0040</i>						
Lote	n ^a	N _a ^b	H _e ^c	H _o ^d	F _{IS}	P _{FIS} ^e	n	N _a	H _e	H _o	F _{IS}	P _{FIS} ^e	
5	30	5	0.604	0.167	+0.732	0.0125	25	1	0	0	ND ^g	ND	
1	41	11	0.840	0.585	+0.305	**	41	6	0.728	0.488	+0.332	**	
2	31	7	0.656	0.484	+0.265	*	39	5	0.397	0.179	+0.551	**	
3	67	5	0.765	0.418	NI ^f	***	48	5	0.350	0.062	NI	***	
4	67	6	0.731	0.687	NI	***	58	1	0	0	ND	ND	
Locus <i>Pvan 1758</i>							Locus <i>Pvan 1815</i>						
Lote	n	N _a	H _e	H _o	F _{IS}	P _{FIS} ^e	n	N _a	H _e	H _o	F _{IS}	P _{FIS} ^e	
5	27	5	0.471	0.444	0.074	0.012	33	4	0.453	0.455	0.365	0.525	
1	42	12	0.897	0.738	+0.179	*	42	8	0.774	0.857	-0.109	ND	
2	38	8	0.792	0.579	+0.272	**	40	3	0.654	0.575	+0.123	ND	
3	46	9	0.747	0.565	NI	***	71	8	0.568	0.564	NI	ns	
4	47	7	0.749	0.851	NI	***	72	4	0.509	0.347	NI	***	

*Los datos del primer y segundo lotes se tomaron de la referencia [2] y los de los lotes 3 y 4 de la referencia [3].

^an: número de muestras.

^bN_a: número de alelos.

^cH_e: heterocigosidad esperada, según Nei [11].

^dH_o: heterocigosidad observada.

^eP_{FIS}: probabilidad asociada al estadístico FIS, estimada con la corrección de Bonferroni (α : 0.01250 y 80 aleatorizaciones) mediante el programa informático FSTAT (versión 2.9.3). Significación estadística: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; ns - no significativo.

^fNI: Número informado en la referencia [3].

^gND: No determinado.

5. Bierre N, Beuzart I, Vonau V, Bonhomme F, Bedier E. Microsatellite-associated heterosis in hatchery-propagated stocks of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture*. 2000;184:203-19.

6. Xu Z, Primavera JH, de la Pena LD, Pettit P, Belak J, Alcivar-Warren A. Genetic diversity of wild and cultured Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. *Aquaculture* 2001;199:13-40.

7. García DK, Faggart MA, Rhoades L, Alcivar-Warren AA, Wyban JA, Carr WH, et al. Genetic diversity of cultured *Penaeus vannamei* shrimp using three molecular genetic techniques. *Mol Mar Biol Biotech*. 1994;3:270-80.

8. Wolfus GM, García GK, Alcivar-Warren A. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. *Aquaculture*. 1997;152:35-47.

9. Benzie JAH. Population genetics structure in penaeid prawns. *Aquaculture Res*. 2000;31:95-119.

10. Cruz P, Mejía-Ruiz CH, Pérez-Enriquez R, Ibarra AM. Isolation and characterization of microsatellites in Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus vannamei)*. *Mol Ecol Notes*. 2002;2:239-41.

11. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 1978;89:583-90.

12. Peakall R, Smouse PE. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes*. 2006;6:288-95.

13. Graur D, W-H Li. *Fundamentals of Molecular Evolution*. 2nd ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000.

14. Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regards to systems of mating. *Evolution*. 1965;19:395-420.

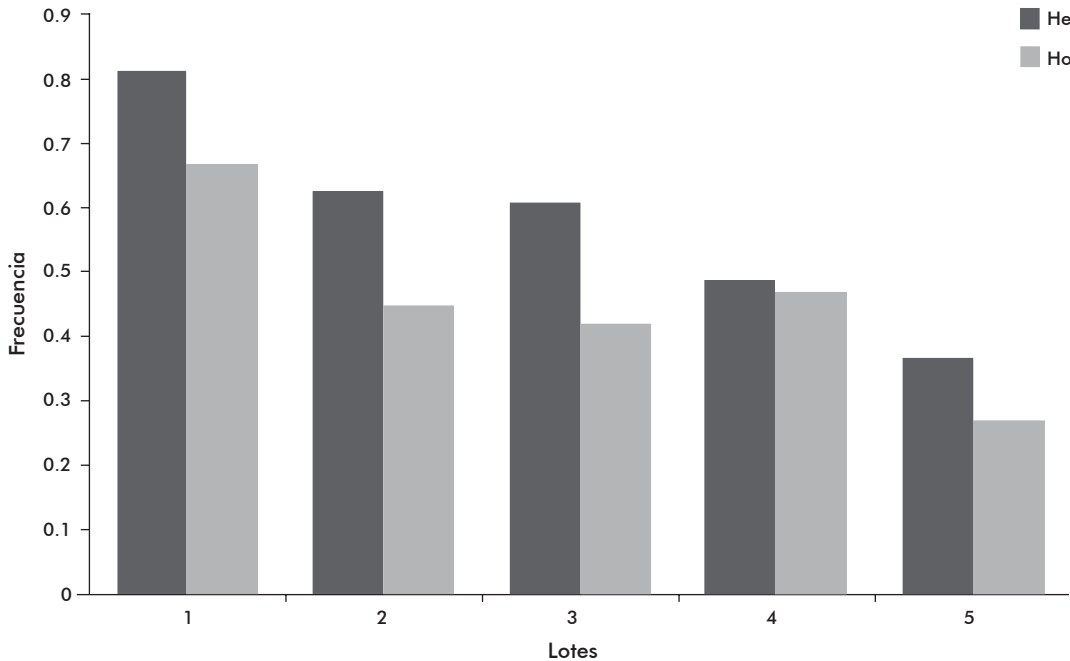


Figura 1. Variabilidad genética a partir de los valores de frecuencias génicas estimadas con los loci microsatélites: *M1* [8], *Pvan 0040*, *Pvan 1758* y *Pvan 1815* [10]. Se expresa como heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) en los cinco lotes de camarones *Litopenaeus vannamei* introducidos en Cuba.

($H_o = 0.271$; $H_e = 0.367$) están por debajo de los de estas poblaciones (Figura 1). Se debe notar que los valores para los lotes de *L. vannamei* anteriormente introducidos están en los intervalos previamente descritos. Sin embargo, concordamos en que la heterocigosidad es una medida imperfecta de la variabilidad, pues se pueden obtener altos valores con tan solo dos alelos; por tanto, la cualidad de estos es también importante [17-19].

Frecuencias alélicas y desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg

Debe notarse que hay una gran contribución a las heterocigosidades disminuidas, de un locus, el *Pvan 0040*, que aparece monomórfico, al igual que en la cuarta introducción de *L. vannamei*. Los otros tres son polimórficos, con cinco alelos cada uno: los loci *M1* y *Pvan 1758* y cuatro el *Pvan 1815*.

Las frecuencias alélicas para cada uno de los loci del quinto lote se muestran en la figura 2. Los pesos moleculares de los alelos encontrados están entre los intervalos publicados por otros autores, tanto de quienes los detectaron a partir de una librería genómica por primera vez [10], como por aquellos que los han utilizado para caracterizar poblaciones de esta especie [2, 3, 8, 17-19].

En el presente trabajo, para el locus *M1*, los alelos variaron entre 206 y 240 pb, con cinco variantes; los más frecuentes fueron los de 240 pb (0.61) y 210 pb, respectivamente (0.28). Este microsatélite fue utilizado como único marcador para estimar la variabilidad genética de diferentes poblaciones [8] y el número mínimo de alelos que tuvo en una de las poblaciones fue 4, y el máximo 23, lo que indica que es de gran utilidad para el estudio de poblaciones de esta especie. También se empleó para la caracterización

genética de todas las introducciones anteriores de *L. vannamei* en Cuba [2, 3].

Los loci *Pvan 1815* y *Pvan 1758* presentan un gran número de alelos, tanto en las poblaciones naturales como en las cultivadas y manejadas con programas genéticos [10, 17-19]. Aún así, en estas últimas se pierden variantes alélicas y disminuye la heterocigosidad, debido a factores como la consanguinidad propia de los cultivos y probablemente a artefactos experimentales como la aparición de alelos nulos por la interpretación del tartamudeo de la enzima polimerasa y el efecto Wahlund, producido por la mezcla de poblaciones.

Cuando se obtuvieron estos microsatélites por primera vez en el año 2002 [10] y con el empleo de una muestra pequeña, se encontraron 12 alelos para *Pvan 1815* y 14 para *Pvan 1758*, lo que demostraba la potencialidad de estos marcadores. Posteriormente,

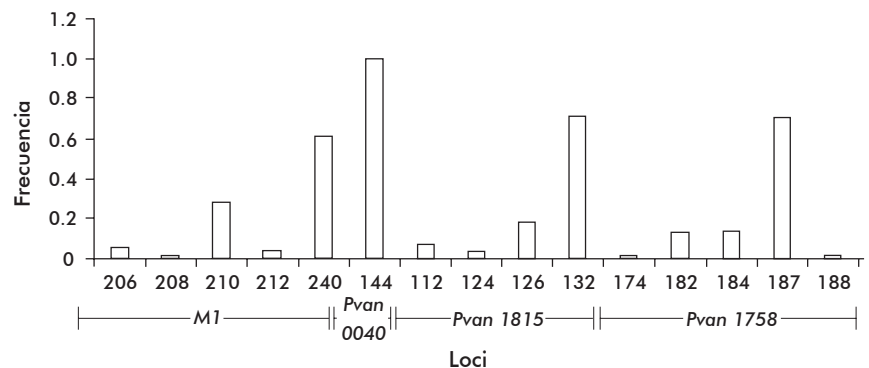


Figura 2. Frecuencias alélicas en los loci *M1* [8], *Pvan 0040*, *Pvan 1758* y *Pvan 1815* [10] de los camarones *Litopenaeus vannamei* del quinto lote introducido en Cuba. Los números en el eje x se corresponden con los pb de cada uno de los alelos (microsatélites) analizados.

15. Goudet J. FSTAT software (version 2.9.3.2). Lausanne: University of Lausanne; 2002 [updated 2005 Aug 23, cited 2010 Oct 14]. Available from: <http://www.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>

16. Queller DC, Goodnight KF. Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*. 1989;43(2):258-75.

17. Cruz P, Ibarra AM, Mejía-Ruiz H, Gaffney PM, Pérez-Enríquez R. Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Mar Biotechnol*. 2004;6:157-64.

18. Valles-Jiménez R, Cruz P, Pérez-Enríquez R. Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: microsatellite DNA variation. *Mar Biotechnol* (NY). 2004;6(5):475-84.

con el empleo práctico de los microsatélites para el estudio de poblaciones, se ha encontrado similar cantidad de variantes en las poblaciones de *Litopenaeus vannamei* estudiadas [17-19]. En la caracterización de este estudio, el número de alelos en estos *loci* es bastante reducido (4 para *Pvan 1815* y 5 para *Pvan 1758*) (Figura 2 y tabla).

Con respecto a las introducciones anteriores, se observa una disminución progresiva en la cantidad de alelos para estos y los otros dos *loci* desde las primeras introducciones hasta la última. Habría que comparar todos los datos en conjunto para ver cuáles alelos se han ido perdiendo y qué importancia podría tener para futuros cruzamientos o selecciones asistidas con marcadores moleculares. En cuanto al *locus Pvan 0040* que reaparece monomórfico, es uno de los que presenta menor número de variantes alélicas. El artículo en el que se describe, presenta 6 variantes [10]; pero la muestra es pequeña y se refiere por primera vez. Más adelante, el mismo grupo [17] compara poblaciones utilizando cinco marcadores microsatélites y el *Pvan 0040* llega a tener entre 5 y 11 alelos. Ya en el año 2009, este grupo no usa este marcador [19], pues realiza sus comparaciones con *Pvan 1758*, *Pvan 1815* y cuatro nuevos marcadores: *Lvan 05* [20] y *TUMXLv9.3*, *TUMXLv10.312* y *TUMXLv8.256* [21].

Al emplear este marcador en la caracterización de los dos primeros lotes introducidos en Cuba, se obtienen 6 y 5 variantes en los lotes 1 y 2 para el *locus* referido [2], respectivamente. En el tercer y cuarto lotes se tienen 5 alelos y, por primera vez, el cuarto lote resulta monomórfico [3].

Los resultados del presente trabajo indican que en la quinta introducción de *L. vannamei*, en Cuba, también hay un alelo fijado y el tamaño en pares de base es coincidente, aún cuando existen diferencias en el tamaño de las muestras y las técnicas para la determinación de la variabilidad genética. Del mismo modo, los marcadores de peso molecular de referencia y los controles positivos en cada caso son diferentes. Sería importante analizar su utilidad para futuras caracterizaciones genéticas de otros lotes.

Aunque realmente en los cultivos no se cumplen muchas veces todas las condiciones para que exista un equilibrio de Hardy-Weinberg, los *locus Pvan 1758* y *Pvan 1815* sí están en equilibrio, mientras que el *M1* se desvía del equilibrio genético por exceso de homocigotos, lo cual se evidencia por el alto valor de F_{IS} (Tabla). En los estudios anteriores [2, 3] de las introducciones de *L. vannamei* en Cuba, los *loci* se desvían significativamente del equilibrio genético. Sin embargo, en nuestro estudio solo ocurre en el *M1*. Ello pudiera deberse a que el tamaño de la muestra es menor que el de los otros autores [2, 3], lo que incrementa la probabilidad de error estadístico de tipo I; es decir, rechazar la hipótesis nula, cuando pudiera ser verdadera.

Grados de parentesco entre los camarones introducidos en Cuba por quinta ocasión

Se observó una curva anómala con dos máximos, ambos en la región correspondiente a individuos muy relacionados genéticamente, de los camarones *L. vannamei* introducidos en Cuba por quinta ocasión

(Figura 3). Nótese que el mayor de los dos máximos corresponde a la unidad; es decir, el mayor valor posible de parentesco y el otro, se encuentran al valor de r de 0.15, cercano al estipulado por Queller y Goodnight [16], para medios hermanos ($r = 0.25$). Aunque hay un pequeño pico en la región de la izquierda, es mucho menor que los otros, y en sentido global, el coeficiente medio de consanguinidad obtenido es + 0.037, que significa un predominio de los individuos emparentados.

La eficacia del empleo de los microsatélites y el índice de parentesco para determinar pedigrees, se demostró con rodaballos de granjas de consanguinidades conocidas [22]. Estos autores obtuvieron gráficos independientes para individuos emparentados y no emparentados, por lo que la distribución de frecuencia de los coeficientes de parentesco entre los camarones de la quinta de introducción pudiera constituir una sumatoria de estos gráficos ideales. Probablemente, el lote introducido en esta ocasión (quinto lote introducido de *L. vannamei*) es una mezcla de más de uno.

Si bien se confirma una pérdida de la variabilidad genética en los lotes 3 y 4 de *L. vannamei* introducidos en Cuba [3], no se estiman las relaciones de parentesco entre ambos. Sin embargo, desde los lotes iniciales se advierte el riesgo que puede implicar el diseño de los cruzamientos utilizando como reproductores los individuos del lote 2 (r media = + 0.1515), sin una metodología similar al seguimiento del coeficiente de relación genética entre individuos, que proporciona información sobre los niveles de endogamia [2]. Como se ha descrito, el valor medio en el lote analizado en el presente trabajo es aún mayor, lo que presupone un riesgo en la utilización de estos individuos como reproductores, sin una metodología que dé seguimiento a los cruces sucesivos.

Ante la imposibilidad de incorporar al cultivo individuos del medio natural, el único modo de disminuir la endogamia y aumentar la variabilidad genética en el cultivo de *L. vannamei*, sería determinar estos parámetros genéticos en el actual banco de reproductores de Cuba y seleccionar los mejores según todas las variables.

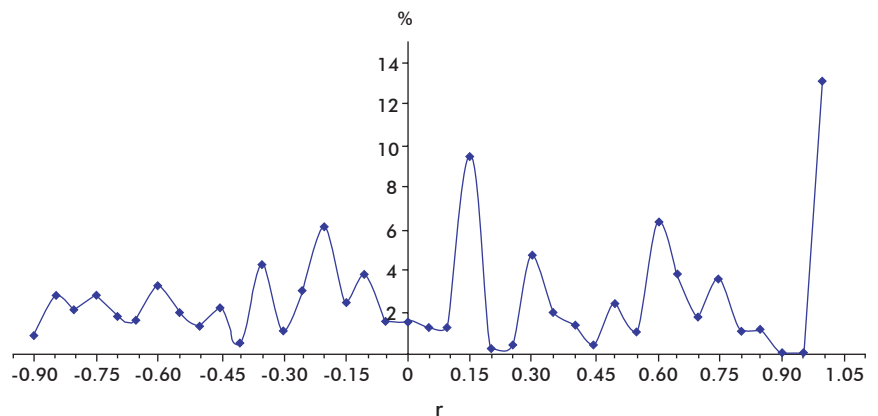


Figura 3. Distribución de los coeficientes de parentesco (*relatedness*, r) entre pares de individuos del quinto lote de *Litopenaeus vannamei* introducido en Cuba para el cultivo, calculados mediante el procedimiento de Queller y Goodnight [16], con el empleo de los cuatro *loci* microsatélites *M1* [8], *Pvan 0040*, *Pvan 1758* y *Pvan 1815* [10].

19. Pérez-Enríquez R, Hernández-Martínez F, Cruz P. Genetic diversity status of White shrimp *Penaeus (Litopenaeus vannamei)* broodstock in Mexico. *Aquaculture*. 2009; 297:44-50.

20. Freitas PD, Jesús CM, Galletti PM Jr. Isolation and characterization of new microsatellite loci in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* and cross-species amplification in other penaeid species. *Mol Ecol Notes*. 2007;7(2):324-6.

21. Meehan D, Xu Z, Zuniga G, Alcivar-Warren A. High frequency and large number of polymorphic microsatellites in cultured shrimp, *Penaeus (Litopenaeus vannamei)* [Crustacea:Decapoda]. *Mar Biotechnol* (NY). 2003;5(4):311-30.

22. Borrell YJ, Álvarez J, Vázquez E, Fernández Pato C, Martínez Tapia C, Sánchez JA, et al. Applying microsatellites to the management of farmed turbot stocks (*Scophthalmus maximus* L.) in hatcheries. *Aquaculture*. 2004;241:133-50.

Conclusiones

El quinto lote de *L. vannamei* introducido en Cuba para su cultivo tuvo los valores promedios de heterocigosidad esperada (0.37) y observada (0.27) más bajos, con respecto a los introducidos anteriormente. Junto con la poca cantidad de variantes alélicas para cada región

microsatélite, ello indica una escasa variabilidad genética. Los valores del coeficiente de parentesco alrededor de la unidad indican una alta consanguinidad. La estimación de los parámetros genéticos en este trabajo revela la necesidad de su cruzamiento con otros lotes de diferente origen, para mejorar el rendimiento productivo.

Recibido en diciembre de 2010. Aprobado en julio de 2011.