

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS



NOMBRE DEL TEMA DE TESIS

Evaluación del desempeño de la progenie de familias de totoaba
silvestre y F1 bajo crianza comunal

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y
BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA

AMAURY EDUARDO NEYRA FLORES

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO, 7 DE DICIEMBRE DEL 2016

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS
POSGRADO EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

Evaluación del desempeño de la progenie de familias de totoaba
silvestre y F1 bajo crianza comunal

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

AMAURY EDUARDO NEYRA FLORES

Aprobada por:



Dr. CONAL DAVID TRUE

Director de tesis



Dr. LUIS MANUEL ENRIQUEZ PAREDES

Sinodal



DRA. IVONE GIFFARD MENA

Sinodal

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mis padres, las personas que merecen el reconocimiento por este triunfo. Se lo dedico a mi esposa Zaira Mendoza Baltazar por siempre apoyarme durante mis estudios y en cualquier aspecto de mi vida, alentarme a ser una mejor persona, por su cariño y paciencia, a mi hijo Luca por enseñarme a disfrutar los detalles más simples de la vida, por alegrar mi día cada mañana e impulsarme a ser mejor en todos los aspectos, a mis hermanos; Edgar y Carlos, finalmente se lo dedico a toda mi familia y amigos.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mi comité de tesis, por su incondicional apoyo durante la realización de este trabajo. Al Dr. Conal David True mi director de tesis por orientarme a iniciar este grado de estudio, por compartir su tiempo y conocimiento para mi desarrollo profesional, pero sobre todo por brindarme su apoyo para cualquier aspecto de mi vida y compartir una amistad desde el primer momento que pase a formar parte del equipo de trabajo de la UBP. Al Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes por ser como un director de tesis para mí, por su visión crítica y continúa dirección concerniente al uso de marcadores moleculares y por compartir su tiempo, amistad y conocimiento en cada momento. A la Dra. Ivonne Giffard Mena por una visión crítica y consejos prácticos que me permitieron mejorar en gran medida este trabajo.

Un extenso agradecimiento a Luis Rodrigo Arce Valdez por el apoyo que brindo durante su estancia del verano científico, sin la cual no habría completado este estudio. Le agradezco su tiempo, amistad, así como la pasión que demuestra a al trabajo.

Estoy profundamente agradecido con el grupo de trabajo de la “Unidad de Biotecnología en Piscicultura”, alias los totoabos, ya que sin su apoyo este trabajo no habría sido posible. Les agradezco su disposición durante las largas jornadas de trabajo, su entrega y pasión en cada una de las áreas. Al Ms. Gerardo Sandoval Garibaldi por apoyarme y compartir su conocimiento concerniente al cultivo y desarrollo de la especie, así como por su disponibilidad y amistad durante mi estancia en esta unidad. Deseo extender un agradecimiento de todo corazón a los técnicos y becados, mis compañeros y amigos; Lic. Julio Cesar Segovia, Rebeca Ramírez, Alan Valverde, Andrés Vázquez, José Azurmendi y Sergio Córdova por brindarme su apoyo y tiempo, sin el cual este trabajo no habría sido terminado.

Un agradecimiento a mi Universidad y Facultad por promover mi desarrollo profesional y personal. Gracias al personal académico que me alentó a terminar, en especial a los profesores que despertaron en mí el interés por la reproducción y cultivo de peces. Agradezco a CONACYT por financiar mis estudios y permitirme obtener este grado sin mayores preocupaciones económicas. Un agradecimiento a SEMARNAT por financiar el proyecto piloto para el repoblamiento de totoaba desarrollado en la UBP.

RESUMEN

En los últimos años los avances obtenidos sobre la reproducción y cultivo en cautiverio de totoaba, una especie de gran interés para la industria acuícola, impulsaron el desarrollo de la industria acuícola enfocada a la especie. Se espera que el desarrollo actual de la industria acuícola de totoaba genere una amplia demanda de juveniles, por ende es necesario producir crías de alta calidad para impulsar el crecimiento de una industria acuícola rentable. En este estudio se comparó el desempeño de la progenie de familias puras, silvestre y de primera generación, y una “híbrida”, con el objetivo de aclarar si el desempeño de la progenie de reproductores domésticos es fiable para la producción comercial con respecto a sus congéneres de origen silvestre. El cultivo comunal de la progenie fue desarrollado para evaluar su desempeño durante varias etapas críticas del proceso de cultivo; Eclosión (EC), alimentación con rotíferos (RT), alimentación con artemia (AA) y alimentación con formulado (AF), así como en una selección de rasgos fenotípicos de interés para el cultivo; Chicas (C), grandes (G) y análisis de deformidades (DF). En cada uno de los muestreos comunales la progenie fue asignada a la familia de origen utilizando solo un microsatélite. La tasa de crecimiento se utilizó como un indicador positivo del desempeño de la progenie, mientras que un porcentaje mayor de individuos deformes (DF) se usó como indicador de la condición familiar. Las diferencias en crecimiento se evaluaron en cada etapa de desarrollo y de selección (C/G) utilizando una ANOVA de una vía. En la etapa de EC fue evidente una proporción homogénea de individuos entre las familias, sin embargo en la etapa de RT se identificó un diferencial de

supervivencia entre familias, el cual permaneció hasta la etapa AF. En la etapa AF, la familia doméstica e “híbrida” presentaron un crecimiento significativamente mayor con respecto a la silvestre ($p=0.002$). La familia doméstica e “híbrida” no presentaron diferencias en crecimiento para la etapa de AF, sin embargo el 82% de los individuos del grupo seleccionado para el rasgo G fueron asignados a la familia doméstica. Al evaluar el grupo DF, se determinó que 41% de los individuos provenían de la familia silvestre, dominando en estos individuos una marcada reducción del número de vertebras. Esta malformación podría estar asociada en parte al factor genético o deficiencias nutricionales. Este estudio ha mostrado las primeras evidencias sobre la viabilidad de utilizar reproductores F1 para la producción comercial al presentar su progenie un desempeño igual o mejor con respecto a sus congéneres silvestres. Por lo tanto, se concluye que los reproductores F1 pueden ser utilizados para la producción comercial, lo cual indica que se debe implementar un nuevo esquema de trabajo para el futuro de la producción comercial de la especie.

ABSTRACT

In recent years the progress of captive breeding and husbandry procedures for Totoaba has created great interest in the regional aquaculture industry, therefore it will be necessary to produce high-quality offspring to develop the growth of a profitable industry. This study compared the performance of pure wild offspring families with first generation progeny and a "wild x first generation" cross (hybrid). A "common garden" or communal culture was developed to evaluate progeny performance during several critical stages of the culture process; Hatching (HT), feeding with rotifers (RT), feeding with artemia (AA) and feeding with formulated (FF), as well as selection for phenotypic traits of interest, such as: Small (S), large (L) and deformities analysis (DF) were applied. In order to link progeny performance to specific families the use of genetic markers was essential, where after a discriminant analysis of available indicators only one distinct microsatellite was required to unambiguously identify parentage. Growth rate and percentage of individuals with deformities (DF) were used as performance indicators and family status. Differences in growth were assessed at each stage of development and selection (S/L) using one-way ANOVA. At the HT stage a homogeneous proportion of families was evident; however in the RT stage a differential of survival between families was identified, which remained throughout the culture. In the AF stage, the domestic and "hybrid" families exhibited significantly higher growth rates compared to the wild crosses, however 82% of the individuals in the group selected of the "G" trait were assigned to the domestic family. When

evaluating the DF group, it was determined that 41% of the individuals came from the wild family with a marked reduction in the number of vertebrae. This study is the first evidence on the viability of offspring from F1 breeders to be used in future commercial production by presenting an apparently better performance with respect to their wild relatives. Therefore, it is concluded that the progeny from domestic breeders may show signs of domestication which could be beneficial for commercial production of the species..

CONTENIDO

DEDICATORIA	IIV
AGRADECIMIENTOS.....	VII
RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	III
PROLOGO.....	XII
INTRODUCCIÓN	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
Mantenimiento de reproductores	6
Selección de reproductores y diseño de apareamientos.....	7
Evaluación de la calidad del desove.....	8
Cultivo comunal	9
Asignación parental	10
Condición familiar	12
Análisis estadístico.	13
RESULTADOS.....	13
DISCUSIÓN.....	20
Calidad del desove	20
Asignación parental	21

Supervivencia	21
Crecimiento	23
Deformidades	24
Genotipos 3n	25
CONCLUSIÓN	26
REFERENCIA.....	28
RECOMENDACIONES.....	37
ANEXO.....	38

LISTA DE TABLAS

Tabla I.- Diseño experimental de las cruzas 2015-2016	6
Tabla III.- Tamaño de loci de los parentales para el microsatélite utilizado para la asignación parental “Tmac74”	12
Tabla IV.- Evaluación del potencial reproductivo de hembras.	14
Tabla II.- Evaluación de la calidad de los desoves.	15

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.- Representación de las familias en cada una de las etapas críticas de la ontogenia de cultivo y durante la selección de rasgos. EC: Eclosión, RT: Alimentación con rotífero, AA: Alimentación con artemia, AF: Alimentación con formulado, así como en la clasificación de rasgos; C: Chicas, G: Grandes y análisis de individuos deformes; DF. Sobre las barras se indica la proporción de las familias para cada una de las etapas críticas, así como de selección de rasgos y análisis de deformidades.....	16
Figura-2.- Curva de crecimiento de las familias en longitud estándar durante las etapas de cultivo	17
Figura 3.- Proporción de deformidades registradas durante el análisis de individuos con anomalías morfológicas (DF). 1: Desviación de la columna vertebral (Lordosis); 2: Reducción del número de vertebras (Enanas); 3: Opérculo; 4: Maxilares	18

Figura 4.- Evaluación de deformidades en columna vertebral por rayos-X. A:
Desviación de la columna vertebral; B: Reducción del número de
vertebras en el pedúnculo caudal (Enanas).19

PROLOGO

La Unidad de Biotecnología en Piscicultura surge como consecuencia de los avances alcanzados en la reproducción y cultivo en cautiverio de totoaba, permitido la producción de crías para el establecimiento de un programa piloto destinado al repoblamiento de la especie. Actualmente en esta unidad se mantiene una línea de reproductores silvestres, utilizados para el repoblamiento de la especie, y una línea domestica enfocada a la producción comercial, las cuales han reflejado buenos resultados desde el año 2014 en lo que respecta a la producción de crías. La idea de este estudio surge originalmente al no existir información relevante sobre la viabilidad de utilizar individuos domesticados o de primera generación de totoaba para la producción comercial en cautiverio, por lo tanto sería necesario evaluar el desempeño de su progenie y compararla con su contraparte silvestre. Por lo tanto, este estudio fue desarrollado en el año 2015 bajo las condiciones utilizadas en la Unidad de Biotecnología en Piscicultura para la producción comercial, con el objetivo de asegurar la factibilidad de mantener reproductores domesticados para la producción de cría destinada a la industria acuícola de la especie. Esta tesis fue diseñada bajo los lineamientos solicitados por la revista Aquaculture Research, con algunas modificaciones que facilitaran su lectura, esto con la finalidad de publicar los resultados obtenidos a corto plazo. A continuación se presenta la tesis en formato artículo, bajo el título de; “Evaluación del desempeño de la progenie de familias de totoaba silvestre y F1 bajo crianza comunal”.

“EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LA PROGENIE DE FAMILIAS DE TOTOABA SILVESTRE Y F1 BAJO CRIANZA COMUNAL”.

INTRODUCCIÓN

La domesticación resulta en la alteración genética de rasgos que modifican, de una a otra generación, la supervivencia, crecimiento y reproducción de organismos en condiciones de cautiverio por efecto de una selección inadvertida o dirigida (Fosså 2004; Vandeputte et al. 2009; Mäkinen et al. 2015).

El uso de poblaciones domesticadas en la acuicultura, además de reducir considerablemente los costos al no depender de la captura de reproductores silvestres (Andriantahina et al. 2012), ha mostrado ventajas tales como el aumento de las tasas de crecimiento, supervivencia y mayor tolerancia al estrés (Gjedrem 2000; Jackson et al. 2003; Garber et al. 2010; Soares et al. 2015).

Sin embargo, la producción de progenie bajo un esquema de domesticación conlleva también algunas desventajas con respecto a la que proviene de organismos silvestres tales como; la reducción en la variabilidad genética, tasas de crecimiento, supervivencia y resistencia a enfermedades, así como una mayor incidencia de deformidades (McGinnity et al. 2004).

Por las razones antes expuestas el uso de poblaciones domesticadas en acuicultura requiere de la evaluación simultánea del desempeño (crecimiento y supervivencia) de su progenie y la de su contraparte de origen silvestre,

asegurando fiabilidad en la calidad de las crías producidas para la industria acuícola.

La mayoría de los estudios donde se evalúa y compara la progenie de peces han sido desarrollados mediante la crianza individual de las familias (Garber et al. 2010), proceso que puede generar diferencias sutiles en lo que respecta al crecimiento y supervivencia por efecto de las diferencias en las condiciones ambientales (factor no genético) y de manejo entre unidades experimentales. Tales limitaciones han sido minimizadas utilizando una técnica alternativa donde las familias son criadas de forma comunal en una sola unidad de cultivo (Wang et al. 2008; Garber et al. 2010). Esta estrategia permite la mezcla de la progenie de diferentes familias antes de tener la talla adecuada para ser etiquetadas físicamente (huevos, larvas y juveniles tempranos), eliminando la variación ambiental ocasionada por las condiciones de crianza individual y reduciendo la manipulación de los sujetos experimentales. Proceso en el cual la asignación parental de la progenie a cada una de las familias puede ser efectuada posteriormente mediante el uso de marcadores moleculares.

Durante los últimos 20 años, el análisis de parentesco ha tenido un progreso constante en las especies acuícolas. Inicialmente este tipo de análisis fueron desarrollados mediante la aplicación de marcadores de DNA sencillos conocidos como AFLP's y RAPD's, sin embargo en la actualidad el uso de marcadores de DNA como microsatélites y SNP's es más factible gracias al rápido desarrollo de la tecnología de secuenciación (Yue 2014)

Los SNP's son marcadores idóneos para análisis de parentesco por su fiabilidad para un genotipado superior y un costo 5 veces menor que los microsatélites, sin embargo su uso ha sido escaso por el limitado recurso genómico disponible para la mayoría de las especies acuícolas (Portela y Fernández 2007). En consecuencia los microsatélites han sido los marcadores más ampliamente empleados en acuicultura, principalmente por las características que poseen tales como un elevado polimorfismo, expresión co-dominante, fiabilidad y sencillez técnica, así como su abundancia y ubicuidad genómica (Vandeputte y Haffray 2014; Yue y Xia 2014). Este conjunto de características han determinado su uso para análisis de parentesco en más de 20 especies acuícolas (Yue y Xia 2014), evidenciando que la asignación parental en peces de importancia para el repoblamiento o cultivo comercial puede realizarse mediante el uso de un bajo número de microsatélites (Jeong et al. 2007; Yang et al. 2014).

El análisis de parentesco en especies acuícolas mediante microsatélites ha permitido estimar parámetros genéticos en rasgos de interés comercial tales como; heredabilidad y correlaciones entre caracteres, variaciones en el éxito reproductivo entre individuos y de su progenie, así como el mejoramiento genético de las especies a través del desarrollo y aplicación de programas de reproducción y crianza selectiva (García de León et al. 1998; Portela y Fernández 2007; Rhody et al. 2014). El éxito obtenido utilizando esta herramienta ha ocasionado que sean considerados como un factor clave para que los cultivos de peces marinos puedan progresar exitosamente a escala comercial (Liu y Cordes 2004; Rhody et al. 2014)

La totoaba es un pez perteneciente a la familia Scianidae (curvinas o roncadore) que es endémico del Golfo de California y está considerado en peligro de extinción a consecuencia de una sobre explotación pesquera y por alteraciones ambientales ocasionadas a su hábitat durante la década de 1970 `s (Cisneros-Mata et al. 1995; García de León et al. 2010; Valenzuela et al. 2014; Valenzuela- Quiñonez et al. 2016). En México la especie está protegida (NOM-059- SEMARNAT-2010) y, como parte de los esfuerzos para su conservación, desde 1994 se iniciaron los estudios de reproducción y cultivo en cautiverio como una estrategia para mitigar la reducción de la población silvestre. Desde entonces se han desarrollado toda una serie de estudios enfocados a la reproducción (True 2012) y proceso de cultivo (Mata-Sotres et al. 2015), desarrollo embrionario (Morales Ortiz 1999) y larvario (Garibaldi 2002), nutrición (Lopez et al. 2006; Rueda-López et al. 2011; Lopez et al. 2014) y estimación de la variabilidad genética de la población silvestre y en cautiverio (Galarza 2002; Enríquez et al. 2008; Quezada 2010; Calderón et al. 2013; Díaz-Viloria et al. 2013; Valenzuela et al. 2014). Todos estos estudios han permitido lograr un ciclo cerrado de cultivo y garantizar la trazabilidad de la producción. Actualmente se mantiene una línea constituida por reproductores silvestres, enfocada a la repoblación de la especie y otra, proveniente de reproductores de primera generación, con un enfoque hacia la producción comercial (True 2012). Estos avances permitieron la consolidación de dos empresas en México (una para la producción de cría y otra para la engorda), estas empresas comercializan la especie como consecuencia

de su alto valor en el mercado asiático, marcando el inicio de la comercialización de totoaba procedente de cultivo.

A pesar de que se espera una demanda importante de crías con el desarrollo actual de la industria acuícola enfocada a la especie, no existen estudios en los que se evalúe cuán similar ó efectivo es el desarrollo entre sus progenies. Dichas evaluaciones permitirán identificar si el desempeño de la progenie de reproductores domésticos es fiable para la producción comercial con respecto a la progenie de origen silvestre, aclarando la factibilidad de mantener líneas domésticas. El manejo de reproductores domésticos permitiría generar líneas comerciales óptimas, mejorando la trazabilidad del producto comercial al no ser necesario introducir nuevas familias para la reproducción en cautiverio.

El presente estudio tiene como objetivo identificar si la calidad (supervivencia y crecimiento) de la progenie de reproductores domésticos es fiable para la producción comercial con respecto a sus congéneres silvestre. Se pretende que este estudio aporte las bases para el desarrollo de un esquema de trabajo adecuado que permita el control y la evaluación del desempeño de las familias que en el futuro serán utilizadas para la producción comercial y en el programa de repoblamiento. Tales avances permitirán contribuir al desarrollo de la industria acuícola de totoaba, así mismo impulsarán un progreso exitoso a escala comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

El objetivo de este diseño fue el de evaluar la calidad de las crías provenientes de familias puras, silvestre y de la primera generación (F1) producida en cautiverio, y una combinación de ambos, la cual denotamos como “híbrida” (Tabla I). Los reproductores F1 utilizados para la formación de las familias presentaban su segundo año reproductivo a los 8 años de edad, mientras que la edad para los reproductores silvestres estimó mediante la lectura de edad en escamas utilizando el método descrito por Buckmeier et al. 2012, encontrando una edad de 22 y 14 años para las hembras de la familia silvestre e “híbrida” respectivamente.

Tabla I.- Diseño experimental de las cruzas 2015-2016

Familia	Hembras	Machos
Híbrida	Silvestre	Doméstico
Silvestre	Silvestre	Silvestre
Doméstica	Doméstica	Doméstico

Mantenimiento de reproductores

Los reproductores silvestres y de primera generación (F1) utilizados forman parte del banco de la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California (DGV-S-CR-IN 1084-B.C./09). Para inducir la maduración gonadal, los reproductores se

mantuvieron en un sistema de recirculación bajo condiciones controladas de fotoperiodo y temperatura previamente descritas por True (2012).

Selección de reproductores y diseño de apareamientos

Para evaluar el potencial reproductivo de las hembras se corroboró el nivel de desarrollo ovárico mediante inserción de una cánula de plástico (2mm de diámetro interno) en la cavidad ovárica y toma de una biopsia de individuos previamente anestesiados (True 2012; Mylonas et al. 2015). Las biopsias se revisaron bajo un microscopio estereoscópico (2x) (Meiji, MZ-TR) según la metodología descrita por True (2012), y se registró el diámetro de los ovocitos, la proporción con vesícula germinal migrada y aquellos que estaban en proceso de atresia, el registro se conservó mediante fotografías digitales (PAX-it software, PAXcam, IL, USA). Por otra parte, los machos se consideraron aptos para la inducción, si presentaban espermiación al aplicar presión abdominal (True 2012; Mylonas et al. 2013).

Se indujeron 3 machos y 3 hembras con implantes de celulosa/colesterol (Sherwood et al. 1988) cargados con una dosis promedio de 100 µg/kg (True 2012) de la hormona análoga liberadora de gonadotrofinas LHRHa des-Gly¹⁰ D Ala⁶ (Sigma, USA) . A los organismos implantados se le tomó una porción de tejido de la aleta dorsal (20 mg) para obtener su perfil genético (genotipo multilocus) y posteriormente fueron trasladados al sistema de desoves, en donde se colocaron de acuerdo al diseño experimental de las cruas (Tabla I).

Evaluación de la calidad del desove

La calidad del desove se evaluó en función de la tasa de fertilización, fecundidad total y relativa. Para obtener estos valores se colocó un colector pasivo de 500 μm de abertura de malla en el rebosadero de cada uno de los tanques de desove con la finalidad de recuperar todos los huevos. Aproximadamente a las 16 h post-desove (neurulación) (Morales Ortiz 1999), periodo en donde los huevos presentan mayor resistencia (Ibarra-Castro et al. 2012), se colectaron los huevos de cada tanque durante los días en los que se presentó actividad reproductiva. Los huevos de cada desove se enjuagaron en redes de acuario con agua de mar filtrada ($<20 \mu\text{m}$ y U.V) y se transfirieron a probetas de 4 L con glucosa (15 gL^{-1}) para registrar el volumen de huevos fértiles e infértiles. La impermeabilidad que posee el corión de los huevos fértiles mantiene su concentración interna (flotabilidad) en soluciones hipertónicas durante varios minutos, permitiendo una separación más eficiente de huevos fértiles o embrionados (flotantes), de aquellos infértiles (sedimentados) al aumentar la concentración del agua. Los huevos fértiles se colectaron en cubetas de 20 L y desinfectaron con formol (10%) durante 20 min. La calidad del desove se determinó considerando un diámetro del huevo de 823 μm (Morales Ortiz 1999), de acuerdo a las siguientes relaciones:

$$(1) \text{ Fecundidad total (Ft) = (Vf + Vi) * Dh}$$

$$(2) \text{ Tasa de fertilización = (Vf * Dh) / Ft}$$

$$(3) \text{ Fecundidad relativa = Ft / W}$$

Ft= Fecundidad total, Vf= Volumen de huevos fértiles (mL), Vi= Volumen de huevos infértiles (mL), Dh= Diámetro del huevo (μm), W= Peso hembra (kg)

Cultivo comunal

El proceso de crianza se realizó de forma comunal sembrando 100,000 huevos embrionados limpios y desinfectados del segundo día de desove de cada una de las tres familias. El cultivo comunal se mantuvo en un tanque cónico (2.2 m³) del sistema larvario hasta los 28 días post-eclosión (PE), momento en el que se separaron de manera homogénea en dos tanques (500 L) del área de pre-cría. Al día 48 PE se utilizaron cribas comerciales para separar por tallas (ancho corporal) a la población total de alevines, las tallas obtenidas se mantuvieron individualmente en tanques del sistema de pre-cría: chicas (C) <4 mm, medianas (M) <4.5 mm y grandes (G) >4.5 mm).

La alimentación inició con rotíferos *Brachionus plicatilis* al día 4 PE (1 Rot/mL) hasta el día 13 PE (3 Rot/mL), cambiando paulatinamente a una alimentación con *Artemia sp.* a partir del día 11 (0.5 Art/mL) hasta el día 26 PE (3.0 Art/mL) periodo a partir del cual se les proporciono alimento formulado de distintos tamaños (Otohime, Marubeni Nissin Feed Co.LTD. Japón) a saciedad.

Las unidades de cría utilizadas durante el proceso de cultivo comunal estuvieron acopladas a sistemas de recirculación bajo condiciones controladas de fotoperiodo (12:12) y temperatura (22-24°C).

Asignación parental

La colecta de la progenie para efectuar las pruebas de paternidad consistió en la captura aleatoria de 75 individuos en cada etapa crítica del proceso de cultivo: Eclosión (EC), alimentación con rotífero (RT), alimentación con artemia (AA), alimentación con formulado (AF). Asimismo se seleccionaron individuos de acuerdo a rasgos de interés para el cultivo: Chicas (C), grandes (G) y para un análisis de deformidades (DF).

Del total de los organismos muestreados en cada etapa o grupo por rasgos fenotípicos, se extrajo ADN en 50 de ellos y se almacenaron a -70°C los 20 restantes. Para las etapas de EC/RT/AA se emplearon individuos completos para extraer el ADN mediante el kit “DNeasy Blood and Tissue Kit” (Qiagen, USA), siguiendo el protocolo del fabricante pero usando solo la mitad de los volúmenes indicados. Por su parte, para la etapa AF y las categorías fenotípicas C/G/DF la extracción se realizó a partir de una porción de tejido epitelial de la aleta dorsal (~20 mg) y siguiendo el protocolo descrito por Aljanabi y Martínez (1997). Las muestras fueron almacenadas a -20°C hasta su procesamiento.

Como parte del trabajo de trazabilidad genética que se lleva a cabo en la Unidad de Biotecnología en Piscicultura, todos los reproductores se encuentran genotipificados con un conjunto de 24 marcadores microsatélites desarrollados

para distintas especies de sciánidos (Anexo 1), cuyos perfiles de amplificación fueron optimizados para totoaba. Para definir el número de loci que serían necesarios para asignar sin ambigüedad la paternidad en las muestras de la progenie, se realizó una revisión del genotipo multilocus de los reproductores. Como puede apreciarse en la Tabla II, el polimorfismo característico del microsatélite Tmac74 (García de León et al. 2010) resultó suficiente para garantizar la asignación a la familia de origen. La amplificación del locus seleccionado mediante PCR se llevó a cabo para todas las muestras de la progenie empleando un termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient y en un volumen final de 15 µl de reacción con 22 mM de Tris-HCl pH 8.4, 55 mM de KCl, 0.22 mM de dNTP's, 1.5 mM de MgCl₂, 0.22 u de Taq DNA polimerasa (GeneMate®), 0.13 µM de cebador directo marcado con etiqueta M13 (Schuelke 2000), 0.2 µM de cebador inverso, 0.2 µM del cebador universal M13 marcado con fluorocromo y entre 15 y 25 ng de ADN. El perfil de temperaturas empleado consistió de una desnaturalización inicial a 94°C por 180 s, seguidos de 25 ciclos de desnaturalización a 96 ° C por 20 s, y a 56 ° C por 40 s de hibridación y 72 ° C por 40 s de extensión. Posteriormente se adicionaron 8 ciclos de desnaturalización a 96°C por 20 s, y a 53°C por 40 s de hibridación y 72°C por 40 s de extensión y un periodo adicional de extensión final de 15 min a 70°C. Los productos de la amplificación fueron evaluados por electroforesis en un gel de agarosa al 1.5% con bromuro de etidio (0.5 µg/mL) y posteriormente analizados de forma automatizada en un secuenciador ABI 3700 (Applied Biosystems) en un laboratorio comercial (SeqXcel, Inc., San Diego, CA). La

asignación parental se llevó a cabo en el programa GeneMarker v2.6.3 a partir de las lecturas automatizadas del tamaño de los fragmentos amplificados.

Tabla II.- Tamaño de loci de los parentales para el microsatélite utilizado para la asignación parental “Tmac74”.

	Familia					
	Híbrida		Silvestre		Doméstica	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Tmac74	151	131	151	137	157	161
	151	139	151	151	165	163

Condición familiar

La tasa de crecimiento y el porcentaje de individuos con deformidades evidentes del grupo “DF” se usaron como indicadores del desempeño y la condición familiar. La evaluación de la tasa de crecimiento se realizó con base en la longitud estándar promedio en cada etapa de desarrollo (EC /RT /AA /AF) y en los grupos de selección de rasgos fenotípicos (C /G), la cual se determinó a partir de registros fotográficos de cada individuo sobre un microscopio estereoscópico (Meijí, MZ-TR) y con ayuda de un software especializado (PAX-it software, PAXcam, IL, USA). Por su parte, se registró la naturaleza de la deformidad para cada individuo perteneciente al grupo “DF”, fueron expuestos a rayos X y la evaluación visual de la placa.

Análisis estadístico.

Después de corroborar si los datos morfométricos cumplían con los supuestos básicos de normalidad y homocedasticidad se procedió a evaluar las diferencias en longitud estándar para cada una de las etapas de desarrollo mediante una ANOVA paramétrica de una vía. Por otra parte, al no ajustarse una distribución normal, la proporción de huevos viables e inviables entre cada desove de cada una de las familias se evaluó a través de una comparación múltiple (no paramétrica). Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa Statistica 7 para Windows con un nivel de significancia estadística al 95% ($\alpha=0.05$).

Resultados

La hembra de la familia “híbrida” presentó ovocitos ligeramente más grandes y mayor frecuencia de núcleos migrados con respecto a los de la familia silvestre (Tabla III), aunque estas diferencias no resultaron significativas ($p=0.13$). Aunque no fue posible obtener una biopsia ovárica para evaluar el potencial reproductivo de la hembra doméstica, la distensión abdominal que presentó fue similar al de las hembras de las otras familias, reflejando un estado de madurez apropiado para inducir el desove. El único aspecto que debe resaltarse en cuanto al potencial reproductivo, fue la presencia de una importante proporción de ovocitos atrésicos en la hembra de la familia “híbrida” (Tabla III).

Tabla III.-Evaluación del potencial reproductivo de hembras

	Familia		
	Híbrida	Silvestre	Doméstica
Origen	Silvestre (n=24)	Silvestre (n=40)	F1
Diámetro de ovocitos ($\mu\text{m} \pm \text{ds}$)	597 $\pm$ 80	568 $\pm$ 68	--
Vesícula germinal Migrada (%)	58%	55%	--
Vesícula germinal central (%)	42%	45%	--
Atresia (%)	17%	0%	--

El valor más alto en fecundidad total y tasa de fertilización se obtuvo de la familia silvestre (Tabla IV), sin embargo no existen diferencias significativas entre las hembras de las diferentes familias. La hembra de la familia “híbrida” presentó una fecundidad relativa ligeramente mayor que la familia silvestre, mientras que el valor más bajo lo presento la familia doméstica (Tabla IV).

Tabla IV.-Evaluación de la calidad de los desoves.

	Familia		
	Híbrida	Silvestre	Doméstica
Origen (♂ / ♀)	F1 / Silv	Silv / Silv	F1 / F1
Edad (♀)	14	22	8
Peso ♀ (kg)	27	52	24
Numero de puestas	8	8	3
Volumen total (mL)	7,895	14,240	2,900
Fecundidad total (10³ huevos)	6,498	11,720	2,387
Fecundidad relativa (10³ huevos/kg ♀)	241	225	153
Tasa de fertilización (±ds)	0.61 ± 0.2	0.66 ± 0.2	0.49 ± 0.4
<i>Diámetro del huevo= 823 µm</i>			

La genotipificación fue exitosa en todas las muestras analizadas, lo que permitió identificar y asignar a los individuos de muestra comunal a la familia correspondiente. Durante la primera etapa de muestreo (EC), la proporción de individuos de cada familia fue homogénea en la unidad de crianza comunal, pero la supervivencia de la familia silvestre disminuyó durante la etapa de “RT” y se mantuvo baja durante el resto de la evaluación en el cultivo (Fig.1).

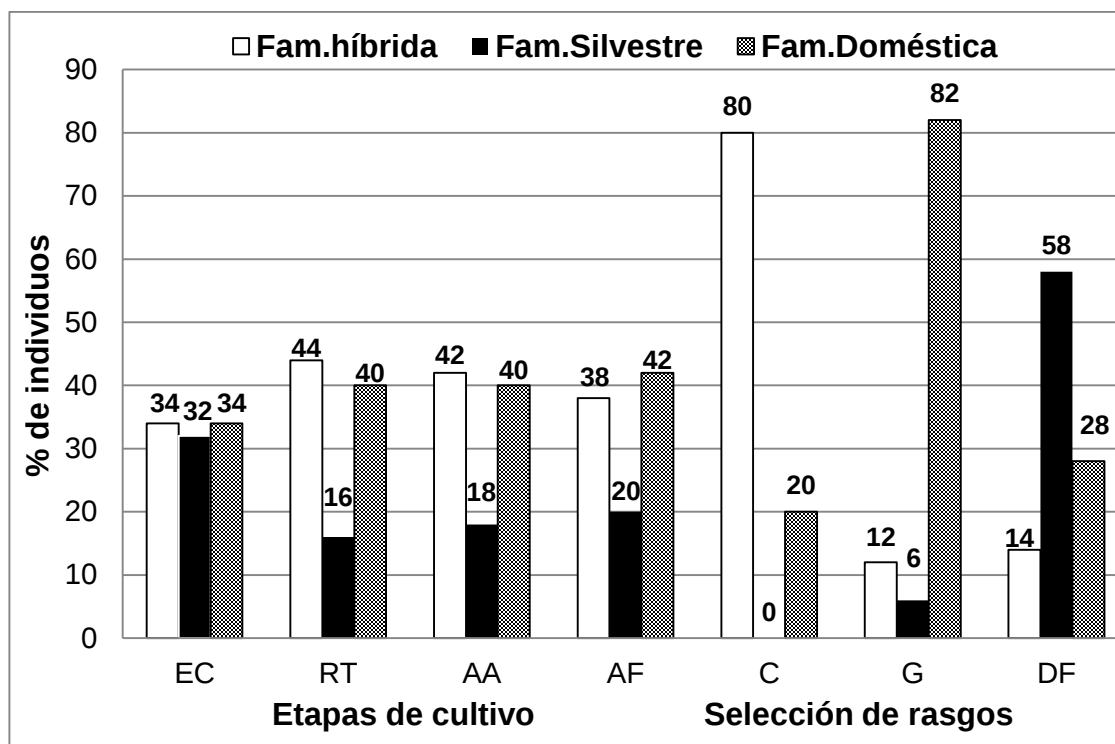


Figura 1.- Representación de las familias en cada una de las etapas críticas de la ontogenia de cultivo y durante la selección de rasgos. EC: Eclosión, RT: Alimentación con rotífero, AA: Alimentación con artemia, AF: Alimentación con formulado, así como en la clasificación de rasgos; C: Chicas, G: Grandes y análisis de individuos deformes; DF. Sobre las barras se indica la proporción de las familias para cada una de las etapas críticas, así como de selección de rasgos y análisis de deformidades.

Durante la etapa “EC”, la progenie de la familia “híbrida” presentó diferencias significativas en longitud estándar con respecto a la familia silvestre ($p=0.02$), pero no se evidenciaron diferencias al compararlas con la familia doméstica (Fig. 2). Para la etapa de “RT”, la longitud estándar no fue significativamente distinta entre familias, pero durante la etapa “AA” la familia doméstica tuvo un crecimiento significativamente mayor al de “híbrida” (Fig. 2). Por su parte, al

exhibir la supervivencia más baja y una mayor heterogeneidad en tallas, la familia silvestre resultó similar a las otras familias.

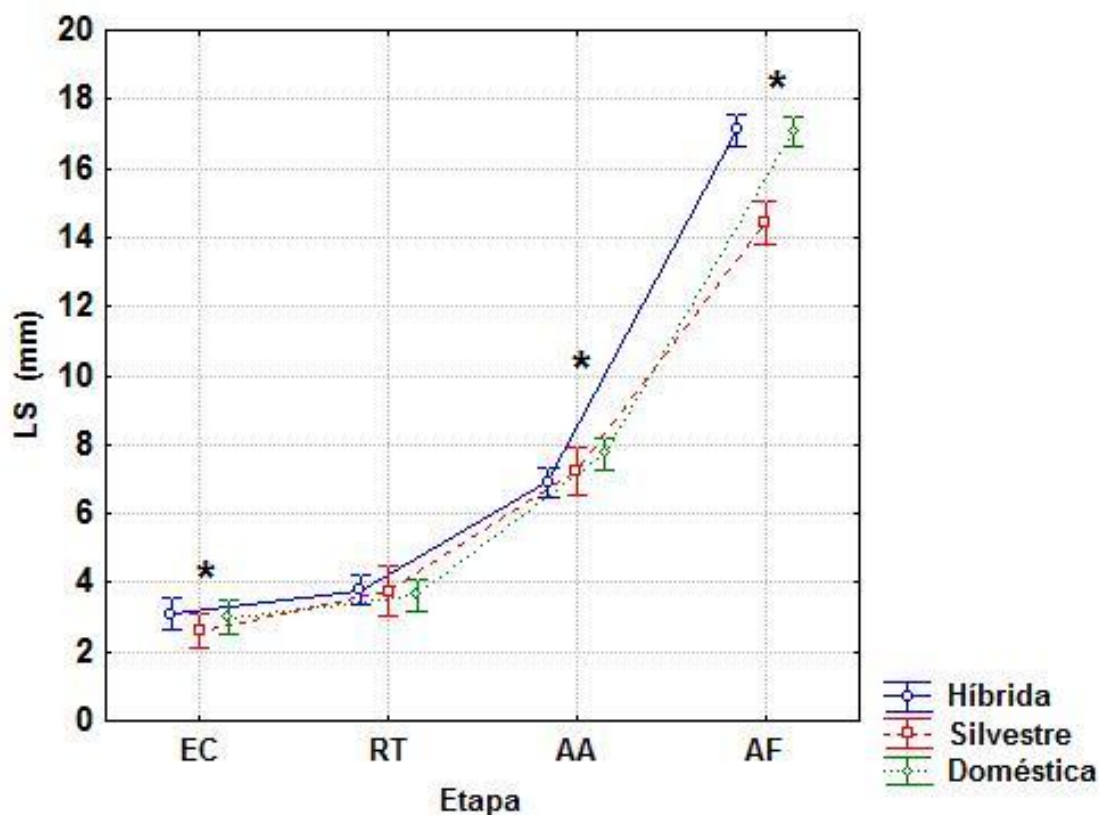


Figura-2.- Curva de crecimiento de las familias en longitud estándar durante las etapas de cultivo. La presencia de diferencias significativas entre dos o más familias están indicadas sobre cada una de las etapas de cultivo con un asterisco*.

Finalmente, en la etapa de AF las familias doméstica e “híbrida” mostraron un crecimiento significativamente mayor al compararlas con la silvestre (Fig. 2). De hecho, el 82% de los individuos del grupo seleccionado por presentar tallas mayores a los 4.5 mm (ancho corporal), fueron asignados a la familia doméstica.

Al analizar los individuos con deformidades (DF), se determinó que un 41% provenía de la familia silvestre. En particular, de los 4 tipos de deformidades observadas (Fig. 3; lordosis, enanismo, opérculo anormal y maxilar anormal), 88% de los individuos de esta familia presentaron una marcada reducción en el número de vertebras (Fig. 4; enanismo).

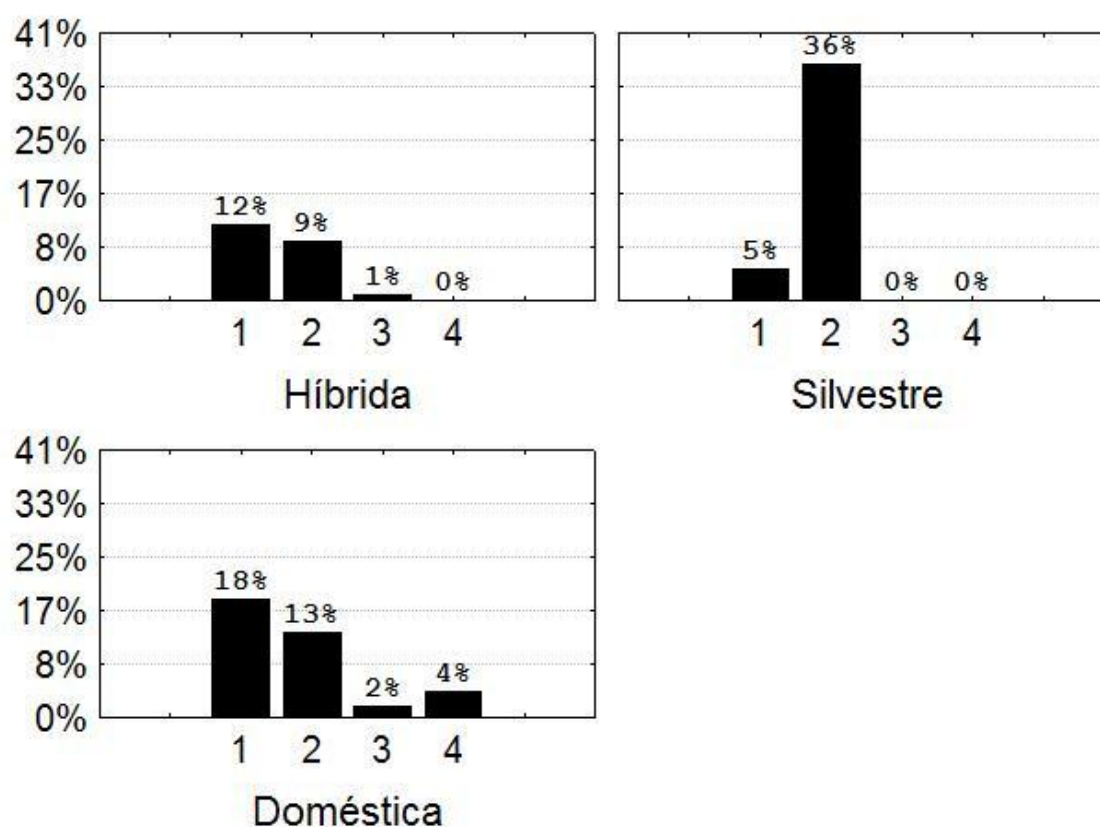


Figura 3.- Proporción de deformidades registradas durante el análisis de individuos con anomalías morfológicas (DF) (n=50). 1: Desviación de la columna vertebral (Lordosis); 2: Reducción del número de vertebras (Enanas); 3: Opérculo; 4: Deformidades en Maxilares

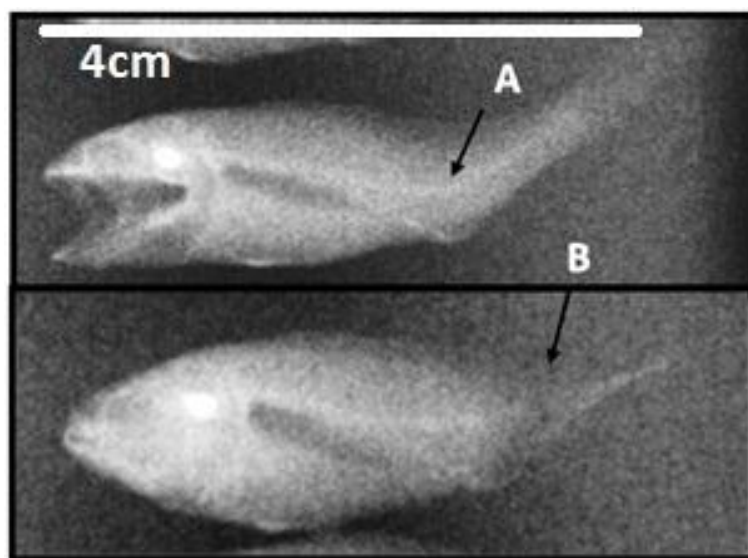


Figura 4.- Evaluación de deformidades en columna vertebral por rayos-X. A: Desviación de la columna vertebral; B: Reducción del número de vertebras en el pedúnculo caudal (Enanas).

Otro hallazgo relevante, pero que no fue posible explorar con mayor detalle, fue la ocurrencia de una aparente trisomía en el grupo de rasgos “C” (<4 mm). Un total de 7 individuos presentaron 3 alelos y fueron asignados a la familia “híbrida” (17.5%).

Discusión

Se realizó un análisis comparativo entre la calidad (supervivencia y crecimiento) de la progenie de diferentes cruas de totoaba en un ambiente comunal con la finalidad de aclarar si la calidad de la progenie de reproductores domesticados es apta para la producción comercial con respecto a sus congéneres silvestres.

Calidad del desove

Las familias con hembras silvestres mostraron una calidad de desove mayor (tasa de fertilización, fecundidad total y relativa) al compararlas con la doméstica. La tendencia de estos resultados fueron observados en el meagre (*Argyrosomus regius*) por Soares y colaboradores (2015) quienes reportan en peso un desove mayor para reproductores silvestre ($582 \pm 165\text{g}$) al compararlo con reproductores F1 ($81 \pm 50\text{g}$) y dicho resultado es asociado frecuentemente al tamaño corporal y a la edad de la hembra. Diversos estudios han reportado que el tamaño corporal de las hembras tiene una correlación positiva con la fecundidad total (Kamler 2005; McElroy et al. 2016), probablemente debido a un aumento del área disponible en la cavidad ovárica para la formación de ovocitos (Patterson et al. 2013). El efecto del tamaño corporal fue evidente al comparar la fecundidad total de la hembra silvestre con las hembras doméstica e “híbrida”, sin embargo la familia “híbrida” presentó una tasa de fertilización ligeramente mayor. El aumento de la fecundidad total y reducción de la fecundidad relativa, tal como se observó en este estudio al comparar la hembra de la familia silvestre e “híbrida”, es un fenómeno que ha sido observado en hembras con edad superior al

promedio (viejas) y es asociado a una reducción de la capacidad para dirigir las reservas necesarias para el desarrollo del huevo (Abdoli et al. 2005).

Asignación parental

Los resultados demostraron que la progenie de 3 familias, criados en ambiente comunal, pueden ser asignadas parentalmente sin ambigüedad con un solo microsatélite. La asignación de la progenie permitió analizar diferencias en crecimiento y supervivencia entre cada una de las familias a través del periodo de cultivo. Este enfoque ha sido aplicado para una gran variedad de especies de peces tales como la lobina europea (*Dicentratux labrax*) (Garcia de Leon et al. 1998), el bacalao del atlántico (*Gadus morhua*) (Garber et al. 2010), el barramundi (*Lates calcifer*) (Domingos et al. 2014) y entre otras.

Supervivencia

En la etapa de “EC” la proporción de las familias fue homogénea, lo cual es un indicador de que la tasa de eclosión fue similar entre las familias y marcó el inicio como equitativo en la crianza comunal brindando las mismas condiciones a cada una de las familias. A partir de la etapa de “RT” se observó una proporción menor de individuos de la familia silvestre, situación a menudo observada durante la crianza comunal, en la cual existe un diferencial de supervivencia de ciertas cruas. Este fenómeno ha sido observado durante la crianza comunal de algunas especies de peces tales como el bacalao del atlántico (*Gadus morhua*) (Doyle et al. 1995), lenguado del atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*) (Jackson et al. 2003) y jurel aleta amarilla (*Seriola lalandi*) (Knibb et al. 2016), donde la progenie

de ciertas familias destaca por sus características en etapas tempranas de desarrollo (Kamler 2005; Patterson et al. 2013; Harris et al. 2015; Knibb et al. 2016) y es atribuido regularmente al proceso de selección artificial o inadvertida que se presenta durante el cultivo (Doyle et al. 1995), así como a la condición de las hembras; edad, estrés, experiencia reproductiva y tamaño corporal (Thorsen et al. 2003; Abdoli et al. 2005).

Una mejor supervivencia para la progenie de reproductores F1 con respecto a sus congéneres de origen silvestre, tal como se observó en este estudio, ha sido reportada por Knibb y colaboradores (2016), quienes mencionan que puede deberse a una respuesta de selección correlacionada al criterio de selección primario (tamaño del adulto), o debido a la selección inadvertida, por el hecho de que los reproductores seleccionados son larvas que ya han sobrevivido a las condiciones de crianza en cautividad. El efecto de la selección inadvertida podría generar una respuesta sustancialmente superior en rasgos beneficiosos en cautividad, pero que pudieran representar una desventaja en el medio natural (Herbinger et al. 1995; Vandeputte et al. 2004; Milot et al. 2013). Por consecuencia el desempeño aparentemente superior de la progenie de la familia doméstica (reproductores F1), observado en este estudio, podría ser considerado como un paso adelante en el mejoramiento de la producción de crías de totoaba destinadas al desarrollo acuícola rentable. Sin embargo, desde el punto de vista de un futuro programa de suplementación o repoblamiento se recomienda profundizar en el estudio del efecto de la domesticación sobre el desempeño de estos individuos en condiciones naturales.

Crecimiento

Se observó en la etapa de “EC” que la familia “híbrida” presentó una longitud estándar (LS) significativamente mayor que la silvestre, sin embargo esta diferencia no fue evidente al compararlas con la familia doméstica. Aristizabal y colaboradores (2009) mencionan que estas diferencias pueden atribuirse a disparidad en el tamaño, la edad y el genotipo de los reproductores. En la etapa de “RT” se identificó una desviación estándar muy amplia en la familia silvestre asociada a una baja supervivencia (Fleming y Einum 1997; Abdoli et al. 2005), como consecuencia no se presentaron diferencias significativas en crecimiento. En la etapa “AF”, las familias “híbrida” y doméstica exhibieron un crecimiento significativamente mayor con respecto a la silvestre. Las familias “híbrida” y doméstica no presentaron diferencias significativas en la etapa de “AF”, sin embargo en la clasificación de rasgos se observó una mayor proporción de la familia doméstica representada en las crías de mayor tamaño “G”. La mejora del crecimiento observada en este estudio para la progenie de reproductores F1 fue similar a los resultados reportados por Ogata et al. (2002) quienes obtuvieron una mejora en crecimiento para el lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*) en apenas la segunda generación domesticada, sin embargo Vandeputte et al. (2009) reportaron un desempeño similar entre la descendencia de machos silvestres y domésticos de lobina europea, lo cual asocia al hecho de que sus machos eran apenas de primera generación. La mejora en crecimiento reportada por Ogata y colaboradores (op.cit) para la segunda generación bajo domesticación y el desempeño aparentemente mejor, observado en este estudio

para la progenie de reproductores F1, podrían ser evidencia de que el efecto de la selección inadvertida (domesticación) puede ser identificado en las primeras generaciones bajo domesticación. Por otro lado, los resultados obtenidos en este estudio, así como los reportados por Vandeputte y colaboradores (op.cit) demuestran que la progenie de reproductores domésticos puede ser favorables para la producción comercial al presentar un desempeño similar o superior.

El crecimiento intermedio presentado por la familia “híbrida” puede estar asociado a la acción de la genética aditiva, aspecto que contempla que los alelos contribuyen de igual manera, produciendo un fenotipo intermedio (Bryden et al. 2004).

Deformidades

Ante este rasgo de selección la familia silvestre representó el 41% de los individuos, dominando en esta familia una marcada reducción y/o fusión de vertebras “enanas” en el pedúnculo caudal (88%). Esta malformación puede estar controlada en parte por el factor genético (Knibb et al. 2016), sin embargo la probabilidad aparenta ser muy baja al presentarse esta deformidad en todas las familias. Por consecuencia no puede descartarse el hecho de que hayan sido ocasionadas por causas comunes como la dieta o el manejo de los peces (Derayat et al. 2013). Derayat et al. (2003) menciona que en juveniles de bacalao las malformaciones de la columna vertebral ocasionadas por alguna deficiencia nutricional o de cultivo podrían afectar su comportamiento de alimentación y

habilidad de nado, dejando un crecimiento lento y una alta mortalidad, tal como se observó en este estudio para la familia silvestre.

Genotipos 3n

En la etapa de selección “C” se observó un fenómeno que inicialmente se consideró como una trisomía. Pero mediante posterior análisis se ha confirmado como triploidía en el 17.5% de los individuos asignados a la familia “híbrida”. Este hallazgo pudo ser confirmado como una triploidía al ampliar el análisis utilizando 4 microsatélites distintos para 4 de estos individuos, obteniendo un patrón de 3 alelos para 2 individuos en al menos otro de los marcadores, indicando la presencia de 3 cromosomas para más de un par cromosómico. Sin embargo, por la falta de material biológico fue imposible confirmar mediante una prueba de cariotipado.

La incidencia de triploidía espontánea es un fenómeno poco común, sin embargo ha sido observado en algunas especies de peces en cautiverio como la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y el esturión blanco (*Acipenser transmontanus*). Este fenómeno es asociado al proceso post-ovulatorio/atresia y a temperaturas extremas, lo cual aparentemente inhibe la segunda división meiótica y bloquea la extrusión del segundo cuerpo polar (Aegerter y Jalabert, 2004; Flajšhans et al. 2007; Schreier et al. 2013). Flajshans et al. (2007) menciona que algunas especies no presentan diferencias fenotípicas entre tríplodes y sus con específicos diploides, por lo tanto recomendamos que se desarrollen las pruebas de las implicaciones sobre éste fenómeno para la producción comercial, ya que

comúnmente los organismos tríploides no presentan maduración sexual y podrían poseer características de valor para el cultivo. Por otro lado, será necesario indagar sobre la frecuencia de este fenómeno en la especie y las posibles implicaciones para el programa de repoblamiento.

Conclusión

En este estudio se observó que el enfoque de crianza comunal para totoaba puede ser desarrollado para 3 familias usando solo microsatélites para efectuar la asignación parental, permitiendo evaluar y comparar el crecimiento, la supervivencia y tasa de deformidades en la progenie de cada una de las familias. Este enfoque permitirá desarrollar un protocolo de trabajo adecuado para la evaluación y control del desempeño de las familias que serán utilizadas en el futuro para la producción comercial y el programa de repoblamiento. Este estudio sugiere las primeras pruebas sobre la viabilidad de la progenie de reproductores F1 para ser utilizada en la producción comercial al presentar en cautiverio un desempeño aparentemente mejor en crecimiento y supervivencia comparado con sus congéneres silvestres, lo que permitiría mejorar la trazabilidad del producto comercial al no ser necesario introducir frecuentemente nuevas familias para la producción en cautiverio. En este estudio se evaluó el desempeño de la progenie de una sola familia para cada uno de los orígenes, por ende serán necesarios futuros estudios que comparen el desempeño de la progenie de un mayor número de familias puras e “híbridas” para asegurar que la mejora del desempeño exhibida por la progenie de reproductores domésticos sea el

resultado de una selección inadvertida (domesticación) y no del genotipo individual. Por lo tanto, es indispensable que estos estudios sean desarrollados considerando los diversos factores que están asociados a variaciones en el desempeño entre las familias tales como; la edad, el tamaño corporal y el tamaño del huevo.

Por lo tanto se concluye que la progenie de reproductores F1 muestra viabilidad para ser utilizado en la producción comercial, lo que permitiría mejorar la trazabilidad del producto comercial al completar el ciclo completo de cultivo en cautiverio.

Referencia

1. Abdoli, A. Pont, D. y Sagnes, P., 2005. Influence of female age, body size and environmental conditions on annual egg production of the bullhead. *Journal of Fish Biology*, 67(5), 1327–1341.
2. Aegerter, S. y Jalabert, B., 2004. Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 231(1–4), 59–71.
3. Andriantahina, F. Liu, X. Huang, H. Xiang, J y Yang, C., 2012. Comparison of reproductive performance and offspring quality of domesticated Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 324, 194–200.
4. Bryden, C.A., Heath, J.W. y Heath, D.D., 2004. Performance and heterosis in farmed and wild Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) hybrid and purebred crosses. *Aquaculture*, 235(1–4), 249–261.
5. Buckmeier, D.L., Smith, N.G. y Reeves, K.S., 2012. Utility of Alligator Gar Age Estimates from Otoliths, Pectoral Fin Rays, and Scales. *Transactions of the American Fisheries Society*, 141(6), 1510–1519.
6. Cisneros-Mata, M. Montemayor-Lopez, G. y Roman-Rodriguez, M., 1995. Life History and Conservation of Totoaba. *Conservation Biology*, 9 (4), 806–814.
7. Derayat, A. Magnússon, Á. y Steinarsson, A., 2013. Growth and gonadal development in diploid and triploid Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 39(5), 1195–1203.

8. Domingos, J. A. Smith-Keune, C. y Jerry, D.R., 2014. Fate of genetic diversity within and between generations and implications for DNA parentage analysis in selective breeding of mass spawners: A case study of commercially farmed barramundi, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*, 424–425, 174–182.
9. Doyle, R.W. Herbinger, C. Taggart, C.T. y Lochmann, S., 1995. Use of DNA microsatellite Polymorphism to Analyze Genetic Correlations between Hatchery and Natural Fitness. *American Fisheries society Symposium*, 15, 205–211.
10. Farias IP, Muñiz LB, Astolfi-filho S, Sampaio I. 2006. Isolation and characterization of DNA microsatellite primers for *Cynoscion acoupa*, the most exploited sciaenid fish along the coast of Brazil. *Molecular Ecology Notes*. Vol. 6, issue 3, pages 660-663.
11. Flajšhans, M. Kohlmann, K. y Ráb, P., 2007. Autotriploid tench *Tinca tinca* (L.) larvae obtained by fertilization of eggs previously subjected to postovulatory ageing in vitro and in vivo. *Journal of Fish Biology*, 71(3), 868–876.
12. Fleming, I. A. y Einum, S., 1997. Experimental tests of genetic divergence of farmed from wild Atlantic salmon due to domestication. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 54(6), 1051–1063.
13. Fosså, S.A., 2004. Man-made fish: domesticated fishes and their place in the aquatic trade and hobby. *OFI Journal*, 44(1), 3–4, 6-10, 12-16.
14. Garber, A.F. Tosh, J.J. Susan, E.F. Hubert, S. Simpson, G. Symonds, J,E, Robinson, J.A.B. Bowman, S. y Trippel, E.A., 2010. Survival and growth traits

- at harvest of communally reared families of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, 307(1–2), 12–19.
15. Garcia de Leon, F.J. Canonne, M. Quillet, E. Bonhomme, F. y Chatain, B., 1998. The application of microsatellite markers to breeding programmes in the sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 159(3–4), 303–316..
 16. García de León, F.J. Valles-Jimenez, R. Shaw, K. Ward, R. Anda -Montañez, J. A. y Martínez-Delgado M.E., 2010. Characterization of fourteen microsatellite loci in the endemic and threatened totoaba (*Totoaba macdonaldi*) from the Gulf of California. *Conservation Genetics Resources*, 2, 219–221.
 17. Sandoval, G. G., 2002. Desarrollo morfológico de *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1980) durante su estadio larval (Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma de Baja California. México.
 18. Gjedrem, T., 2000. Genetic improvement of cold-water fish species. *Aquaculture Research*, 31, 25–33.
 19. Harris, L.J., Sellars, M.J. y Perez, F., 2015. Differential family-based survival of Pacific White shrimp during communal larval culture and implications for selective breeding programs. *Aquaculture International*, 24(1), 273–279.
 20. Herbinger, C.M. Doyle, R.W. Pitman, E.R. Paquet, D. Mesa, K.A. Morris D.B. Wright, J.M. y Cook D., 1995. DNA fingerprint based analysis of paternal and maternal effects on offspring growth and survival in communally reared rainbow trout. *Aquaculture*, 137(1–4), 245–256.

21. Ibarra-Castro, L., Muñoz-Meza, L.E. y Álvarez-Lajonchère, L., 2012. Estudios sobre el manejo e incubación de huevos del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* (Pisces, Lutjanidae). *Hidrobiologica*, 22(1), 49–57.
22. Jackson, T.R., Martin-Robichaud, D.J. y Reith, M.E., 2003. Application of DNA markers to the management of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) broodstock. *Aquaculture*, 220(1–4), 245–259.
23. Jeong, D.S. Gonzalez, E.B. Morishima, K. Arai, K. y Umino, T., 2007. Parentage assignment of stocked black sea bream *Acanthopagrus schlegelii* in Hiroshima Bay using microsatellite DNA markers. *Fisheries Science*, 73(4), 823–830.
24. Karlsson S, Renshaw M, Rexroad III C.E, Gold J. 2008. PCR primer pairs for 100 microsatellites in red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Molecular Ecology Notes* 8:393-398.
25. Kamler, E., 2005. Parent–egg–progeny relationships in teleost Fishes: An Energetics Perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15(4), 399–421.
26. Knibb, W. Miller, A. Quinn, J. D`Antignana, T. y Nfuyen, N.H., 2016. Comparison of lines shows selection response in kingfish (*Seriola lalandi*). *Aquaculture*, 452, 318–325.
27. Liu, S. Palti, Y. Gao, G. y Recroad, C.E., 2016. Development and validation of a SNP panel for parentage assignment in rainbow trout. *Aquaculture*, 452, 178–182.

28. Liu, Z.J. y Cordes, J.F., 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 238(1–4), 1–37.
29. Lopez, L.M. Durazo, E. Rodríguez-Gomez, A. True, C.D. y Viana, M.T., 2006. Composición proximal y perfil de ácidos grasos de juveniles silvestres y cultivados de *Totoaba macdonaldi*. *Ciencias Marinas*, 32 (2), 142–151.
30. Lopez, L. M. Flores-Ibarra, M. Bañuelos-Vargas, I. Galaviz, M.A. y True, C.D., 2014. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Biochemistry and Molecular Biology*, 170(1), 18–25.
31. Mäkinen, H. Asemägi, A. McGinnity, P. Cross, T.F. y Primmer, C.R., 2015. Population genomic analyses of early-phase Atlantic Salmon (*Salmo salar*) domestication/captive breeding. *Evolutionary Applications*, 8(1), 93–107.
32. Mata-Sotres, J.A., Lazo, J.P. y Baron-Sevilla, B., 2015. Effect of age on weaning success in totoaba (*Totoaba macdonaldi*) larval culture. *Aquaculture*, 437, 292–296.
33. McElroy, W.D. Wuenschel M.J- Towle, E.K. y McBride, R.S., 2016. Spatial and annual variation in fecundity and oocyte atresia of yellowtail flounder, *Limanda ferruginea*, in U.S. waters. *Journal of Sea Research*, 107, 76–89.
34. McGinnity, P. Prodohl, P. Maoileidigh, N.O. Hynes, R. Cotter, D. Baker, N. O`Hea, B. y Ferguson, A., 2004. Differential lifetime success and performance of native and non-native Atlantic salmon examined under communal natural conditions. *Journal of Fish Biology*, 65(Suplemento A), 173–187.

35. Milot, E. Perrier, C. Papillon, L. Dodson, J.J. y Bernatchez, L., 2013. Reduced fitness of Atlantic Salmon released in the wild after one generation of captive breeding. *Evolutionary Applications*, 6(3), 472–485.
36. Morales-Ortiz, C., 1999. Descripción del desarrollo embrionario de Totoaba (*Totoaba macdonaldi*) bajo condiciones de laboratorio (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Baja California, México.
37. Mylonas, C.C. Mitrizakis, N. Castaldo, C.A. Cerviño, C.P. Papadaki M. y Sigelaki, I., 2013. Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity II. Hormonal induction of spawning and monitoring of spawning kinetics, egg production and egg quality. *Aquaculture*, 414–415, 318–327.
38. Mylonas, C.C. Fatira, E. Karkut, P. Papadaki, M. Sigelaki y I. Duncan, N.J., 2015. Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity III. Comparison between GnRHa implants and injections on spawning kinetics and egg/larval performance parameters. *Aquaculture*, 448, 44–53.
39. O`Malley KG, Abbey CA, Ross K, Gold JR. 2003. Microsatellite DNA markers for kinship analysis and genetic mapping in red drum, *Sciaenopsocellatus* (Sciaenidae, Teleostei). *Molecular Ecology Notes*. Volume 3, Issue 1, pages 155–158
40. Patterson, J.T., Allgood, T.G. y Green, C.C., 2013. Intraspecific variation in reproductive potential with maternal body size in Gulf killifish *Fundulus grandis*. *Aquaculture*, 384–387, 134–139.

41. Piller KR, Cordes LM. 2011. Development and characterization of 12 polymorphic microsatellite loci in the Spotted Seatrout, *Cynoscion nebulosus* (Teleostei: Sciaenidae). *Molecular Ecology Resources*.11:418-421.
42. Portela, P.M. y Fernández, J., 2007. Análisis De Parentesco Mediante El Uso De Marcadores Moleculares. In J. Espinosa de los Monteros. (ed). Leído en *Genetica y Genomica en Acuicultura*. Madrid. Observatorio español de acuicultura; 241–299.
43. Renshaw MA, Gawriluk TR, Gold JR. 2009. Characterization of red drum microsatellite 151 markers in spotted seatrout. *North American Journal of Aquaculture*, 71, 374-379.
44. Renshaw MA, Hollenbeck CM, Gold JR. 2012. Isolation of microsatellite markers from red drum, *Sciaenops ocellatus*, and characterization in red drum and spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*. *Molecular Ecology Resources*12: 570-572.
45. Rhody, N.R. Neidig, C.L. Grier, H.J. Main, K.L. y Migaud, H., 2014. Parental contribution and spawning performance in captive common snook *Centropomus undecimalis* broodstock. *Aquaculture*, 432, 144–153.
46. Rueda-López, S. Lazo, J.P. Correa, R.G. y Viana, M.T., 2011. Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*, 319(3–4), 385–390.
47. Schreier, A.D., May, B. y Gille, D.A., 2013. Incidence of spontaneous autopolyploidy in cultured populations of white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*, 416–417, 141–145.

48. Soares, F. Ribeiro, L. Gamboa, M. Duarte, S. Mendes A.C. Castanho, S. Barata, M. Lourenco, T.M. y Pousão-Ferreira, P, 2015. Comparative analysis on natural spawning of F1 meagre, *Argyrosomus regius*, with wild broodstock spawns in Portugal. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(6), 1509-1514.
49. Thorsen, A., Trippel, E. A. y Lambert, Y., 2003. Experimental methods to monitor the production and quality of eggs of captive marine fish. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 33, 55–70.
50. True, C.D., 2012. Desarrollo de la biotecnia de cultivo de la totoaba (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Baja California, México.
51. Valenzuela-Quiñonez, F. De-Anda-Montañez, J. A. Gilbert-Horvath, E. y Garza, J.C., 2016. Panmixia in a critically endangered fish: The totoaba (*Totoaba macdonaldi*) in the Gulf of California. *Journal of Heredity*, 1-8.
52. Valenzuela, F. García de León, F. Anda-Montañez, J. Arreguín-Sanchez, F. Garza, J. C. y Salas-Márquez, S., 2014. Genética y Dinámica poblacional de la totoaba (*totoaba macdonaldi*, Gilbert, 1891) en el golfo de california (Tesis de doctorado). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C., México.
53. Vandeputte, M. Kocour, M. Mauger, S. Dupont-Nivet, M. Guerry, D.D. Rodina, M. Gela, D. Vallod, D. Chevassus, B. y Linhart, O., 2004. Heritability estimates for growth-related traits using microsatellite parentage assignment in juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 235(1–4), 223–236.
54. Vandeputte, M. Dupont-Nivet, M. Haffray, P. Chavanne, H. Cenadelli, S. Parati, K. Vidal, M.O. Vergnet, A. y Chatain, B., 2009. Response to

- domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks. *Aquaculture*, 286 (1–2), 20–27.
55. Vandeputte, M. y Haffray, P., 2014. Parentage assignment with genomic markers: a major advance for understanding and exploiting genetic variation of quantitative traits in farmed aquatic animals. *Frontiers in Genetics*, 5, 1–8.
 56. Wang, C.M. Lo, L. C. Zhu, Z.Y. Lin, G. Feng, F. Li, J. Yang, W.T. Tan, J. Chou, R. Lim, H.S. Orban, L. y Yue, G.H., 2008. Estimating reproductive success of brooders and heritability of growth traits in Asian sea bass (*Lates calcarifer*) using microsatellites. *Aquaculture Research*, 39(15), 1612–1619.
 57. Yang, M. Tian, C. Liang, X. F. Lv, L. Zheng, H. Yuan, Y. Zhao, C. y Huang, W., 2014. Parentage determination of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) based on microsatellite DNA markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 54, 285–291.
 58. Yue, G.H., 2014. Recent advances of genome mapping and marker-assisted selection in aquaculture. *Fish and Fisheries*, 15(3), 376–396.
 59. Yue, G.H. y Xia, J.H., 2014. Practical considerations of molecular parentage analysis in fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(2), 89–103.
 60. Wolf, K. 1963. Physiological salines for freshwater teleosts. *The Progressive Fish-Culturist*. 25, 135-140.

RECOMENDACIONES

Este trabajo ha mostrado la viabilidad de reproductores de primera generación para ser utilizados en la producción comercial utilizando un esquema de crianza comunal. Tal enfoque de cultivo en conjunto con el uso de marcadores moleculares microsatélites ha marcado el inicio de un nuevo enfoque de cultivo para totoaba. En la cual el aspecto de la trazabilidad juega un papel de gran importancia, donde los marcadores moleculares permiten identificar el origen de distintas progenies y en algún momento poder diferenciar la crianza en cautiverio de las familias netamente silvestres. El tipo de cultivo implementado como comunal ofrece la ventaja de proveer condiciones equiparables de cultivo para varias progenies o familias a la vez de tal suerte que solo las más aptas podrán sobrevivir ó bien destacar. Esta estrategia de cultivo deberá dirigirse a la mejora del desempeño de las familias utilizadas para la producción comercial, sin embargo tales objetivos serán alcanzados solo bajo la consideración de los diferentes factores que están asociados a diferencias en el desempeño de la progenie, tales como la edad y el tamaño de las hembras, así como diferencias en el tamaño del huevo, entre otras factores. Por lo que se recomienda el desarrollo de nuevos estudios donde evalúen el desempeño de la progenie de un mayor número de familias, los cuales permitirán corroborar si el desempeño de la progenie de reproductores domésticos es resultado de la domesticación o del genotipo individual.

ANEXO

Anexo 1.- Microsatélites de sciánidos seleccionados para el análisis de los niveles de parentesco y de variabilidad genética de la totoaba en la UBP-UABC. Se indica el número de muestras analizadas (N), el número de alelos (NA), el tamaño de los alelos (TA), la heterocigosidad observada (HO), la probabilidad de identidad de cada locus (PI) y la probabilidad de identidad acumulativa para hermanos completos (PIFS) Los loci se reportan en orden descendente con respecto a su poder informativo.

Locus	N	NA	TA (pb)	HO	PI	PIFS	Referencia
<i>Tmac74</i>	200	21	125-187	0.97	2.66E-03	2.84E-01	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Soc507</i>	200	18	158-329	0.97	5.53E-03	8.29E-02	Karlsson <i>et al.</i> (2008)
<i>Tmac051</i>	200	15	119-153	0.76	9.67E-03	2.52E-02	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Tmac25</i>	200	15	142-173	0.92	1.36E-02	7.81E-03	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Soc554</i>	200	22	208-253	0.89	1.30E-02	2.50E-03	Karlsson <i>et al.</i> (2008)
<i>Soc418</i>	200	14	258-296	0.97	1.81E-02	7.99E-04	O'Malley <i>et al.</i> (2003)
<i>Tmac06</i>	200	13	139-168	0.81	2.81E-02	2.68E-04	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Tmac44a</i>	200	10	190-214	0.81	4.47E-02	9.63E-05	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Tmac55</i>	200	11	166-200	0.73	4.38E-02	3.47E-05	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Soc826</i>	200	7	182-206	0.86	5.63E-02	1.28E-05	Renshaw <i>et al.</i> (2012)
<i>Cac013a</i>	200	11	191-214	0.76	5.08E-02	4.69E-06	Farias <i>et al.</i> (2006)
<i>CacMic18</i>	200	10	284-312	0.81	5.72E-02	1.73E-06	Farias <i>et al.</i> (2006)
<i>Tmac004</i>	200	12	159-181	0.76	5.15E-02	6.47E-07	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Cyne012</i>	200	8	169-183	0.65	1.02E-01	2.79E-07	Piller y Cordes (2011)
<i>Soc609</i>	200	8	279-287	0.65	1.09E-01	1.22E-07	Karlsson <i>et al.</i> (2008)
<i>Cac003</i>	200	12	188-230	0.73	1.10E-01	5.49E-08	Farias <i>et al.</i> (2006)

<i>Tmac56</i>	200	7	186-204	0.65	1.39E-01	2.52E-08	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Soc423</i>	200	7	179-193	0.68	1.43E-01	1.18E-08	O'Malley <i>et al.</i> (2003)
<i>Cyne2</i>	200	8	273-295	0.51	1.68E-01	5.88E-09	Piller y Cordes (2011)
<i>Cac014</i>	200	4	164-170	0.49	2.87E-01	3.43E-09	Farias <i>et al.</i> (2006)
<i>Soc 443</i>	200	4	212-224	0.51	3.15E-01	2.00E-09	O'Malley <i>et al.</i> (2003)
<i>Tmac05</i>	200	4	164-170	0.35	3.46E-01	1.28E-09	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Tmac03</i>	200	4	151-157	0.46	3.91E-01	8.44E-10	García de León <i>et al.</i> (2010)
<i>Soc973</i>	200	3	203-207	0.27	5.68E-01	6.56E-10	Renshaw <i>et al.</i> (2009)

Tmac = *Totoaba macdonaldi*, *Soc* = *Sciaenops ocellatus*, *Cac* = *Cynoscion acoupa*, *Cyne* = *Cynoscion nebulosus*