CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA FISIOLÓGICA, INMUNOLÓGICA, DE CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA, DE JUVENILESY ADULTOS DE *Cherax quadricarinatus* PROVENIENTES DE TRES LÍNEAS GENÉTICAS DIVERGENTES EN MÉXICO Y SUS CRUZAS.

T E S I S

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuicultura)

P r e s e n t a

José Andrés Hernández Gurrola

La Paz, Baja California Sur, enero de 2021.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las_11:15_horas del día_27_ del Mes de ___Noviembre___del 20_20_, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA FISIOLÓGICA, INMUNOLÓGICA, DE CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA, DE JUVENILES Y ADULTOS DE *Cherax quadricarinatus* PROVENIENTES DE TRES LÍNEAS GENÉTICAS DIVERGENTES EN MÉXICO Y SUS CRUZAS.

Presentada por el alumno:

José Andrés Hernández Gurrola

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Acuicultura**

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

LA COMISIÓN REVISORA

Dr. Humberto Villarreal Colmenares
Director de Tesis

Dr. Alfredo Hernández Llamas
Co-Tutor de Tesis

Dr. Ángel Isidro Campa Córdova
Co-Tutor de Tesis

Dr. Felipe de Jesús Ascencio Valle
Co-Tutor de Tesis

Dr. Pedro Cruz Hernández
Co-Tutor de Tesis

Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dr. Humberto Villarreal Colmenares
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.
Director de Tesis

Dr. Alfredo Hernández Llamas
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.
Co-Tutor de Tesis

Dr. Ángel Isidro Campa Córdova
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.
Co-Tutor de Tesis

Dr. Felipe de Jesús Ascencio Valle
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutor de Tesis

Dr. Pedro Cruz Hernández
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutor de Tesis

Comité Revisor de Tesis
Dr. Humberto Villarreal Colmenares
Dr. Alfredo Hernández Llamas
Dr. Ángel Isidro Campa Córdova
Dr. Felipe de Jesús Ascencio Valle
Dr. Pedro Cruz Hernández

Jurado de Examen
Dr. Humberto Villarreal Colmenares
Dr. Alfredo Hernández Llamas
Dr. Ángel Isidro Campa Córdova
Dr. Felipe de Jesús Ascencio Valle
Dr. Pedro Cruz Hernández

Suplentes
Dra. Laurence Stephanie Mercier
Dr. José Naranjo Páramo

Resumen

Desde su introducción en 1995, las poblaciones de *Cherax quadricarinatus* de diferentes regiones en México, han sido expuestas a diferentes condiciones ambientales y prácticas de cultivo, resultando en una deriva génica. Evaluaciones previas muestran que dichas poblaciones han perdido variabilidad genética debido a una presión de selección y endogamia, que puede provocar una disminución en la capacidad de reproducción, crecimiento y supervivencia de los organismos en condiciones de cultivo. En el presente estudio se evaluaron tres poblaciones divergentes provenientes de los estados de Baja California Sur (C), Tamaulipas (T) y Michoacán (M), así como sus cruces recíprocos, para determinar heterosis y el efecto del entrecruzamiento en la capacidad reproductiva (fecundidad absoluta, y número y peso de los juveniles producidos), respuesta productiva (peso final, tasa de crecimiento, supervivencia y factor de conversión alimenticia), respuesta fisiológica (tasa metabólica rutinaria y nivel crítico de oxígeno) y respuesta (supervivencia) a retos de infección con *Staphylococcus saprophyticus*. Con las poblaciones de diferentes regiones constituidas como parentales (C, T, M), se realizaron cruzas para conformar seis grupos de referencia, correspondientes a la cruza de dos parentales (C:T, T:C, C:M, M:C, T:M y M:T) y cuatro grupos, donde se incluyeron los tres parentales (CT:M, TC:M, M:CT y M:TC, y que conforman un núcleo genético de pool ampliado. No hubo diferencias significativas en fecundidad absoluta y número de juveniles producidos. Sin embargo, en los grupos de referencia y del núcleo se observó que, numéricamente, la fecundidad absoluta fue mayor cuando se utilizó un macho proveniente de M en la cruza. El análisis de respuesta productiva se realizó para la etapa de juveniles y para la etapa de engorda mono-sexual. Los juveniles provenientes de familias específicas fueron mantenidos durante 195 días en tanques de plástico de 1,500 L. El peso promedio final de los parentales fue de 18.84, 17.92 y 16.18 g, respectivamente, para C, T y M. En las cruzas de referencia, se observó que cuando se utiliza un progenitor proveniente de M el crecimiento es menor. Esto se atribuye a la presión de selección para organismos de rápido crecimiento llevada a cabo en las poblaciones C y T. De todas las cruzas generadas, C:T, M:CT y M:TC obtuvieron las tasas de crecimiento y pesos finales más altos; sin embargo, estos no fueron mayores a lo obtenido por el parental C. La engorda mono-sexual se llevó a cabo durante 165 días a cielo abierto en dos estanques de 1,000 m^2 c/u recubiertos con membrana plástica (HDPE), a una densidad de siembra de 5 organismos/m^2. No hubo diferencias estadísticas entre los parentales, donde C alcanzó un peso promedio final de 55.57 y 46.99 g, respectivamente para machos y hembras, T (52.54 y 44.49 g) y M (50.05 y 41.75 g). Durante esta etapa, machos y hembras del núcleo mostraron una heterosis positiva para crecimiento con respecto a la mejor línea parental (C). Durante la etapa de pre-cría, los valores de FCA superiores a 1 se relacionan a la

condición de agua clara, siendo el alimento artificial la principal fuente de materia orgánica para el crecimiento de los animales. En cambio, en la etapa de engorda, los valores de FCA menores a 1, reflejaron un adecuado manejo de la alimentación, con disponibilidad abundante de alimento natural. Los resultados de tasa metabólica estándar (TME) mostraron que C presentó valores más altos en comparación con T y M. Esto se atribuye a cambios en la eficiencia energética de los animales. A una mayor acumulación en biomasa corporal, se requiere de un mayor consumo de oxígeno, por lo que, aparentemente, en la población de Baja California Sur, se ha generado un pool genético específico que privilegia el metabolismo eficiente para la construcción de proteína a partir de una mayor demanda metabólica estándar. No se mostraron diferencias significativas entre los valores de nivel crítico de oxígeno de los grupos parentales y los grupos conformadores del núcleo. En cuanto a hembras, estos son similares entre los diferentes grupos, con excepción de C que fue significativamente menor que M:TC. En cuanto al reto de infección, a excepción del tratamiento C:M-M:C en el experimento 2, que tuvo mortalidad total después de 72 horas, no se encontró una diferencia significativa en términos de supervivencia entre los grupos evaluados. Esto podría esperarse ya que, en general, se considera que la herencia en la resistencia a enfermedades es baja. Entre los parentales, T:T y M:M alcanzaron una supervivencia del 50%, mientras que C:C 30%. Esto puede estar relacionado con la presión de selección para crecimiento que, en este grupo, se ha realizado por cerca de 20 años.

Palabras clave: *Cherax quadricarinatus*, heterosis, desempeño productivo, respuesta fisiológica, respuesta inmune.

ORCID: 0000-0002-9885-712X

Vo. Bo. Dr. Humberto Villarreal Colmenares
Director de Tesis

Summary

Since its introduction in 1995, *Cherax quadricarinatus* populations from different regions in Mexico have been exposed to different environmental conditions and cultivation practices, resulting in gene drift. Previous evaluations show that these populations have lost genetic variability due to selection pressure and inbreeding, which can cause a decrease in the ability of organisms to reproduce, grow and survive under cultivation conditions. In the present study, three divergent populations from the states of Baja California Sur (C), Tamaulipas (T) and Michoacán (M), as well as their reciprocal crosses, were evaluated to determine heterosis and the effect of crossbreeding on reproductive capacity (absolute fecundity, and number and weight of juveniles produced), productive response (final weight, growth rate, survival and feed conversion rate), physiological response (routine metabolic rate and critical oxygen level) and response (survival) to challenges of infection with *Staphylococcus saprophyticus*. With the populations of different regions constituted as parentals (C, T, M), crosses were made to form six reference groups, corresponding to the crossing of two parents (C:T, T:C, C:M, M:C , T:M and M:T) and four groups, which included the three parents (CT:M, TC:M, M:CT and M:TC, which represents an expanded genetic pool nucleus. There were no significant differences in absolute fecundity and number of juveniles produced. However, in the reference and nucleus groups it was observed that, numerically, absolute fecundity was higher when a male from M was used in the cross. The productive response analysis was performed for the early-juvenile stage and for the mono-sexual growout stage. The juveniles from specific families were maintain in 1,500 L plastic tanks for 195 days. The final average weight of the parentals was 18.84, 17.92 and 16.18 g, for C, T and M respectively. In the reference crosses, it was observed that when a parent from M is used, growth is lower. This is attributed to the selection pressure for fast-growing organisms carried out in populations C and T. Of all the crosses generated, C:T, M:CT and M:TC obtained the highest growth rates and final weights. However, these were not greater than that obtained by parental C. The mono-sexual growout stage was carried out for 165 days in two ponds of 1,000 m^2 each covered with a plastic membrane (HDPE), at a stocking density of 5 organisms/m^2. There were no statistical differences between the parentals, where C reached a final average weight of 55.57 and 46.99 g, respectively for males and females, T (52.54 and 44.49 g) and M (50.05 and 41.75 g). During this stage, males and females of the nucleus showed a positive heterosis for growth with respect to the best parental line (C). During the early-juvenile stage, FCA values higher than 1 are related to the condition of clear water, with artificial feed being the main source of organic matter for the growth of the animals. On the other hand, in the growout stage, the FCA values lower than 1, reflected an adequate feeding management, with abundant availability of

natural food. The results of standard metabolic rate showed that C presented higher values compared to T and M. This is attributed to changes in the energy efficiency of the animals. A greater accumulation in body biomass requires a greater consumption of oxygen, so that, apparently, in the population of Baja California Sur, a specific gene pool has been generated that favors efficient metabolism for the construction of protein from of a higher standard metabolic demand. No significant differences were shown between the critical oxygen level values of the parental groups and the nucleus groups. Regarding females, these are similar between the different groups, with the exception of C, which was significantly lower than M:TC. Regarding the infection challenge, with the exception of the C:M-M:C treatment in experiment 2, which had total mortality after 72 hours, no significant difference was found in terms of survival between the groups evaluated. This could be expected as inheritance in disease resistance is generally considered to be low. Among the parents, T:T and M:M reached a survival of 50%, while in C:C it was 30%. This may be related to the selection pressure for growth that, in this group, has been carried out for about 20 years.

Key words: *Cherax quadricarinatus*, heterosis, productive performance, physiological response, immune response.

ORCID: 0000-0002-9885-712X

Vo. Bo. Dr. Humberto Villarreal Colmenares
Director de Tesis

Dedicatoria

Esta tesis va dedicada a las personas que de una u otra forma me apoyaron para concluir esta etapa de mi formación profesional, a las cuales siempre les estaré infinitamente agradecido.

A mis maestros y tutores.

Que con sus lecciones y experiencias me formaron como una persona capaz y preparada para afrontar los retos que me pondrá la vida.

A mi familia.

A mi madre Rosa María Gurrola por ser mi apoyo emocional y por haberme brindado tanto amor y cariño. Y a mi padre José Enrique Hernández por ser mi ejemplo de superación personal y enseñarme a alcanzar mis metas siempre por el camino de la honestidad y el esfuerzo. Mis hermanos Berenice y Adán, porque siempre estuvieron ahí para brindarme todo su apoyo incondicional.

A mis amigos y compañeros.

A todas las personas que tuve la dicha de conocer en La Paz, ya sea dentro y fuera del CIBNOR, con los que tuve el privilegio de compartir esta etapa, gracias por todos los momentos vividos durante estos años.

A Alejandra, mi prometida.

Por darme tanta felicidad, tu amor y cariño son el detonante de mi esfuerzo. Fuiste mi motivación más grande para concluir con éxito esta etapa de mi vida. Muchas gracias, amor.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) por la beca otorgada (475545), con la cual pude llevar a cabo mis estudios de doctorado.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), al programa de Posgrado, personal e investigadores.

Al Dr. Humberto Villarreal Colmenares por asesorar la presente investigación, por su apoyo y orientación personal y profesional.

A los Dres. Alfredo Hernández Llamas, Ángel Isidro Campa Córdova, Felipe de Jesús Ascencio Valle y Pedro Cruz Hernández miembros de mi comité tutorial, por la revisión de tesis, por su dedicación y por su ayuda.

Al Dr. José Naranjo Páramo, la Ing. Mayra Vargas Mendieta, la M.C. Graciela Mora Castrejón, el M.C. Adrián Esteban Velázquez, la M.C. Lucina Ledesma López, la Lic. Alejandra Villarreal, al P. Biol. Mar. Jesús Antonio Aguilar Villavicencio y al Tec. Víctor Polo por brindar apoyo técnico, participar en el manejo de reproductores, marcaje de familias, apoyo en laboratorio y por formar parte de este proyecto.

Contenido

Resumen…… i
Summary…… iii
Dedicatoria…… v
Agradecimientos…… vi
Contenido…… vii
Lista de figuras…… ix
Lista de tablas…… xv
Abreviaturas…… xvii
1. INTRODUCCIÓN…… 1
1.1 Panorama general de la acuicultura…… 1
1.2 Características y cultivo de *Cherax quadricarinatus*…… 2
1.3 Sistema de producción…… 4
1.4 Endogamia en los sistemas de cultivo…… 5
1.5 Mejoramiento genético…… 7
1.6 Características comercialmente importantes susceptibles a mejoramiento…… 7
1.6.1 Metabolismo rutinario y respuesta fisiológica …… 8
1.6.2 Respuesta inmunológica…… 11
2. ANTECEDENTES…… 14
2.1 Producción de *C. quadricarinatus*…… 14
2.2 Mejoramiento genético…… 15
2.2.1 Caracterización de la diversidad genética…… 15
2.2.2 Programas de mejoramiento basados en el entrecruzamiento…… 16
2.3 Estimación de la tasa metabólica y punto crítico de oxígeno…… 17
2.4 Estudios de respuesta inmune en *C. quadricarinatus* y otros acociles…… 18
2.5 Avances biotecnológicos en el cultivo de *C. quadricarinatus* en CIBNOR…… 20
3. JUSTIFICACIÓN…… 22
4. HIPOTESIS…… 23
5. OBJETIVOS…… 24
5.1 Objetivo general…… 24
5.2 Objetivos particulares…… 24
6. MATERIAL Y METODOS…… 25
6.1 Localización geográfica…… 25
6.2 Origen de las poblaciones parentales utilizadas…… 25
6.3 Unidades experimentales…… 25
6.4 Conformación del pie de cría…… 29

6.5 Manejo y condiciones experimentales..... 30
6.6 Evaluación del desempeño productivo..... 31
6.6.1 Fecundidad y desempeño en la etapa de pre-cría..... 31
6.6.2 Evaluación del desempeño en la etapa de engorda monosexual..... 32
6.7 Evaluación de la respuesta fisiológica a condiciones de hipoxia..... 35
6.7.1 Determinación de la tasa metabólica..... 35
6.7.2 Determinación del punto crítico de oxígeno..... 38
6.8 Evaluación de la respuesta inmunológica..... 39
6.8.1 Primer bioensayo: evaluación y selección de cepas..... 39
6.8.2 Secuenciación e identificación de la cepa 63..... 42
6.8.3 Segundo bioensayo: determinación de la DL_{50}..... 43
6.8.4 Diseño experimental del reto patológico..... 44
6.9 Análisis estadísticos..... 45
7. RESULTADOS..... 47
7.1 Etapa de pre-cría..... 47
7.1.1 Calidad de agua..... 47
7.1.2 Desempeño reproductivo..... 47
7.1.3 Desempeño productivo..... 50
7.1.4 Correlación entre la diversidad genética y los parámetros productivos... 53
7.2 Etapa de engorda monosexual..... 55
7.2.1 Calidad de agua..... 55
7.2.2 Desempeño productivo..... 57
7.3 Respuesta fisiológica..... 74
7.3.1 Tasa metabólica..... 74
7.3.2 Punto crítico de oxígeno..... 77
7.4 Respuesta inmunológica..... 80
8. DISCUSIÓN..... 84
8.1 Etapa de pre-cría..... 84
8.2 Etapa de engorda monosexual..... 93
8.2.1 Calidad de agua..... 93
8.2.2 Desempeño productivo..... 94
8.3 Respuesta fisiológica..... 100
8.4 Respuesta inmunológica..... 105
9. CONCLUSIONES..... 109
10. LITERATURA CITADA..... 113
11. ANEXOS..... 142

Lista de figuras

Figura 1. Producción mundial de la pesca y la acuicultura (FishStatJ, 2018)…… 1

Figura 2. Macho adulto de *C. quadricarinatus* (Liveaquaponics.com)…….. 3

Figura 3. Estanque de producción de *C. quadricarinatus* de 1,000 m^2 recubierto con membrana plástica HDPE y con malla de protección anti pájaros en BioHelis, el Parque de Innovación Tecnológica de CIBNOR……. 5

Figura 4. Escondrijos utilizados como protección para *C. quadricarinatus* durante la evaluación de engorda monosexual……. 27

Figura 5. Tanques de plástico de 1,500 L de capacidad utilizada durante la etapa de pre-cría de *C. quadricarinatus*……. 27

Figura 6. Escondrijos de mala de nylon y tubos de PVC utilizados para la protección de juveniles de *C. quadricarinatus* durante la etapa de pre-cría……..... 28

Figura 7. Estanque a cielo abierto de 1,000 m^2 recubierto con geomembrana plástica HDPE utilizado para la engorda monosexual de *C. quadricarinatus*…….. 28

Figura 8. Esquema de la conformación de familias del pie de cría de *C. quadricarinatus*, mediante el cruzamiento de las líneas parentales (C= Baja California Sur (CIBNOR), T= Tamaulipas y M= Michoacán)……. 30

Figura 9. Huevos unidos a los pleópodos en el abdomen de una hembra de *C. quadricarinatus*…… 32

Figura 10. Inyección intramuscular del elastómero fluorescente utilizando una jeringa hipodérmica, para la identificación de familias en la etapa de engorda monosexual de *C. quadricarinatus*…… 33

Figura 11. Elastómero fluorescente visible bajo una luz ultravioleta en el abdomen de *C. quadricarinatus*……. 35

Figura 12. Unidades de plástico para la aclimatación de organismos de *C. quadricarinatus* en una unidad de control de temperatura, previo a la evaluación de consumo de oxígeno en respirómetros……. 36

Figura 13. Sistema de 10 respirómetros y 2 blancos herméticos de 1 L, con alimentación individual de oxígeno, utilizados para evaluar el consumo se oxígeno de *C. quadricarinatus*, en una unidad de "baño María" para mantener temperatura constante……. 37

Figura 14 a) Sistema de medición de oxígeno MICROX TX2®. b) sensor de fibra

óptica PreSens Presicion® para la medición del consumo de oxígeno disuelto en el sistema de respirometría……. 38

Figura 15. Cepas bacterianas provenientes del aislamiento en una granja de tilapia del estado de Jalisco, utilizadas en las pruebas de reto patológico en *C. quadricarinatus*…… 39

Figura 16. a) Medio agar liquido BHI (Brain Hearth Infusion); b) Incubadora de agitación para el cultivo de las cepas bacterianas utilizadas en retos patológicos de *C. quadricarinatus*……. 40

Figura 17. Unidades de plástico de 30 L utilizadas en la evaluación de patogenicidad de diferentes cepas bacterianas en *C. quadricarinatus*… 41

Figura 18. Unidad experimental de 30 L mostrando el **s**istema de aireación con piedra difusora, escondrijos de PVC y calentador sumergible de agua. La unidad se utilizó durante las pruebas de patogenicidad de cepas bacterianas en *C. quadricarinatus*……. 41

Figura 19. Cambio de la supervivencia en el tiempo post-infección de *C. quadricarinatus*, de 46.34 ± 8.68 gramos, expuestos a cinco diferentes cepas bacterianas (ver texto) y tres controles. Se utilizaron 10 organismos por tratamiento (5 hembras y 5 machos)……. 42

Figura 20. Cambio de la supervivencia en el tiempo post-infección de *C. quadricarinatus*, de 46.34 ± 8.68 gramos, expuestos a cinco diferentes dosis de la Cepa 63 y un control inyectado con agua (85% NaCl). Se utilizaron 15 organismos por tratamiento…… 44

Figura 21. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) del número de juveniles de *C. quadricarinatus* producidos al día 45 después de la eclosión, en las cruzas del núcleo durante la pre-cría. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar……. 50

Figura 22. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la tasa de crecimiento en las cruzas del núcleo, después de 195 días de cultivo en la pre-cría de *C. quadricarinatus*. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar……. 52

Figura 23. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la supervivencia en las cruzas del núcleo después de 195 días de cultivo durante la pre-cría de *C. quadricarinatus*. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar…….. 53

Figura 24. Correlación entre la tasa de crecimiento (TC) después de 195 días de cultivo de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas generadas, con

el número de alelos (Na) y la heterocigosidad observada (Ho)……. 54

Figura 25. Variación diaria de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura en el estanque de 1,000 m^2 recubierto con membrana HDPE durante 120 días de cultivo de machos de las diferentes cruzas de *C. quadricarinatus*…….. 56

Figura 26. Variación diaria de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura en el estanque de 1,000 m^2 recubierto con membrana HDPE durante 120 días de cultivo de hembras de las diferentes cruzas de *C. quadricarinatus*…….. 57

Figura 27. Incremento del peso promedio a través del tiempo en machos adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo durante 120 días de cultivo en estanques recubiertos con membrana HDPE……. 59

Figura 28. Incremento del peso promedio a través del tiempo en hembras adultas de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo durante 120 días de cultivo en estanques recubiertos con membrana HDPE……. 59

Figura 29. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la tasa de crecimiento de machos en las cruzas del núcleo después de 120 días de engorda monosexual. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar……. 62

Figura 30. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la tasa de crecimiento de hembras en las cruzas del núcleo después de 120 días de engorda monosexual. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar……. 62

Figura 31. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la supervivencia de machos en las cruzas del núcleo, después de 120 días de cultivo en engorda monosexual. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar……. 63

Figura 32. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la supervivencia de hembras en las cruzas del núcleo después de 120 días de cultivo en engorda monosexual. Los datos se presentan como promedio ± error estándar…… 64

Figura 33. Polígonos de frecuencia del peso de cosecha de machos de *C. quadricarinatus* provenientes de las líneas parentales, después de 120 días de cultivo monosexual en estanques a cielo abierto de 1,000 m^2,

recubiertos con geomembrana HDPE……. 65

Figura 34. Polígonos de frecuencia del peso de cosecha de hembras de *C. quadricarinatus* provenientes de las líneas parentales, después de 120 días de cultivo monosexual en estanques a cielo abierto de 1,000 m^2, recubiertos con geomembrana HDPE…… 66

Figura 35. Polígonos de frecuencia del peso de cosecha de machos de *C. quadricarinatus* después de 120 días de cultivo monosexual en estanques con recubrimiento de geomembrana HDPE . Las líneas sólidas representan el incremento promedio del núcleo en comparación con los grupos parentales……. 67

Figura 36. Polígonos de frecuencia del peso de cosecha de hembras de C. quadricarinatus después de 120 días de cultivo monosexual en estanques con recubrimiento de geomembrana HDPE . Las líneas sólidas representan el incremento promedio del núcleo en comparación con los grupos parentales……. 68

Figura 37. Distribución de pesos de cosecha de machos de *redclaw* provenientes de la cruza parental C:C cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2…… 69

Figura 38. Distribución de pesos de cosecha de machos de *redclaw* provenientes de la cruza parental T:T cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2…… 70

Figura 39. Distribución de pesos de cosecha de machos de *redclaw* provenientes de la cruza parental M:M cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2…… 70

Figura 40. Distribución de pesos de cosecha de machos de *redclaw* provenientes de las cruzas del núcleo cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2…… 71

Figura 41. Distribución de pesos de cosecha de hembras de *redclaw* provenientes

de la cruza parental C:C cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2…… 71

Figura 42. Distribución de pesos de cosecha de hembras de *redclaw* provenientes de la cruza parental T:T cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2…… 72

Figura 43. Distribución de pesos de cosecha de hembras de *redclaw* provenientes de la cruza parental M:M cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2…… 72

Figura 44. Distribución de pesos de cosecha de hembras de *redclaw* provenientes de las cruzas del núcleo cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2…… 73

Figura 45. Promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo de organismos machos en los respirómetros para los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante su fase reguladora……. 75

Figura 46. Tasa metabólica estándar (TME) a 28°C, de machos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar…… 76

Figura 47. Promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo de organismos hembras en los respirómetros para los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante su fase reguladora……. 76

Figura 48. Tasa metabólica estándar (TME) a 28°C, de hembras de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar…… 77

Figura 49. Promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo de organismos

machos en los respirómetros para los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante su fase conformadora…… 78

Figura 50. Punto crítico de oxígeno a 28°C, de machos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar…….. 78

Figura 51. Promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo de organismos hembras en los respirómetros para los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante su fase conformadora…… 79

Figura 52. Punto crítico de oxígeno a 28°C, de hembras de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar…….. 79

Figura 53. Supervivencia en el tiempo después de la infección de adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de las líneas parentales (Exp. 1), con la Cepa 63 *Staphylococcus saprophyticus*, E310 Cada punto representa el promedio de tres réplicas (10 organismos en cada réplica) ± error estándar…….. 81

Figura 54 Supervivencia en el tiempo después de la infección de adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas de referencia (Exp. 2), con la Cepa 63 *Staphylococcus saprophyticus*, E310. Cada punto representa el promedio de tres réplicas (10 organismos en cada réplica) ± desviación estándar…….. 81

Figura 55 Supervivencia en el tiempo después de la infección de adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas del núcleo (Exp. 3), con la Cepa 63 *Staphylococcus saprophyticus*, E310. Cada punto representa el promedio de tres réplicas (10 organismos en cada réplica) ± error estándar…….. 82

Lista de tablas

Tabla I. Parámetros de desempeño productivo reportados para cultivos comerciales de *C. quadricarinatus*…….. 14

Tabla II. Sistema de marcaje por elastómeros para la diferenciación de familias en la etapa de engorda monosexual……. 34

Tabla III. Promedio general (± DE) de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura en 97 tanques circulares de plástico de 1,500 L, utilizados durante 195 días de cultivo de juveniles de *C. quadricarinatus* provenientes de las diferentes familias generadas en el programa de cruzamiento…… 47

Tabla IV. Número de muestra, promedios (± DE) del peso de las hembras, fecundidad absoluta, número y peso de los organismos producidos al día 45 después de la eclosión, para los organismos de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo, cultivados en tanques circulares de plástico de 1,500 L…… 49

Tabla V. Peso final, tasa de crecimiento (TC), supervivencia, factor de conversión alimenticia (FCA), número de alelos (Na) y heterocigosidad observada (Ho) de juveniles de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas parentales, de referencia y del núcleo después de 195 días de cultivo en tanques de 1,500 L. (Promedio ± SE)…….. 51

Tabla VI. Promedio general (± DE) de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura en los estanques de cultivo de *C. quadricarinatus* de machos y hembras durante el ciclo de cultivo de 120 días…… 55

Tabla VII. Peso inicial, peso final, tasa de crecimiento (TC), supervivencia y factor de conversión alimenticia (FCA), de machos adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo, después de 120 días de cultivo en estanques de 1,000 m^2 recubiertos con membrana plástica (Promedio ± SE)…….. 60

Tabla VIII. Peso inicial, peso final, tasa de crecimiento (TC), supervivencia y factor de conversión alimenticia (FCA), de hembras adultas de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo, después de 120 días de cultivo en

estanques de 1,000 m^2 recubiertos con membrana plástica (Promedio ± SE)…… 61

Tabla IX. Coeficientes de correlación (*r*) y valor-*p* entre los valores promedio de la tasa de crecimiento (TC), supervivencia y factor de conversión alimenticia (FCA), con los valores de diversidad genética (Na y Ho) reportados por Mora-Castrejón (2019). n=13……. 74

Tabla X. Coeficientes de correlación (*r*) y valor-*p* entre los valores promedio la tasa metabólica estándar (TME) y el punto crítico de oxígeno (PC) con los valores de diversidad genética (Na y Ho). n=10…… 80

Tabla XI. Resultados del reto de infección patológica con la Cepa 63 Streptococcus *saprophyticus*, E310 después de 120 horas, en adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. *n* = número de organismos en cada grupo evaluado; supervivencia (%) = promedio de tres réplicas ± error estándar…… 83

Abreviaturas

°C	Grado centígrado
µl	Microlitro
cm	Centímetro
CV	Coeficiente de variación
DE	Desviación estándar
FCA	Factor de conversión alimenticia
g	Gramo
h	Hora
ha	Hectárea
HDPE	*High Density Polyethylene*
Ho	Heterocigosidad observada
HP	*Horse power*
ind	Individuo
kg	Kilogramo
L	Litro
m	Metro
m^2	Metro cuadrado
m^3	Metro cubico
mg	Miligramo
mm	Milímetro
n	Numero de muestra
Na	Número de alelos
O_2	Oxígeno diatómico
OD	Oxígeno disuelto
org	Organismo
PC	Proteína cruda
SE	Error estándar
sem	Semana
sp	Especie
spp	Especies
TME	Tasa metabólica estándar
USD	Dólares estadounidenses

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Panorama general de la acuicultura

Se prevé que la población mundial alcance los 9,700 millones de habitantes en el año 2050, por lo que la importancia del pescado y los productos alimenticios marinos para la seguridad alimentaria y la nutrición adecuada de la población se ha acentuado (FAO, 2018). La acuicultura hoy en día es posiblemente el sector de producción de alimentos de crecimiento más acelerado. Aunque ya no se registran las tasas de crecimiento de 10.8% y 9.5% de la décadas de 1980 y 1990 respectivamente, la acuicultura sigue creciendo a un ritmo superior al de muchos sectores de producción de alimentos, ya que, en el periodo de 2001-2016, registró un crecimiento de 5.8% (FAO, 2018). En 2018, la acuicultura estableció una producción de 114.5 millones de toneladas, representando un valor de $263.6 millones de dólares lo que representa el 54% de los productos pesqueros mundiales (FishStatJ, 2018), superando la producción por captura (Figura 1).

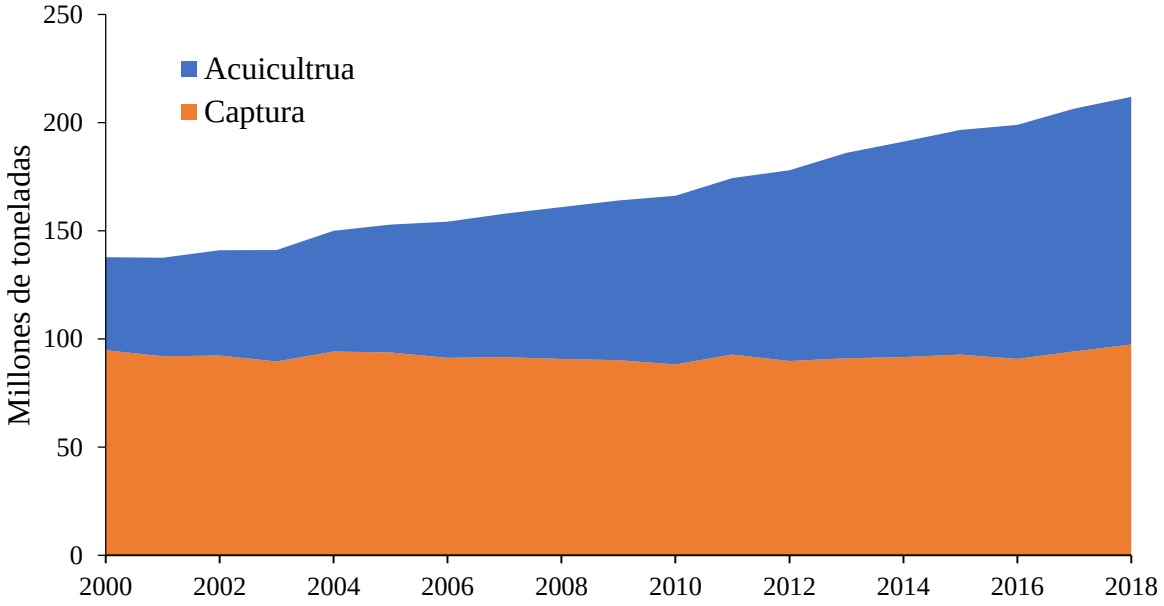

Figura 1. Producción mundial de pesca y acuicultura (FishStatJ, 2018).

En 2016, la producción global de la acuicultura se dividió en un 67.59% de cultivo de peces de escama, 21.42% cultivo de moluscos, 9.82% cultivo de crustáceos y 1.17% cultivo de otras especies. Las principales especies de crustáceos producidos fueron el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) (53%), el acocil o cangrejo de río (*Procambarus clarkii*) (12%), el cangrejo chino (*Eriocheir sinensis*) (10%), el camarón tigre (*Penaeus monodon*) (9%), el camarón japonés (*Macrobrachium nipponense*) (4%) y el langostino de río (*Macrobrachium rosenbergii*) (3%), mientras que otras especies de crustáceos representaron el 10% de la producción global (FAO, 2018). Dentro de las especies de crustáceos con mayor potencial acuícola, se ha puesto especial atención al desarrollo del cultivo del acocil de quelas rojas (*redclaw*) o langosta de agua dulce, *Cherax quadricarinatus,* debido a sus talla y aceptación en el mercado (Naranjo, 2009).

1.2 Características y cultivo de *Cherax quadricarinatus*

Cherax quadricarinatus es originaria de los ríos y arroyos del norte de Queensland, Australia (Jones, 1990). Es una langosta de río relativamente grande, posee un exoesqueleto lustroso en tonalidades de azul a verde (Figura 1), los machos presentan un color rojo brillante en los márgenes de sus quelas, pudiendo alcanzar un peso máximo de 500 g, mientras que las hembras pueden alcanzar los 400 g, los juveniles (<30 g) pueden distinguirse sexualmente por la posición de sus órganos sexuales adyacente al quinto par de periópodos en los machos, y los gonoporos en el tercer par en las hembras (FAO, 2011).

Figura 2. Macho adulto de *C. quadricarinatus*. (Liveaquaponics.com)

De todas las especies de acociles australianos, *C. quadricarinatus* se destaca como la más promisoria para su cultivo debido a que presenta diversos atributos entre los que destacan la tolerancia a altas temperaturas y bajas concentraciones de oxígeno, su fácil reproducción, y el cultivo en altas densidades con buenas tasas de crecimiento (Masser y Rouse, 1997). La adaptabilidad ecológica de la especie ha sido de gran importancia para su cultivo. La región donde se encuentra de manera natural es muy cambiante, con inundaciones, sequias y temperaturas que varían desde los 40°C en el día a menos de 0°C durante la noche dependiendo de la época del año; además que su hábitat se extiende desde esteros salinos a ríos y/o lagos en zonas montañosas (Villarreal y Naranjo, 2008). Debido a su robustez fisiológica y su comportamiento gregario *C. quadricarinatus* ha sido cultivada en estanques a cielo abierto en densidades de 1-2 ind/m^2 en sistemas de cultivo extensivos, de 3-4 ind/m^2 en sistemas semi-intensivos y 5-25 ind/m^2 en los sistemas intensivos (Naranjo, 2009).

Los principales países que han desarrollado el cultivo de *C. quadricarinatus* a escala comercial son: Australia, China, Ecuador, Indonesia, Israel, Malasia y México. Aunque también es conocido que el cultivo se ha desarrollado en países como Argentina, Barbados, Belice, España, Estados Unidos, Guatemala, Marruecos, Nueva Caledonia, Panamá, Republica de Mauricio, Suazilandia y Uruguay (FAO, 2011). En México, la primera iniciativa de cultivar redclaw fue en el año de 1986 en una empresa ubicada en el

estado de Querétaro con pobres resultados. La segunda etapa se inició en 1995 en la Planta Experimental de Producción Acuícola de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa, en la Ciudad de México y el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Mérida en Yucatán. En la actualidad, existen reportes de cultivo en los estados de Baja California Sur, Morelos, Tamaulipas y Veracruz (INAPESCA, 2018). Los resultados han sido prometedores, con rendimientos superiores a los 3,500 kg/ha/ciclo, y precios por kilogramo de producto vivo de USD$10-15/kg, dependiendo de la talla (Núñez-Amao *et al*., 2018; Hernández-Llamas *et al*., 2019).

1.3 Sistema de producción

Según Villarreal y Naranjo (2008), el cultivo de *C. quadricarinatus* se inicia con la etapa de reproducción. Esta contempla la utilización de reproductores de una talla aproximada de 60 g los cuales se siembran a una densidad de 3/m^2. Los estanques de producción (Figura 3) requieren del uso de escondrijos, fertilización, alimento peletizado, recambio de agua y aireación constante. En aproximadamente 4 meses se espera una producción de 1,200-1,400 juveniles por hembra o 100 juveniles/m^2 con una supervivencia del 50 al 60%. En la pre-cría se siembran en cada estanque los juveniles de 3-4 cm a una densidad de 25/m^2. Durante esta etapa se utiliza alimento peletizado de 32-35% PC y se ajusta la tasa de alimentación acorde al peso y la biomasa estimada. Después de aproximadamente 105 días se cosechan organismos de 25 g, y se separan por sexos para sembrar en estanques de cultivo monosexual con la finalidad de maximizar el crecimiento. En la etapa de engorda los organismos se siembran a una densidad de 5-10/m^2 durante 140-150 días. El alimento a utilizarse durante esta etapa contiene 28-30% de PC. Dado que los machos alcanzan tallas de cosecha antes que las hembras, las expectativas en los tiempos de cosecha son diferentes (Núñez-Amao *et al*., 2018). Dado que es una especie introducida, los reproductores normalmente se seleccionan de los mismos estanques de engorda durante la cosecha, seleccionando a los de mayor talla y de mejor calidad. Con un

adecuado manejo se esperan rendimientos aproximados de 4,500-5,000 kg/ha/ciclo, en 2.5 ciclos por año, con dos tallas comerciales (40-60 g y 61-90 g) de acuerdo al precio por kilo (Hernández-Llamas *et al*., 2019). Las diferentes presentaciones para su comercialización incluyen al producto vivo, congelado o cocido.

Figura 3. Estanque de producción de *C. quadricarinatus* de 1,000 m^2 recubierto con membrana plástica HDPE y con malla de protección anti pájaros en BioHelis, el Parque de Innovación Tecnológica de CIBNOR.

1.4 Endogamia en los sistemas de cultivo

Como se mencionó arriba, el cultivo de *C. quadricarinatus* en México requiere del reabastecimiento de reproductores directamente de los estanques de engorda, por lo que existe una creciente preocupación sobre una potencial disminución en las tasas de crecimiento y rendimientos de cosecha, asociados a un incremento en la endogamia. Es bien sabido que a medida que una población de cultivo se vuelve cada vez más consanguínea, la productividad suele disminuir (Charlesworth y Willis, 2009). Dicha depresión por endogamia puede afectar diferentes parámetros relacionados con el

rendimiento, incluido el crecimiento, la supervivencia, la capacidad reproductiva y la susceptibilidad a enfermedades, a través de una acelerada pérdida de diversidad genética (Smallbone *et al*., 2016). Esto ha sido reportado en crustáceos decápodos (Freitas *et al*., 2007; Li *et al*., 2006; Luan *et al*., 2006; Macbeth *et al*., 2007). Genéticamente, toda endogamia conlleva a una reducción de la heterocigosidad y un incremento en la homocigosidad de la progenie, en la misma proporción (FAO, 2008). Este incremento en la homocigosidad se debe a que organismos emparentados comparten alelos a través de uno o más antepasados comunes. Cuando estos organismos se cruzan, los alelos que ellos comparten, pueden ser emparejados en su descendencia, lo que hace que esta se vuelva más homocigota en uno o más loci. La endogamia en un programa de cría selectiva puede ser utilizada para generar organismos genéticamente mejorados con características productivas deseables e inclusive generar nuevos núcleos genéticos de reproductores o nuevas variedades dentro de una especie, con características fenotípicas específicas. Sin embargo, cuando esta endogamia no es bien dirigida, puede ocurrir una reducción en las tasas de crecimiento, fecundidad, etc., lo cual se denomina como “depresión por endogamia”. Existen diferentes explicaciones de como la depresión por endogamia ocurre. La más común es el emparejamiento y expresión de alelos recesivos detrimentales. Aunque los términos alelos “dominantes” y “recesivos” no significan que uno es deseable y el otro indeseable, la mayoría de los alelos que ocasiones anormalidades fenotípicas o menor viabilidad son recesivos. Dado que las tasas de mutación son bajas, los organismos acuáticos tienen una alta producción de gametos y dichos organismos contienen decenas de miles de genes en sus genomas, cada organismo produce cierta cantidad de gametos que contienen copias de genes mutantes que en su mayoría son recesivos. Dado que estos alelos recesivos se expresan cuando un organismos es homocigoto, estas mutaciones tienden a acumularse en una población ocasionando depresión por endogamia (Tave, 1999).

1.5 Mejoramiento genético

La diversidad genética de una población es esencial para maximizar el potencial de mejoramiento (Dunham *et al*., 2001). Las poblaciones que pueden mantener su diversidad genética poseen una mayor expectativa de adaptación a cambios en las condiciones ambientales, enfermedades, o estrés relacionado con el sistema de cultivo; es también un requerimiento para el mejoramiento genético de aspectos económicamente relevantes, como el crecimiento y la supervivencia (Biscarini *et al*., 2015). Existen diferentes estrategias para el mejoramiento genético de las especies cultivadas, entre las que destacan: el entrecruzamiento intraespecífico e interespecífico, la hibridación interespecífica, la selección genética, la poliploidía, la manipulación hormonal, la manipulación cromosómica y transferencia de genes, etc. (FAO, 2012). El entrecruzamiento intraespecífico se basa en la cruza reciproca de dos organismos de la misma especie, pero provenientes de diferentes poblaciones genéticas. En el caso de una población A y una B, (AxB) y (BxA) son cruces recíprocos. La finalidad de esta estrategia de mejoramiento es combinar las diferentes características fenotípicas de ambas poblaciones con la finalidad de tomar ventaja de la variación genética no-aditiva (Bakos y Gorda, 1995; Biscarini *et al*., 2015; Dharaneedharan *et al*., 2016; Gjerde *et al*., 2002; Goyard *et al*., 2008; Thanh *et al.*, 2010). De esta manera, está demostrado que es posible generar heterosis, también conocida como “vigor hibrido” para características comercialmente importantes para ser usadas en programas de mejoramiento genético (Bentsen *et al*., 1998; FAO, 2009; Goyard *et al*., 2008; Sunarma *et al*., 2010; Zheng *et al*., 2006).

1.6 Características comercialmente importantes susceptibles a mejoramiento

Como se mencionó en el punto 1.5, el entrecruzamiento es una herramienta de mejoramiento genético que puede ser utilizada para mejorar aspectos comercialmente importantes en un cultivo. Los de mayor relevancia para cualquier productor son el peso y

el número final, o la resistencia a enfermedades. Estos parámetros de desempeño productivo pueden estimarse directamente en los sistemas de producción al analizar diferentes aspectos como la tasa de crecimiento (ganancia de peso / número de días de cultivo), la supervivencia (número inicial de organismos x número final de organismos / 100), o el factor de conversión alimenticia (cantidad de alimento suministrado / ganancia de peso) (Villarreal, 2000). Sin embargo, es de considerable interés también, entender los mecanismos internos del organismo que influyen en la respuesta productiva del cultivo, como lo pueden ser la respuesta fisiológica a condiciones ambientales específicas y la respuesta inmune del organismo a posibles infecciones patógenas (Moss *et al*., 2005; Carreño-León *et al*., 2014). Ambos aspectos tienen amplia relevancia en el desarrollo de un organismo a través de todo su ciclo de vida, y en este estudio, se evaluará el impacto del entrecruzamiento de poblaciones genéticamente divergentes en la respuesta del organismo.

1.6.1 Metabolismo rutinario y respuesta fisiológica

Un inadecuado manejo de las prácticas de cultivo y el deterioro de los parámetros de calidad de agua pueden mermar significativamente la producción en los estanques de cultivo (Boyd y Tucker, 1998). *C. quadricarinatus* se considera una especie fisiológicamente robusta (Villarreal, 2002), sin embargo, como cualquier especie acuícola presenta requerimientos mínimos para su óptimo desarrollo (Villarreal y Naranjo, 2008). Para optimizar el funcionamiento del organismo y la producción en cultivo, generalmente se considera que la concentración de oxígeno disuelto debe mantenerse por encima de 4 mg/L (Villarreal, 2002; Naranjo, 2009); Carreño-León *et al*., 2014. Cuando los niveles de saturación de oxígeno en el agua son inferiores pueden presentarse tres mecanismos de compensación a hipoxia reportados en otras especies de crustáceos: a) aumento de la concentración de hemocianina; b) aumento de la afinidad de la hemocianina por el oxígeno; y c) cambios en el metabolismo de la glucosa y el lactato (Astete-Espinoza *et al*.,

2010). En camarones peneidos, exposiciones agudas y crónicas a bajos niveles de oxígeno inhiben la tasa de ingestión de alimento debido a la reducción de la demanda metabólica (Ulaje- Fernández, 2015). Esto puede verse reflejado en tasas de crecimiento más bajas, asociadas a la reducción en la tasa de asimilación proteica y conversión en biomasa.

Estimar la tasa metabólica y el nivel crítico de oxígeno de un organismo puede contribuir a optimizar el rendimiento productivo, para condiciones específicas de cultivo. La tasa metabólica basal se da cuando un organismo realiza sus funciones vitales como la respiración, circulación o tono muscular en condiciones de reposo y en ayuno (Torres-Mendoza, 2007). En animales poiquilotermos, no es posible definir una tasa metabólica basal, ya que ésta depende de la temperatura. En ese caso, es posible determinar la tasa metabólica rutinaria, la cual se mide a una temperatura biológicamente significativa (James, 1989), como por ejemplo el intervalo óptimo de crecimiento en condiciones de cultivo. La tasa metabólica se estima por medio de calorimetría, en base a la energía metabólica liberada. Generalmente la tasa metabólica en crustáceos se determina por calorimetría indirecta de la oxidación de los nutrientes principales (proteínas, carbohidratos, lípidos) y se refiere al consumo de oxígeno disuelto en función del tiempo, de organismos en ayuno; este puede variar en base al peso del organismo (Villarreal, 1989). Un animal que presente una menor tasa metabólica (*i.e.* un menor consumo de oxígeno), respecto a otro animal de la misma talla, será más eficiente metabólicamente y estará mejor preparado ante situaciones adversas de bajas de oxígeno en los estanques de cultivo (Torres-Mendoza, 2007).

Por otro lado, la respuesta del organismo de cultivo a variaciones en la concentración de oxígeno permite establecer la capacidad de adaptación. Existen básicamente dos patrones de respuesta, la conformación y la regulación. Un animal que conforma es aquel que cambia sus niveles internos en base a las variaciones del medio donde se encuentra, mientras que un animal que regula mantiene sus niveles internos a

pesar de las perturbaciones en el medio ambiente (McMahon, 2001). De manera general, se considera a un organismo como regulador de su tasa metabólica hasta cierto nivel de saturación de oxígeno en el agua. Una vez que este nivel se alcanza, el organismo empieza a conformar su respuesta al oxígeno disponible. Este nivel se considera como el principio del nivel letal o punto crítico (Villarreal, 1989). En este punto, la energía obtenida por medio de la respiración es utilizada solo para las funciones metabólicas esenciales. Un organismo que presente un menor punto crítico de oxígeno estará mejor preparado ante condiciones de hipoxia en los estanques. Además de los bajos niveles de oxígeno, existen múltiples factores bióticos y abióticos que pueden influenciar el estado fisiológico de los animales como pueden ser: la temperatura, el pH, la salinidad, los nutrientes y sus metabolitos, la falta de alimento, la competencia (densidades de siembra), el estado de maduración sexual y los ciclos de muda. En condiciones adversas, los animales llevan a cabo un proceso de aclimatación el cual incluye respuestas fisiológicas, bioquímicas y de comportamiento para permitirle compensar los cambios y sobrevivir (McMahon, 2001).

Tradicionalmente, la metodología utilizada para la determinación del metabolismo energético, es la calorimetría indirecta, en la cual se asume que toda la energía se deriva del metabolismo oxidativo de carbohidratos, lípidos y proteínas (Gelineau *et al*., 1998). Por otro lado, la evaluación del metabolismo respiratorio a través del consumo de oxígeno es un indicador sensible y no invasivo de la condición fisiológica que nos puede ayudar a cuantificar la cantidad de energía que está siendo utilizada por el organismo (Hopkins y Cech, 1994). Además, este es un valor que permanece casi constante, independientemente de la oxidación de grasas, carbohidratos o proteínas (Schmidt-Nielsen, 1997), por lo que las variaciones de los valores normales, estaría reflejando un estado o condición fisiológica diferente. La determinación de la tasa metabólica y el punto crítico de oxígeno han sido utilizados en la acuicultura para conocer la respuesta de adaptación de los organismos a condiciones cambiantes y/o estresantes en los sistemas de cultivo. Se han reportado valores de tasa metabólica que van de 0.38 a 1.56 mg/O_2/h

en diferentes especies de crustáceos (Wickins, 1976; Paterson y Thorne, 1993; Rosas *et al*., 1995; Villarreal *et al*., 2003;). En cuanto a la estimación del nivel crítico de oxígeno en crustáceos, valores de 2.0 a 1.3 mgO_2/L han sido reportados (Seidman y Lawrence, 1985; Villarreal, 1989; Ocampo *et al*., 2001).

1.6.2 Respuesta inmunológica

C. quadricarinatus al igual que todos los crustáceos, presentan inmunidad innata y carecen de un sistema inmunitario especifico con capacidad de memoria, por lo que estos organismos emplean una serie de efectos celulares y humorales que actúan en conjunto para reconocer y eliminar microorganismos invasores. (Rendón y Balcázar, 2003). A pesar de no poseer el complejo arreglo de células implicadas en el sistema inmune de los vertebrados, los organismos invertebrados presentan mecanismos de defensa inmune altamente eficientes. En crustáceos, se ha demostrado que existen factores en hemolinfa y diversos grupos celulares que poseen una alta capacidad de reconocimiento, semejante a la demostrada por los anticuerpos en vertebrados (Vázquez *et al*., 1998; Bachere *et al*., 2000). En el caso de los acociles de río, como redclaw, su sistema inmune es capaz de detectar cantidades minúsculas de carbohidratos microbianos. A diferencia de los glóbulos rojos, blancos y plaquetas de los vertebrados, los invertebrados poseen hemocitos, los cuales forman parte de la hemolinfa del sistema circulatorio abierto (Söderhäll y Söderhäll, 2002). En el caso de las especies de decápodos, se han identificado lectinas en los hemocitos que actúan como unidades de reconocimiento, las cuales desencadenan diferentes mecanismos de defensa como es el sistema de la profenoloxidasa (proPO) (Vázquez *et al*., 1998). La activación de este sistema es inducida por la presencia de lipopolisacáridos o el B-1-3-glucano (carbohidratos de la pared celular de bacterias Gram negativas y hongos) (Johansson y Söderhäll, 1989). Otro mecanismo de defensa en los crustáceos es la fagocitosis, que es un proceso realizado por los fagocitos, que tienen la propiedad de reconocer e ingerir partículas extrañas como bacterias, esporas o células

muertas del propio organismo (Vázquez *et al*., 1998). En la mayoría de los crustáceos se conoce que los fagocitos pueden encontrarse libres en el hemocele o el exterior de las arteriolas de hepatopáncreas y/o branquias (Factor y Beeckman, 1990). La encapsulación es otro mecanismo de respuesta para la eliminación de partículas extrañas que no pueden ser fagocitadas o destruidas por mecanismos humorales. Se considera que este proceso da muerte a los patógenos o por lo menos restringe su movimiento y crecimiento (Vázquez *et al*., 1998). En las langostas de agua dulce se han identificado tres diferentes tipos de hemocitos circulantes (Söderhäll y Söderhäll, 2002): células hialinas, semigranulares y granulares, las cuales se encargan de inmovilizar y destruir los microorganismos invasivos. En *C. quadricarinatus* se ha logrado identificar una lectina (CqL) que presenta la capacidad de aumentar la producción del anión superóxido de los hemocitos (Pereyra-Morales *et al*., 2017), este mecanismo participa en la eliminación de microorganismos patógenos por fagocitosis (Sánchez-Delgado *et al*., 2014). Además, se han reportado mecanismos como los receptores de tipo Toll en *C. quadricarinatus* (CqToll) los cuales inducen factores anti-lipopolisacáridos en ciertas infecciones como en virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV) (Li *et al*., 2017). Lin *et al*. (2016) demostró que este factor anti-lipopolisacárido en *C. quadricarinatus* (CqALF) ejerce una acción antiviral, al llevar a cabo la ruptura de la envoltura vírica de WSSV. Por otro lado, Duan *et al*. (2014) reportó que los granulocitos de *C. quadricarinatus* pueden llevar a cabo mecanismos de fagocitosis de *Escherichia coli*, y endocitosis de WSSV. Recientemente, Wang *et al*. (2020) identificaron por primera vez el gen de la lectina tipo-C (CqCTL) en *C. quadricarinatus* dentro de los receptores de reconocimiento de patrones, encontrando una alta similitud con CTLs de otras especies, y una mayor expresión en hepatopáncreas. En otro estudio, Gao *et al*. (2020) descubrieron que la secuencia de transcripción parcial del factor de elongación negativa E en *C. quadricarinatus* (CqNELF-E) está regulada por la infección por WSSV, demostrando que este juega un rol antiviral, probablemente vía inhibición de la actividad transcriptómica viral durante la infección.

Edgerton y Owens (1999), Longshaw (2011), Saoud *et al*. (2013), Soowannayan *et al.* (2015), Hsieh *et al*. (2016), Li *et al.* (2017) y Davidovich *et al*. (2019) han indicado que las principales enfermedades reportadas en *C. quadricarinatus* incluyen virus como *Cherax G~ardlavlrus-like virus*, CqBV (*Cherax quadricarinatus* Bacilliform Virus), TSV (Taura Syndrome Virus), CqHRV (*Cherax quadricarinatus* Hepatopancreatic Reo-like Virus), CqSMV (*Cherax quadricarinatus* Spawner-isolated Mortality Virus), PmergDNV (*Penaeus merguiensis* Densovirus), YHV (yellow head virus), DIV1 (Decapod iridiscent virus 1) y WSSV; y enfermedades causadas por otros microorganismos como rickettsias: Rickettsiosis Sistemática de los Acociles (*Coxiella cheraxi*); microsporidios: Enfermedad de la Porcelana (Thelohaniasis), *Vairimorpha chercais* y *Pleistophora* spp.; bacterias: *Mycobacterium gordonae, Corynebacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Vibrio* spp.; y hongos: *Aphanomyces astaci*. Saprolegnia sp., *Fusarium* sp. Se han descrito casos de infecciones con WSSV en cultivos de *C. quadricarinatus* en otros países (Longshaw, 2011). En estanques de cultivo en Australia, Tan y Owens (2000) aislaron y caracterizaron por medios moleculares una bacteria patógena nombrándola *Coxiella cheraxi*, la cual presenta síntomas de infección similares a los reportados por Romero y Jiménez (2002) en Ecuador. Sin embargo, en los sistemas de cultivo en México no se han presentado enfermedades patógenas de importancia comercial que afecten a la especie (Villarreal y Naranjo, 2008).

2. ANTECEDENTES

2.1 Producción de *C. quadricarinatus*

El cultivo comercial de *C. quadricarinatus* se inició rústicamente en Australia a finales de los años setenta. Sin embargo, el cultivo en estanques tecnificados data de 1985, dichos sistemas de producción se basaban en el uso de estanques con fondo de grava en lugar de tierra, el uso de aireación artificial, fertilización, alimento suplementario y escondrijos (Hutchings y Villarreal 1996; Jones y Ruscoe, 1996; Naranjo *et al*., 2004). La Tabla I muestra los diferentes rendimientos que se han reportado en cultivos comerciales de *C. quadricarinatus*, en donde por lo general, las tasas de crecimiento están relacionadas con la densidad de siembra utilizada. En México se tienen pocos reportes de producción a pesar de que varios estados de la republica han incursionado en el cultivo de redclaw. Esto se debe a que muchas de las granjas no reportan sus datos de producción a las subdelegaciones de CONAPESCA y esta instancia no realiza esfuerzos por dar seguimiento a las estadísticas de producción de redclaw, tal y como lo hace con otras especies de camarones peneidos o peces de agua dulce.

Tabla I. Parámetros de desempeño productivo reportados para cultivos comerciales de *C. quadricarinatus*.

Tiempo (días)	Densidad (ind/m^2)	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Tasa de crecimiento (g/sem)	Supervivencia (%)	Biomasa (kg/ha)	FCA	Referencia
90	4	1.5	30-34	2.4	50-65			Salame y Rouse, 2000
113	2.7	6.3	58.6	3.2	58-74			Metts *et al*., 2007
97	2.5	5.8	57	3.7	61-70			Thompson *et al*., 2006
	2.5	4.6	70.5		46-61			Thompson *et al*., 2004
70	2.4	8.1	64.7	5.7	33-48			Webster *et al*., 2004
97	3.5	3.0	27	1.7	79	653	1.4	Austin, 1993
	3	16.9		2.2	77-88			Jones y Ruscoe, 2000
				0.7		1,098		Curtis y Jones, 1995

	5		38		72	1,422		Pinto y Rouse, 1996
248	1.3	56.0	98.6	1.2		3,500	0.87	Villarreal y Naranjo, 2006
	15	3.0	15.9	1.5	94	1,800	1.45	Naranjo-Páramo., 2009
	7		41.2	2.1				Arzola-González, 2012
			59.8		81	2,895	1	Nuñez-Amao *et al*., 2016

2.2. Mejoramiento genético

2.2.1 Caracterización de la diversidad genética

Para incrementar la producción asegurando la sostenibilidad del cultivo a largo plazo es necesario implementar estrategias de mejora genética continua. Estas deben incluir la caracterización de la población fundadora actual y las poblaciones parentales divergentes (Gjedrem *et al*., 2012). En cuanto a la población de CIBNOR, recientemente Valencia-Valdez (2014) utilizó seis loci microsatélites desarrollados para *C. quadricarinatus* (Baker *et al*., 2000) y realizó estimaciones de diversidad genética en tres poblaciones de cultivo provenientes de los estados de Tamaulipas, Michoacán, Baja California Sur y una población de cultivo en Argentina. Se encontró que la línea argentina presentó un mayor número de alelos y valores más altos de heterocigosidad observada y esperada en comparación con las líneas mexicanas, de las cuales Tamaulipas presentó los valores más altos de diversidad. Recientemente, Mora-Castrejón, 2019 evaluó las mismas poblaciones mexicanas y encontró valores más altos de diversidad genética en la población de Baja California Sur, lo que demuestra que dichos niveles pueden variar con el tiempo. En otro reporte, Baker (2008) analizó muestras de poblaciones en Australia y encontró valores de numero de alelos y heterocigosidad más altos que los reportados en México. Por otro lado, He *et al*. (2012) reportó valores de número de alelos en líneas de cultivo en China muy similares a los reportados en México. Dichos resultados muestran una reducción de la diversidad genética principalmente en poblaciones de cultivo en México y en China, lo cual puede estar relacionado con la utilización de organismos de los estanques de engorda

como reproductores, lo que puede incrementar la endogamia a través de las generaciones.

2.2.2 Programas de mejoramiento basados en el entrecruzamiento

La era moderna de los programas de mejoramiento genético se inició en la década de 1970 con los programas de cría selectiva de salmón en Noruega (Gjedrem, 2004). Dichos programas se basan en la selección de progenitores que posean un alto valor genético aditivo para un fenotipo deseado. Por otro lado, los programas de cruzamientos (apareamiento de dos características/poblaciones diferentes de una misma especie) hacen uso de la variación genética no aditiva a través de la identificación de heterosis (FAO, 2009). Existen numerosos reportes de la presencia de heterosis positiva en estudios de cruzamientos. En peces dulce acuícolas se ha reportado heterosis en crecimiento de más de 25% (Bentsen *et al*., 1998; Sunarma *et al*., 2010; Luo *et al*., 2014; Piwpong *et al*., 2016) y en moluscos, dicha heterosis ha alcanzado hasta 28% (Hedgecock *et al*., 1995; Zheng *et al*., 2006; Zhang *et al*., 2019). Existen numerosos estudios de cruzamientos en especies de crustáceos como *Procambarus clarkii*, *Macrobrachium rosenbergii*, *Litopenaeus vannamei*, *Fennropenaeus chinensis*, *Penaeus stylirostris*, etc., donde se han reportado heterosis de crecimiento de hasta 37% (Bosworth *et al*., 1994; Tian *et al*., 2006; Goyard *et al*., 2008; Lin *et al*., 2010; Than *et al*., 2010; Lu *et al*., 2015; Dharaneedharan *et al*. 2016). El inicio de los estudios sobre selección genética en *C. quadricarinatus*, se basó en la comparación de las poblaciones naturales de Australia (Jones y Ruscoe, 1996). En dicho estudio, se encontró la mayor abundancia y diversidad genética de *redclaw* en las cincos principales cuencas hidrográficas en la base del golfo de Carpentaria, (Mitchell, Gilbert, Flinders, Leichhardt y Gregory) en Queensland. Los programas de mejoramiento genético en *C. quadricarinatus* llevados a cabo en Australia se han basado principalmente en la implementación de dos etapas: (1) El apareamiento de reproductores provenientes de diferentes ríos; y (2) la selección de los organismos más grandes de la progenie de

dichas cruzas, los cuales corresponderán a los padres de la segunda generación (F2). McPhee y Jones (1997) utilizaron organismos provenientes de los ríos Gilbert y Flinders, estableciendo una heterosis de peso de cosecha en F2 de 4.47%. Sin embargo, una heterosis negativa de -4.47% se observó en la F2 cuando los progenitores no fueron sometidos a selección para organismos grandes. McPhee *et al*. (2004) llevaron a cabo la formación de una nueva cepa base denominada "Walkamin", al cruzar recíprocamente dos de las líneas seleccionadas derivadas de McPhee y Jones (1997). En la segunda generación, se obtuvo un incremento del 9.5% respecto al control. Por último, Stevenson (2013), llevó a cabo la generación de una nueva cepa de redclaw de rápido crecimiento, con alta diversidad genética y libre de enfermedades en Australia denominada "The Tolga strain", basada en organismos provenientes de ocho granjas comerciales, la línea Walkamin y organismos de tres poblaciones del medio natural. El número promedio de alelos por línea genética varió entre 2.5 y 7.5, mientras que los estimados de heterocigosidad observada fueron moderados variando entre 0.32 y 0.78, concluyendo que en las granjas las prácticas de reproducción han sido adecuadas para evitar altos niveles de endogamia. Con cruzas en un diseño de apareamiento rotacional, en el cual machos provenientes de cada línea se fueron apareando secuencialmente con hembras de una línea diferente, se encontró un incremento acumulado de 16.0% en la cepa Tolga, comparado con la cepa Walkamin.

2.3 Estimación de la tasa metabólica y punto crítico de oxígeno

El estudio más reciente en *C. quadricarinatus* es el que se llevó a cabo por Carreño-León *et al*. (2014), en el, se estimó la tasa metabólica y punto crítico de oxígeno a 28°C la cual es la temperatura optima de la especie (Villarreal, 2002). Los resultados mostraron que juveniles de 1.5 g presentaron una tasa metabólica de 0.19 $mgO_2/g/h$ y un punto crítico de oxígeno de 1.07 $mg/O_2/L$; mientras que a los 5 g dicha tasa fue de 0.06 $mg/O_2/g/h$ y el punto crítico fue de 0.50 mg/O2/L. Finalmente, en organismos pre-adultos de 10 g, la tasa

metabólica estimada fue de 0.08 mg/O_2/g/h y el punto crítico de oxígeno fue de 0.48 mgO_2/L. En lo que respecta a crustáceos, ha habido muy pocos estudios sobre variabilidad genética en consumo de oxígeno. Álvarez (1998) reportó heredabilidades de entre 0.278 y 0.851 en *Penaeus paulensis*, Monge (2001) reportó heredabilidades mayores a cero, mientras que Cabrera-Toledo (2001) no observó variabilidad genética para el consumo de oxígeno en *L. vannamei*. Sin embargo, a la fecha no hay reportes del uso de la tasa metabólica y/o punto crítico de oxígeno en la implementación de un programa de selección para mejoramiento genético en redclaw, y dado que la tasa metabólica de un organismo refleja su capacidad de crecimiento, mantenimiento y reproducción, esta puede ser objeto de selección.

2.4 Estudios de respuesta inmune en *C. quadricarinatus* y otros acociles

Se ha demostrado que *C. quadricarinatus* es susceptible a diferentes enfermedades de crustáceos de carácter comercial como WSSV y virus de la cabeza amarilla (YHV), y que estas enfermedades pueden transmitirse a las especies nativas de camarón afectando los cultivos comerciales (Soowannayan y Phanthura, 2011; Soowannayan *et al*., 2015). Además, existen numerosos reportes de infecciones patógenas en *C. quadricarinatus* en diferentes partes del mundo, aunque algunas de estas no han llegado a representar epizootias en sí. Edgerton y Owens (1999) llevaron a cabo estudios de histopatología en granjas del norte de Queensland, y encontraron una alta prevalencia de "*C. quadricarinatus* bacilliform virus" (CqBV) y "*Giardiavirus*-like virus". Entre diciembre de 2013 y enero de 2014, se reportaron mortalidades en granjas comerciales en Taiwan. Hsieh *et al*. (2016) encontraron que el agente causante de esta enfermedad fue *Aphanomyces astaci*. Davidovich *et al*. (2019) reportaron una co-infección de *Mycobacterium gordonae* y "*C. quadricarinatus* bacilliform virus" (CqBV) en sistemas de cultivo cerrados en Israel. Xu *et al*. (2016) llevaron a cabo la caracterización preliminar de un nuevo iridovirus patogénico denominado *C. quadricarinatus* iridovirus (CqIV). Por ello,

los estudios de la respuesta inmune a infecciones causadas por patógenos específicos son fundamentales. Estudios de respuesta ante infecciones bacterianas y virales han sido realizados en diferentes especies de acociles. Makkonen *et al*. (2014) y Becking *et al*. (2015), en ambos estudios evaluaron la respuesta inmune del cangrejo de río (*Astacus astacus*) ante una infección con diferentes cepas virulentas del hongo *Aphanomyces astaci*, y encontraron diferentes tasas de mortalidad dependiendo del genotipo del parásito, el número de zoosporas utilizadas en la infección y la población de cangrejo de río utilizada. En otro estudio, Ambas *et al*. (2013) realizaron un reto patológico con *Vibrio* en marrón *Cherax tenuimanus*, Liu *et al*. (2013) reportaron, por su parte, 100% de mortalidad después de cuatro días en *C. quadricarinatus* infectados con WSSV, mientras qué una dosis no-letal de *Aeromonas hydrophila* no produjo mortalidad en organismos infectados. En ambas infecciones se presentaron patrones de expresión similares de profenoloxidasa y superóxidodismutasa citosólica dependiente de manganeso, por lo que se determinó que existen mecanismos de defensa en *C. quadricarinatus* que se inducen por WSSV y *A. hydrophila*. Xu *et al*. (2016) llevaron a cabo un reto por inyección de 2 µl g^{-1} del peso corporal, con una dilución de $1:10^6$ de CqIV purificado de iridovirus (CqIV/DIV1) en *C. quadricarinatus*, *Procambarus clarkii* y *Litopenaeus vannamei*. Se observó una mortalidad del 100% a los 18, 19 y 15 días, respectivamente. Wang *et al*. (2020), por su parte, realizaron retos bacteriológicos con *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahemolyticus* y *Aeromonas hydrophila*, observando altas mortalidades dentro de las primeras seis horas post inoculación. A pesar de que han sido reportados múltiples microorganismos patógenos de *C. quadricarinatus* en diferentes países, a la fecha, en México no ha sido reportada la presencia de alguno de estos que represente un impacto en los sistemas de producción, por lo cual es de vital importancia evitar su ingreso, ni aún con fines de investigación. *Staphylococcus saprophyticus*, así como otras especies pertenecientes al género *Staphylococcus*, son conocidos como potenciales patógenos de diversas especies de cultivo con presencia en México, por ejemplo *S. pasteuri* en peces marinos (Garcia-Mendoza, 2017) o *S. aureus* en camarón (López-Simeón *et al*., 2007), por lo cual, la hacen

una especie ideal para uso en investigación, sin el riesgo de introducción de una especie patógena exótica en el país.

Como estrategia para mitigar el impacto de enfermedades en los cultivos acuícolas, se le ha dado gran importancia a los programas de cría selectiva y el desarrollo de líneas genéticas resistentes a enfermedades. Algunos programas buscan una acción génica aditiva, al seleccionar organismos que sobreviven a enfermedades específicas. Durante el apareamiento, los progenitores contribuyen de igual manera y de forma unidireccional a la mejora en la resistencia de la siguiente generación (Tave, 1995; Moss y Doyle, 2005). Sin embargo, los reportes basados en la acción génica no aditiva para incrementar la resistencia a enfermedades de una población por medio de cruzas recíprocas no han dado buenos resultados. Esto se debe a que el sistema inmune de crustáceos es innato y no muestra una alta heredabilidad (Gitterle *et al.,* 2007; Hauton, 2012). A pesar de ello, la capacidad fisiológica e inmunológica del organismo puede mostrar diferencias en función a la información genética disponible (Ibarra *et al*., 2007), por lo que puede evaluarse esta respuesta como estrategia de selección en programas que buscan incrementar capacidades específicas de la especie a partir de un núcleo de pool genético ampliado con pedigrí. Por ello, esta línea de investigación debe explorarse, dado que los programas de selección se pueden incrementar la homocigosidad de las poblaciones, pudiendo perderse capacidades específicas de adaptación.

2.5 Avances biotecnológicos en el cultivo de *C. quadricarinatus* en CIBNOR

El CIBNOR ha venido realizando investigación enfocada al desarrollo del cultivo de *C. quadricarinatus* desde el año de 1994 (Naranjo-Páramo, 2009). Las líneas de investigación se han basado principalmente en la eliminación del recambio de agua, la reducción de la aireación y la reducción del factor de conversión alimenticia (Naranjo-Páramo, 2009). Bajo este enfoque, se han logrado rendimientos de hasta 5,000 kg/ha en ciclos de 6 meses,

implementando tecnologías para un cultivo más eficiente, reduciendo los costos de producción (Naranjo *et al*., 2000; Naranjo-Páramo, 2009; Núñez-Amao *et al*., 2018). Además, también se han realizado estudios sobre reproducción y desarrollo embrionario (García-Guerrero *et al*., 2003 a,b; Serrano-Pinto *et al*., 2003; 2004; Villarreal *et al*., 2003), requerimientos de proteína y energía, estrategias de alimentación, caracterización de enzimas digestivas (Campaña *et al*., 2004; 2005; López-López *et al*., 2003; 2005), respuesta fisiológica y tasa metabólica (Carreño-León *et al*., 2014), análisis bioeconómico bajo un modelo estocástico (Nuñez-Amao *et al*., 2016; Naranjo-Páramo *et al*., 2018) y más recientemente, la caracterización y mejoramiento genético de la población base de CIBNOR (Valencia-Valdez, 2012; Mora-Castrejón, 2019; Hernández-Gurrola *et al*., 2020).

3. JUSTIFICACIÓN

Como se mencionó en el punto 1.4, el desarrollo del cultivo de *C. quadricarinatus* en México requiere del reabastecimiento de reproductores seleccionados de los estanques de engorda, lo que puede propiciar la pérdida de variabilidad genética por endogamia (Villarreal y Naranjo, 2010). Una endogamia bien coordinada y planeada puede ser beneficial, mientras que una endogamia involuntaria e improvisada puede tener repercusiones negativas en los parámetros del rendimiento productivo (FAO, 2009). Respecto a la población de CIBNOR, Valencia-Valdez (2012) ya demostró un incremento de la endogamia y una reducción de la diversidad genética en comparación con otras poblaciones en el mundo. Una de las estrategias que se ha utilizado para incrementar la variabilidad genética en una población de cultivo, es la cruza entre líneas genéticamente diferenciadas (Mora-Castrejón, 2019). Este incremento en la diversidad genética puede mejorar la eficacia biológica de la población, así como aspectos económicamente relevantes tales como el crecimiento, la supervivencia y el factor de conversión alimenticia. Por otro lado, se puede proporcionar a los organismos una mejor capacidad de adaptación a condiciones ambientales cambiantes, y mejorar la resistencia a enfermedades. En al ámbito económico y social, la presente investigación puede contribuir a mejorar los rendimientos en los cultivos comerciales de la especie, haciéndola más atractiva para su implementación en otras regiones y, de esta manera, contribuir con la seguridad alimentaria y la diversificación de la acuicultura en el país. En el ámbito científico, este es el primer estudio en que se evalúa el cruzamiento de poblaciones genéticamente divergentes en México, y el efecto de este, en la respuesta productiva. Además, es el primer reporte en que se evalúa el efecto que puede tener dicho cruzamiento en la respuesta fisiológica e inmunológica de *C. quadricarinatus* en el mundo.

4. HIPOTESIS

El cruzamiento de individuos de *Cherax quadricarinatus* de la población de Baja California Sur (CIBNOR), con individuos de poblaciones genéticamente divergentes, provenientes de los estados de Tamaulipas y Michoacán, incrementará la variabilidad genética de la población. Dicho incremento, se verá reflejado en un diferencial de respuesta, por un lado, en cuanto a la fecundidad de la población, así como en su respuesta productiva (crecimiento, supervivencia y factor de conversión alimenticia). Además, el incremento en el acervo génico, propiciará una diferencia en la respuesta de las cruzas respecto a los parentales, en términos de respuesta fisiológica frente a hipoxia e inmunológica a partir de un reto patológico específico.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar tres líneas divergentes de *Cherax quadricarinatus*, Baja California Sur, Tamaulipas y Michoacán, y los cruces recíprocos de dos y tres orígenes, a partir de la respuesta reproductiva, fisiológica, inmunológica y zootécnica.

5.2 Objetivos particulares

1. Evaluar la fecundidad y capacidad de producción de juveniles de las tres líneas parentales y las cruzas reciprocas de dos y tres orígenes de líneas divergentes de *C. quadricarinatus,* y definir los niveles de heterosis.
2. Evaluar el desempeño zootécnico productivo (crecimiento, supervivencia y factor de conversión alimenticia) durante la etapa de pre-cría, de las líneas parentales y cruzas recíprocas establecidas, y definir los niveles de heterosis
3. Evaluar el desempeño zootécnico productivo (crecimiento, supervivencia y factor de conversión alimenticia) durante la etapa de engorda en cultivo monosexual, de las líneas parentales y sus cruzas reciprocas y definir los niveles de heterosis.
4. Evaluar la respuesta fisiológica de pre-adultos de *C. quadricarinatus*, a fin de establecer la tasa metabólica y el nivel de punto crítico de oxígeno saturado en el agua, de las líneas parentales y las cruzas recíprocas establecidas y definir los niveles de heterosis.
5. Evaluar la respuesta inmunológica de pre-adultos de la especie a partir de un reto patológico bacteriano, en términos de supervivencia de las líneas parentales y de las cruzas recíprocas establecidas y definir los niveles de heterosis.

6. MATERIAL Y METODOS

6.1 Localización geográfica

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones de BIOHELIS, el Parque de Innovación Tecnológica de CIBNOR y del Programa de Acuicultura del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), ubicado en el municipio de La Paz, en el estado de Baja California Sur, México. Las coordenadas de localización son 24°8'8" latitud norte y 110°25'36" longitud oeste; 0 metros sobre el nivel del mar.

6.2 Origen de las poblaciones parentales utilizadas

La población base utilizada en el presente estudio, corresponde a la población de CIBNOR en La Paz, Baja California Sur, la cual se mantiene en cultivo intensivo en estanques recubiertos con plástico (HDPE). Las poblaciones parentales para las cruzas reciprocas provienen de una granja semi-intensiva (El Vergel) en Soto la Marina, Tamaulipas y de una granja extensiva cercana a la ciudad de Nueva Italia en el estado de Michoacán. El origen de las tres líneas se remonta a una única población proveniente de Australia que fue introducida en México a mediados de los años 1990 por la Dirección de Acuacultura de la Secretaria de Pesca (Naranjo, 2009).

6.3 Unidades experimentales

Los reproductores de cada población parental fueron mantenidos en cultivo monosexual (machos y hembras por separado), en estanques a cielo abierto de 100 m^2. Los estanques fueron llenados a una profundidad de 1.3 m con agua salobre (3-5 g/L) y fueron suplementados con aireación artificial continua mediante un aireador tipo "turbo blower" de 10 HP (Baldor Industrial Motor, Baldor Electric Co®., Ft. Smith AR, Estados Unidos). Se

utilizaron dos tipos de escondrijos para la protección de los organismos (Figura 4), los cuales consistieron en bloques de concreto de 25 × 25 × 12 con cuatro orificios de 6 cm de diámetro; y paneles de malla sintética de 1 m^2, con un tamaño de poro de 5 mm, colocados en 3 líneas colgadas a lo largo del estanque. La etapa de reproducción de las líneas específicas y el desarrollo de las familias del pre-cría se llevó a cabo en la nave INNOVA 1B de BIOHELIS, el Parque de Innovación Tecnológica del CIBNOR. Se utilizaron tanques de plástico circulares de 1.7 m de diámetro, 2.26 m^2 de área y 1.5 m^3 (1.500 L) de volumen (Figura 5). En cada tanque se colocaron escondrijos de fondo elaborados con tubos de PVC de 3” diámetro y 30 cm de largo, así como racimos de malla de nylon similares a los mencionados anteriormente (Figura 6). Cada tanque fue llenado con agua salobre (0.73 ± 0.01 g/L) filtrada y desinfectada por medio de luz ultravioleta. La aireación fue suplementada de igual forma por un sistema de aireación independiente, mediante “turbo blowers” de 10 HP, distribuidos mediante tubería PVC de 4” y manguera circular con microporo de 0.5” con válvulas de control de flujo en cada tanque. La etapa de engorda mono-sexual se llevó a cabo en las instalaciones de BIOHELIS, se utilizaron dos estanques a cielo abierto de 1,000 m^2 (50 × 20 m), recubiertos con geomembrana plástica (HDPE) (Figura 7). De igual manera, se utilizaron escondrijos de paneles de malla sintética y bloques de concreto. Los bloques fueron distribuidos homogéneamente en el fondo del estanque, para proveer refugio al 100% de los organismos sembrados. Posteriormente, los estanques fueron llenados con agua salobre (3-5 g/L) de pozo a una profundidad de 1.5 m (1,500 m^3).

Figura 4. Escondrijos utilizados como protección para *C. quadricarinatus* durante la evaluación de engorda monosexual.

Figura 5. Tanques de plástico de 1,500 L de capacidad utilizada durante la etapa de pre-cría de *C. quadricarinatus.*

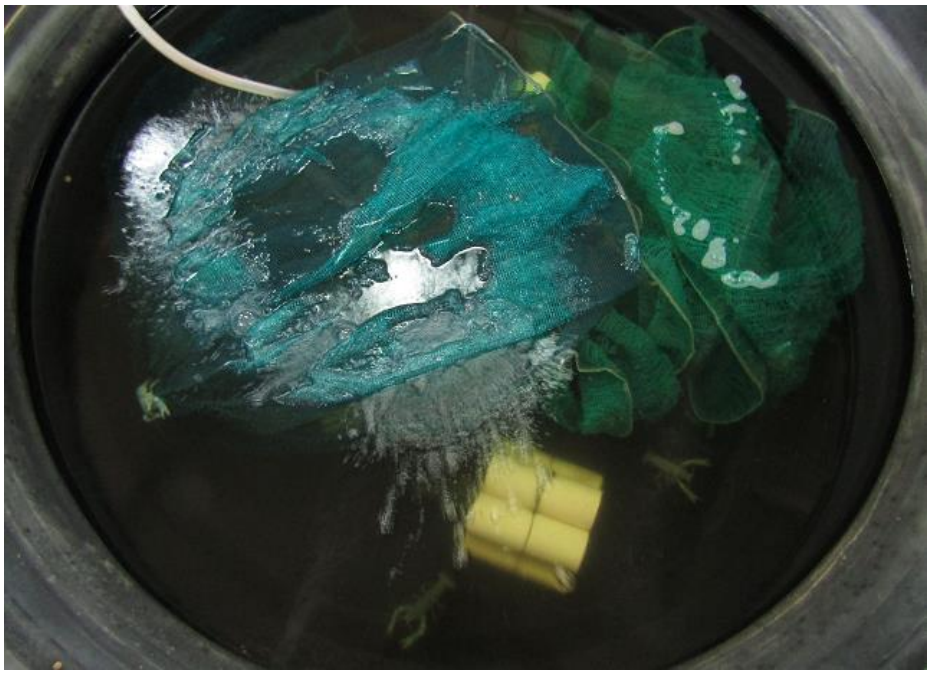

Figura 6. Escondrijos de mala de nylon y tubos de PVC utilizados para la protección de juveniles de *C. quadricarinatus* durante la etapa de pre-cría.

Figura 7. Estanque a cielo abierto de 1,000 m^2 recubierto con geomembrana plástica HDPE utilizado para la engorda monosexual de *C. quadricarinatus*.

6.4 Conformación del pie de cría

El programa de cruzamientos se llevó a cabo en dos etapas (Figura 8): en la primera etapa, machos y hembras del CIBNOR y de Tamaulipas fueron utilizados y se realizaron cruces recíprocos. La metodología fue la siguiente: en cada unidad experimental de la nave INNOVA 1B se colocaron cuatro hembras y un macho con la finalidad de asegurar el apareamiento. Después de que una hembra presentara el espermatóforo fijado en la región ventral a la altura del quinto par de periópodos, se retiró el macho y las demás hembras, iniciando el monitoreo del desarrollo embrionario de los huevos fijados en los pleópodos de la hembra (Villarreal y Naranjo, 2010). Una vez que los juveniles eclosionaron, se retiró la hembra y se permitió a los juveniles desarrollarse. Durante esta etapa se establecieron cuatro grupos: CIBNOR (C:C), Tamaulipas (T:T), y sus cruzas recíprocas C:T y T:C. En esta nomenclatura, la primera letra corresponde a la hembra y la segunda al macho (♀:♂). Los juveniles de las familias conformadas fueron cultivados durante 120 días en estanques a cielo abierto hasta alcanzar un peso de 25 g, momento en el que se llevó a cabo una separación por sexos para el cultivo monosexual, donde se llevaron a un peso aproximado de 60 g. Machos y hembras de origen C:T y T:C se mantuvieron independientemente en tanques de fibra de vidrio de 3 m de diámetro y 1 m de profundidad (7,000 L), se suplementó aireación artificial continua y fueron alimentados una vez al día (17:00 horas). En la segunda etapa del programa, se seleccionaron al azar reproductores de dichos tanques para realizar cruzas individuales con machos y hembras provenientes de Michoacán (peso promedio= 64.41 ± 10.90 g). Para la conformación de las familias, se seleccionó a un macho y una hembra de cada origen y se mantuvieron cada par en los tanques de plástico de 1,500 L de INNOVA 1B. Como resultado, se establecieron 97 familias en trece diferentes grupos: cinco familias para cada grupo parental (C:C, T:T y M:M), cinco familias para cada grupo de dos orígenes, y 13 familias para cada grupo de tres orígenes (CT:M, TC:M, M:CT y M:TC). Estos últimos cuatro grupos corresponden al núcleo genético de pool ampliado de CIBNOR. Los grupos parentales y las cruzas de dos orígenes, se utilizaron como grupos de referencia para establecer niveles de heterosis.

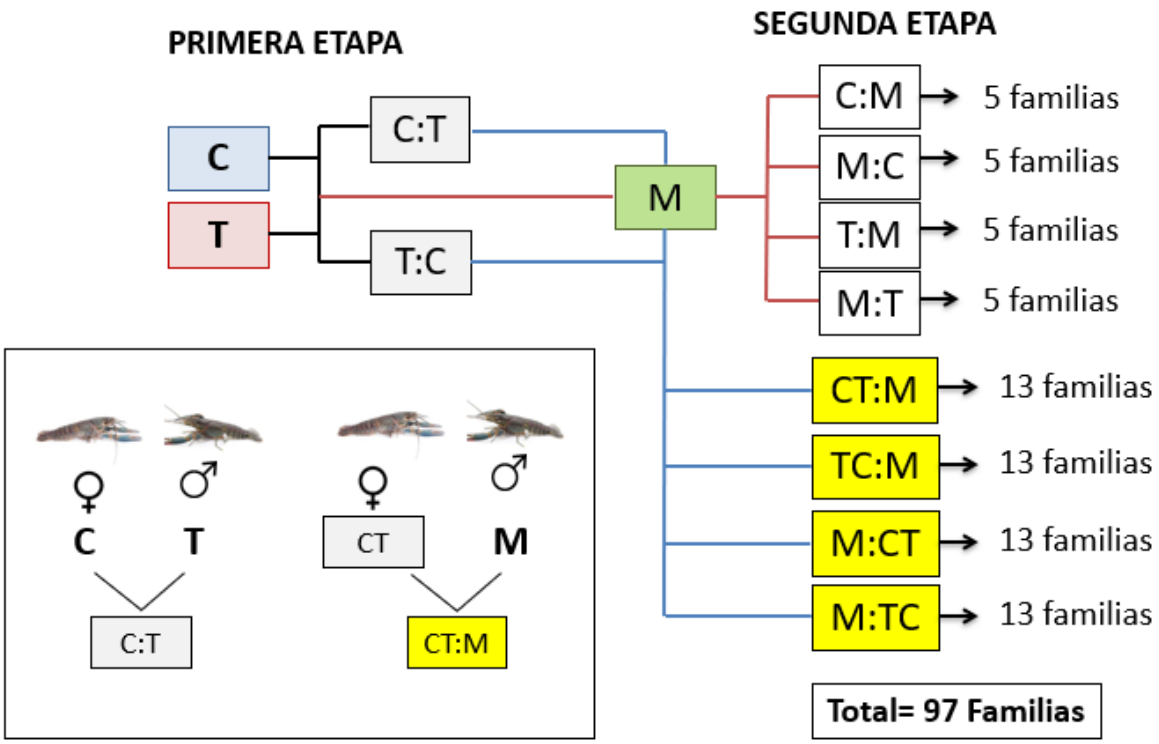

Figura 8. Esquema de la conformación de familias del pie de cría de *Cherax quadricarinatus*, mediante el cruzamiento de las líneas parentales (C= Baja California Sur,(CIBNOR), T= Tamaulipas y M= Michoacán).

6.5 Manejo y condiciones experimentales

Durante la etapa de pre-cría en tanques de 1,500 L, los juveniles fueron alimentados de acuerdo a la tabla de alimentación elaborada por Hutchings y Villarreal (1996), utilizando un alimento peletizado comercial (Camaronina® Purina 35% PC). Diariamente se monitoreó la concentración de oxígeno disuelto, temperatura, pH y salinidad, utilizando una sonda multiparámetros YSI Professional Plus®. Además, cada semana se llevó a cabo el sifoneo del fondo de los tanques para la remoción de solidos compuestos por alimento no consumido, heces y materia orgánica. Posteriormente se realizó un recambio de agua equivalente a 40% con agua previamente filtrada y tratada con luz ultravioleta. Durante la etapa de engorda monosexual no se realizó recambio de agua en los estanques; sin embargo, cada mes se llevó a cabo la reposición de pérdidas por evaporación. Los

organismos en cultivo monosexual fueron sembrados a una densidad de 5 ind/m^2. En esta etapa, se utilizó un alimento comercial de 30% PC (Camaronina® Purina), el cual fue suministrado dos veces por día a las 07:00 y 19:00 horas, con una ración estimada en la tabla de alimentación mencionada previamente. De igual forma, se registraron diariamente los parámetros de calidad de agua con una sonda YSI Professional Plus®.

6.6 Evaluación del desempeño productivo

6.6.1 Fecundidad y desempeño en la etapa de pre-cría

Dada la dificultad de llevar a cabo un conteo manual de los huevos directamente en los pleópodos de las hembras (Figura 9), sin dañarlos o removerlos, se siguió la siguiente metodología para la estimación de la fecundidad: se utilizaron 10 hembras grávidas de cada línea específica de reproductores, de las que se removieron y se contaron los huevos manualmente. Posteriormente, el número de huevos se dividió entre el peso de la hembra para obtener un índice del número de huevos por gramo de la hembra. Este índice se utilizó en cada grupo experimental para la determinación de la fecundidad sin afectar a la hembra o los juveniles. A continuación, y para evitar mortalidades innecesarias, se dejó a los juveniles desarrollarse durante 45 días para posteriormente realizar el conteo de los mismos, con la finalidad de determinar el número de juveniles producidos por cada hembra. Posteriormente, una muestra de 30 juveniles fue pesada utilizando una balanza de precisión Ohaus Scout Pro®, escala de precisión: 600 g × 0.001, para determinar el peso inicial, y cada quince días durante 195 días. Al final de la prueba, se determinó el peso final, la tasa de crecimiento (peso final – peso inicial / número de días), la supervivencia (número final de organismos / número inicial de organismos × 100), y el factor de conversión alimenticia (alimento suministrado / ganancia de biomasa).

Figura 9. Huevos unidos a los pleópodos en el abdomen de una hembra de *C. quadricarinatus*.

6.6.2 Evaluación del desempeño en la etapa de engorda monosexual

Para la identificación de las 97 familias, se utilizó el implante de elastómeros visible de diferentes colores. La aplicación de elastómero fluorescente se llevó a cabo por inyección interna del mismo utilizando una jeringa hipodérmica (Figura 10). La aplicación de este se realizó en la parte interna del abdomen, tanto en el lado izquierdo como en el derecho en los primeros cuatro segmentos. El elastómero en su forma líquida, una vez inyectado se vuelve rápidamente sólido y flexible, y es fácilmente visible bajo una luz ultravioleta (Figura 11). En total se utilizaron seis colores (amarillo, verde, azul, rosa, rojo y naranja) en 20 combinaciones. En la nomenclatura diseñada, el primer número corresponde al segmento abdominal que va en dirección de la unión del cefalotórax al telson, la siguiente letra corresponde a la primera letra del color del elastómero utilizado en inglés (amarillo= Y, verde= G, azul= B, Rosa= P, Rojo= R y Naranja= O), y la última letra corresponde al lado en que se sitúa la marca en el abdomen (i= izquierda, d= derecha). En algunas familias se

utilizó una nomenclatura especial con marcas del mismo color. En otras familias se utilizan dos claves separadas por un guion, que equivalen a dos marcas de diferente color en la misma langosta (Tabla II). Se llevaron a cabo biometrías cada quince días con la finalidad de estimar el crecimiento y después de un periodo de 120 días, se cosechó el total de langostas de los estanques y se registró tanto el peso individual como el número total de organismos. Los parámetros de desempeño estimados fueron los mencionados en el punto 6.6.1 para la etapa de pre-cría (tasa de crecimiento, supervivencia y factor de conversión alimenticia).

Figura 10. Inyección intramuscular del elastómero fluorescente utilizando una jeringa hipodérmica, para la identificación de familias en la etapa de engorda monosexual de *Cheraxquadricarinatus*.

Grupo	Familia 1	Familia 2	Familia 3	Familia 4	Familia 5	Familia 6	Familia 7	Familia 8	Familia 9	Familia 10	Familia 11	Familia 12	Familia 13
M:TC	1Yi	2Yi	3Yi	4Yi	1Yd	2Yd	3Yd	4Yd	1/2Yi	1/3Yi	1/4Yi	1/2Yd	1/3Yd
M:CT	1Gi	2Gi	3Gi	4Gi	1Gd	2Gd	3Gd	4Gd	1/2Gi	1/3Gi	1/4Gi	1/2Gd	1/3 Gd
CT:M	1Bi	2Bi	3Bi	4Bi	1Bd	2Bd	3Bd	4Bd	1/2Bi	1/3Bi	1/2Bd	1/3Bd	1/4Bd
TC:M	1Pi	2Pi	3Pi	4Pi	1Pd	2Pd	3Pd	4Pd	1/2Pi	1/3Pi	1/4Pi	2/3Pi	2/4Pi
M:C	1Ri	2Ri	3Ri	4Ri	1Rd								
C:M	1Oi	2Oi	3Oi	4Oi	1Od								
C:T	1Gi-1Rd	2Gi-2Rd	3Gi-3Gd	4Gi-4Rd	1Gi-4Rd								
T:C	1Yi-1Bd	2Yi-2Bd	3Yi-3Bd	4Yi-4Bd	1Yi-4Bd								
T:M	1Pi-1Rd	2Pi-2Rd	3Pi-3Rd	4Pi-4Rd	1Pi-1Rd								
M:T	1Oi-1Bi	2Oi-2Bd	3Oi-3Bd	4Oi-4Bd	1Oi-4Bd								
C:C	1Yi-1Pd	2Yi-2Pd	3Yi-3Pd	4Yi-4Pd	1Yi-4Pd								
T:T	1Oi-1Gd	2Oi-2Gd	3Oi-3Gd	4Oi-4Gd	1Oi-4Gd								
M:M	1Bi-1Rd	2Bi-2Rd	3Bi-3Rd	4Bi-4Rd	1Bi-4Rd								

Tabla II. Sistema de marcaje por elastómeros para la diferenciación de familias en la etapa de engorda monosexual.

Figura 11. Elastómero fluorescente visible bajo una luz ultravioleta en el abdomen de *C. quadricarinatus*.

6.7 Evaluación de la respuesta fisiológica a condiciones de hipoxia

6.7.1 Determinación de la tasa metabólica

Para la determinación de la tasa metabólica y el punto crítico de oxígeno, se seleccionaron 20 organismos de cada una de las 13 diferentes cruzas y recíprocos:. Diez10 machos (peso mínimo= 36.5 g, peso máximo= 83.5 g) y 10 hembras (peso mínimo= 20.0 g, peso máximo= 67.5). Los organismos se colocaron en unidades experimentales de plástico de 60 L (Figura 12) y fueron mantenidos con una aeración constante para su aclimatación, alimentados a saciedad una vez al día. La temperatura se mantuvo en 28°C con la ayuda de un sistema de control de temperatura, SITMA (Figura 13). Veinticuatro horas antes de la evaluación, las langostas de agua dulce se mantuvieron en inanición con la finalidad de que el tracto digestivo quedara vacío a fin de evitar variaciones en la medición del consumo de oxígeno por efecto de los procesos digestivos (Carreño-León *et al*., 2014). La evaluación se llevó a cabo en 10 respirómetros y 2 blancos herméticos de 1 L, con agua

desinfectada a 28°C y saturada con oxígeno. Se colocó un organismo en cada respirómetro y blanco, manteniéndolos con aireación continua por 2 horas a fin de que los organismos se aclimataran a las condiciones de la unidad experimental. Después de las 2 horas, los organismos en los blancos fueron retirados. Esto permitió la transferencia de microorganismos, asociados al animal, a la unidad experimental (Villarreal y Ocampo, 1993). Para la medición del oxígeno disuelto se utilizó un sistema de medición PreSens Presicion (Figura 14a), provisto de un sensor de oxígeno de fibra óptica (505 nm), Needle-Type housing (NTH-L10-TS-NS40/0.4) y un equipo de medición de oxígeno MICROX TX2 controlado por computadora (Figura 14b), utilizando el software TX2 Oxyview V4.16.

Figura 12. Unidades de plástico para la aclimatación de organismos de *C. quadricarinatus* en una unidad de control de temperatura, previo a la evaluación de consumo de oxígeno en respirómetros.

Figura 13. Sistema de 10 respirómetros y 2 blancos herméticos de 1 L, con alimentación individual de oxígeno, utilizados para evaluar el consumo se oxígeno de *C. quadricarinatus*, en una unidad de "baño María" para mantener temperatura constante.

Para determinar la tasa metabólica, se realizó una medición de la concentración de oxígeno disuelto (OD) al inicio del experimento para cada respirómetro, que representa la saturación base o punto de partida de cada unidad. Posteriormente, se registró la concentración de OD cada 15 minutos por espacio de una hora, a fin de obtener una curva de consumo de cinco puntos. Al finalizar la medición, se pesaron cada uno de los organismos evaluados, con una balanza digital Ohaus de 0.001 g de precisión. A los datos de concentración de OD de cada respirómetro se les resta el consumo del blanco y se establece el consumo neto de oxígeno de cada organismo. En función del peso de cada organismo, se determinó la tasa metabólica estándar utilizando la ecuación (1).

$$TME = ([ODf] - [ODi] / P) \quad (1)$$

Donde: TME= Tasa metabólica estándar.

[ODf]= Concentración neta de oxígeno disuelto final.

[ODi]= Concentración de oxígeno disuelto inicial.

P= Peso del organismo

a) b)

Figura 14. a) Sistema de medición de oxígeno MICROX TX2®. b) Sensor de fibra óptica PreSens Presicion® para la medición del consumo de oxígeno disuelto en el sistema de respirometría.

6.7.2 Determinación del punto crítico de oxígeno

Para determinar el punto crítico de oxígeno se utilizó el sistema de respirometría descrito en la sección anterior. Se siguió el mismo protocolo de aclimatación y saturación de oxígeno, Se determinó la concentración inicial de oxígeno disuelto (OD) para cada respirómetro y blancos. Posteriormente, se obtuvo la concentración de OD cada 15 minutos hasta que las lecturas de concentración de OD reflejaron una variación mínima en por lo menos tres registros consecutivos. Para el cálculo del punto crítico de oxígeno se utilizó el software SegReg (www.waterlog.info/segreg.htm). Dicho programa calcula el mejor ajuste de la línea de regresión a los datos, lo que permite calcular un sola regresión sin punto de inflexión, o la posibilidad de generar dos segmentos con un punto de inflexión. La selección del mejor punto de inflexión y el tipo de función, se basa en maximizar el coeficiente de determinación (R^2) y realizar pruebas de significancia (95%) (Sokal y Rohlf, 1995).

6.8 Evaluación de la respuesta inmunológica

6.8.1 Primer bioensayo: evaluación y selección de cepas.

Para la selección del patógeno a utilizar en las pruebas de respuesta inmune, inicialmente se llevó a cabo un experimento en el que se expusieron organismos pre-adultos de *C. quadricarinatus* a cinco cepas bacterianas procedentes de aislados en cultivos de tilapia en el estado de Jalisco en 2018, (cortesía del Dr. Antonio de Anda de CIDIIR-Guasave): No. 54 *Staphylococcus sp*., Cepa PCEP31; No. 63 *Staphylococcus saprophyticus*, Cepa E310; No. 64 *Staphylococcus epidermidis,* Cepa HD14; No. 65 *S. epidermidis* Cepa MSSRF DN34; y No. 80, Bacteria nck303h03c1 (Figura 15).

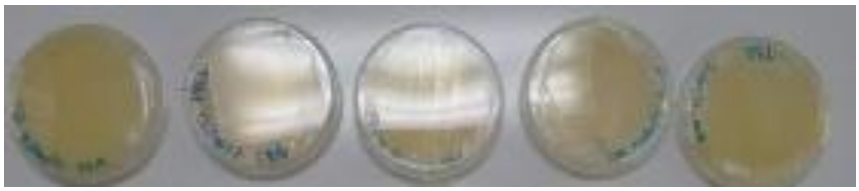

Figura 15. Cepas bacterianas provenientes del aislamiento en una granja de tilapia del estado de Jalisco, utilizadas en las pruebas de reto patológico en *C. quadricarinatus*.

En primer término, se evaluó el grado de patogenicidad de cada cepa, ya que estas nunca se habían evaluado en los lotes de *C. quadricarinatus* en CIBNOR. Para esto, se tomó una colonia individual de cada cepa, se sembraron por separado en medio agar líquido BHI (Brain Hearth Infusion) (Figura 16a) y se incubaron a 30°C, a una velocidad de agitación de 100 rpm durante 24 h (Figura 16b).

a) b)

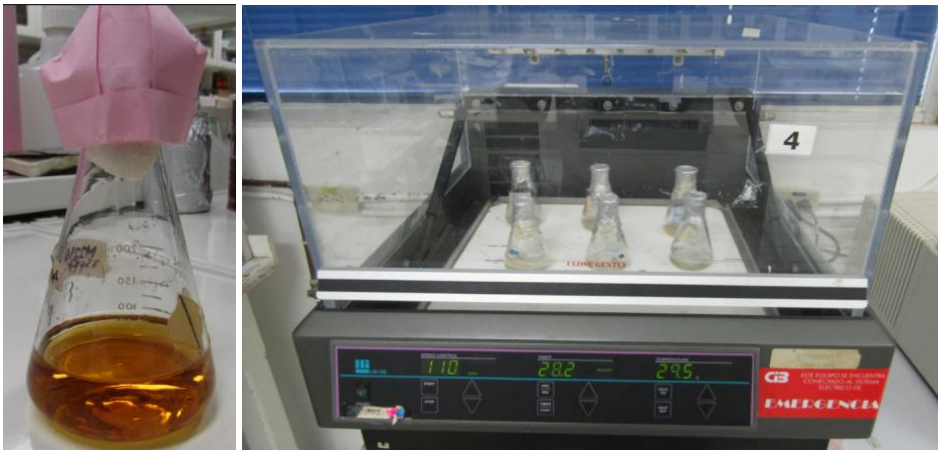

Figura 16. a) Medio agar liquido BHI (Brain Hearth Infusion); b) Incubadora de agitación para el cultivo de las cepas bacterianas utilizadas en retos patológicos de *C. quadricarinatus*.

Para este primer bioensayo, un total de 80 pre-adultos de *C. quadricarinatus* (40 machos y 40 hembras), con peso promedio de 46.34 ± 8.68 gramos, fueron utilizados. Diez organismos (5 machos y 5 hembras) para cada cepa y los tres controles fueron colocados en unidades de plástico de 30 L (Figura 17). Cada unidad contó con aireación artificial por medio de piedra difusora de oxígeno y cuatro tubos PVC, de 2 o 3”, como escondrijos (Figura 18). La temperatura se mantuvo constante en 28 ± 0.5°C utilizando calentadores de agua sumergibles (Figura 18). Los organismos fueron infectados con el inóculo de una de las cinco cepas bacterianas sin dilución, vía inyección intramuscular, por medio de una jeringa hipodérmica. Se utilizaron dos controles negativos: inyección de agua estéril (0.85% NaCl) y sin inóculo, y un control positivo con inyección de *Vibrio parahaemolyticus*. Los resultados mostraron que la cepa 63 (*S. saprophyticus*, Cepa E310) presentó un mayor grado de patogenicidad, con un menor tiempo de acción que *V. parahaemolyticus* (Figura 19), por lo que se procedió a trabajar con dicha cepa bacteriana para los retos patológicos.

Figura 17. Unidades de plástico de 30 L utilizadas en la evaluación de patogenicidad de diferentes cepas bacterianas en *C. quadricarinatus*.

Figura 18. Unidad experimental de 30 L mostrando el **s**istema de aireación con piedra difusora, escondrijos de PVC y calentador sumergible de agua. La unidad se utilizó durante las pruebas de patogenicidad de cepas bacterianas en *C. quadricarinatus*.

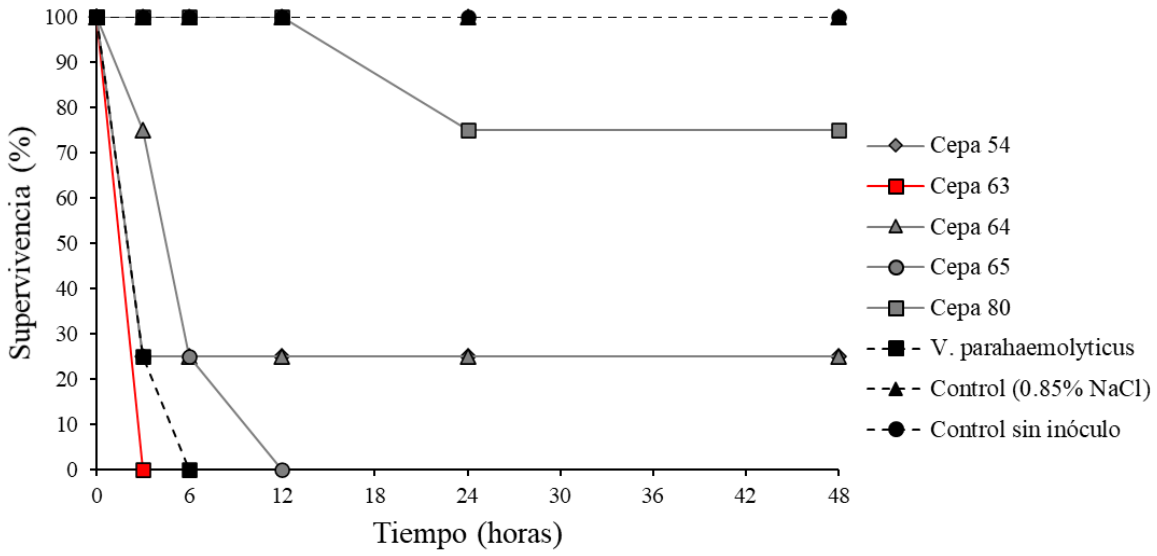

Figura 19. Cambio de la supervivencia en el tiempo post-infección de *C. quadricarinatus*, de 46.34 ± 8.68 gramos, expuestos a cinco diferentes cepas bacterianas (ver texto) y tres controles. Se utilizaron 10 organismos por tratamiento (5 hembras y 5 machos).

6.8.2 Secuenciación e identificación de la cepa 63.

Siguiendo las metodologías establecidas por Rodicio y Mendoza, 2004, se estableció el siguiente procedimiento de identificación de las Cepas evaluadas: Para la extracción del ADN, se tomó un inóculo de la cepa aislada y se sembró en medio agar líquido BHI. Posteriormente, se tomó 1 ml del inóculo y se concentró mediante centrifugación a 1,500 x g durante dos minutos para la precipitación celular. Se removió el sobrenadante y se agregaron 600 µl de una solución de 1X Tris-búfer EDTA. Los tubos se incubaron en un baño de agua a 80°C durante cinco minutos para provocar lisis en las células. A continuación, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se les adicionaron 3 µL de una solución RNasa. Se volvieron a incubar en un baño de agua a 75°C durante 15 minutos y se dejaron enfriar. Posteriormente, se les adicionaron 200 µL de solución para precipitar proteínas, y se agitaron en un vortex a alta velocidad durante 30 segundos, para homogenizar la solución. Para la separación del ADN, se dejaron reposar los tubos en hielo

durante cinco minutos y seguido, se centrifugaron a 15,000 g x durante tres minutos. El sobrenadante se transfirió a tubos con 600 µl de isopropanol, se mezclaron y centrifugaron a 15,000 g x durante dos minutos. Se extrajo el sobrenadante y se adicionaron 600 µl de etanol al 70% para lavar el precipitado de ADN antes de centrifugar a 15,000 g x durante dos minutos. Se agregaron 100 µl de solución Tris-búfer EDTA para re suspender el ADN y se incubaron a 65°C durante una hora en un baño de agua en agitación. Las muestras de ADN se almacenaron en refrigeración (2-4°C). La concentración de ADN se determinó en un espectrofotómetro ND-1000 NanoDrop a una absorbancia de 260 nm. Para el análisis de PCR, se llevó a cabo la amplificación con oligonucleótidos iniciadores. La amplificación del ADN se hizo en un termociclador. Finalmente, el producto de PCR fue visualizado en gel de agarosa al 2%, en condiciones de electroforesis.

6.8.3 Segundo bioensayo: determinación de DL_{50}

Una vez seleccionada la cepa 63 *S. saprophyticus*, se procedió a realizar un recuento celular para determinar la densidad del inóculo. Primeramente, se sembró el inóculo en medio agar BHI líquido y se incubó durante 24 h a 30°C a una velocidad de agitación de 100 rpm. Posteriormente, el inóculo se ajustó a una observancia de 1.0 utilizando un lector de microplaca, y se prepararon cinco diluciones ($1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$ y $1:10^7$) ajustándolas con agua (NaCl 0.85%). De cada dilución se sembraron 200 µL por triplicado en placas Petri con medio solido agar BHI y se incubaron a 30°C durante 24 h. Transcurrido el proceso de incubación se realizaron conteos de unidades formadoras de colonia (UFC) con la ayuda de un contador de colonias y se determinó que, para una absorbancia de 1.0, la cepa 63 presentó una densidad celular de 4×10^7 células mL^{-1}. Para la determinación de la DL50 se realizó una serie de ensayos de infección. En cada uno se utilizó una muestra de 15 organismos (cinco por triplicado) y un control inyectado con agua (NaCl 0.85%). En total se evaluaron cuatro diferentes dosis (5.6×10^6, 7.6×10^6, 9.4×10^6 y 1.7×10^7) de la cepa 63. En base a los resultados obtenidos se decidió utilizar la concentración 5.6×10^6 ya

que, en las dosis más altas, el 50% de mortalidad se alcanzó en tiempos menores a 24 h (Figura 20), lo que deja un margen de tiempo muy corto para evaluar posibles diferencias entre las diferentes cruzas de *C. quadricarinatus*.

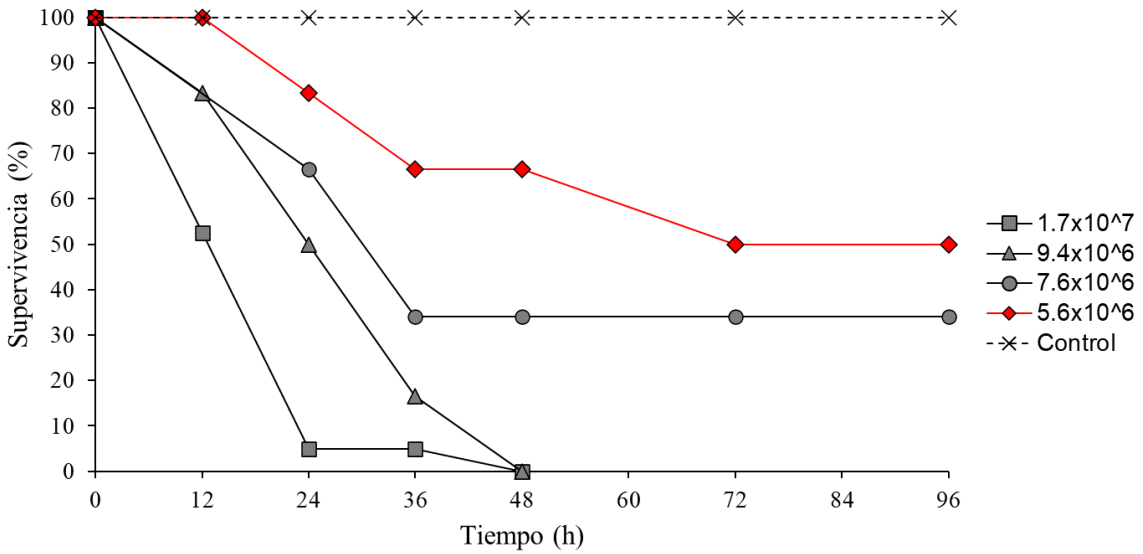

Figura 20. Cambio de la supervivencia en el tiempo post-infección de *C. quadricarinatus*, de 46.34 ± 8.68 g, expuestos a cinco diferentes dosis de la Cepa 63 y un control inyectado con agua (85% NaCl). Se utilizaron 15 organismos por tratamiento.

6.8.4 Diseño experimental del reto patológico

Los organismos utilizados en este experimento fueron obtenidos directamente de los tanques de 1,500 L donde se realizaron los cruzamientos de *C. quadricarinatus*. Para cada una de las cruzas, los organismos con un peso de 20-30 g fueron distribuidos aleatoriamente en cuatro unidades rectangulares de plástico de 40 L de capacidad. La temperatura del agua se mantuvo constante en 28±0.5°C; salinidad 0%; oxígeno disuelto >5mg/L; pH: 8.0; fotoperiodo controlado 12 horas luz:12 horas oscuridad. Se colocaron 10 organismos (5 machos y 5 hembras) en cada unidad, por triplicado, parar cada cruza (CC, TT, MM, CT, CM, TM, MTC, MCT, CTM, TCM) y un control negativo (agua estéril con 0.85%

NaCl). La inoculación se llevó a cabo por medio de inyección intramuscular con una jeringa hipodérmica estéril de 1 ml a una dosis de 5 µL/g de peso del organismo con el inóculo seleccionado (5.6×10^6). Después de la inoculación los organismos fueron alimentados cada 24 h a razón del 4% de la biomasa inicial y el exceso de materia orgánica fue removido por medio de sifoneos, esto para conservar una buena calidad de agua y minimizar los factores externos que pudieran alterar los resultados de la prueba.

6.9 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el programa STATISTICA® Versión 10, StatSoft, Inc. Los datos fueron sometidos a las pruebas de normalidad de *Kolmogorov-Smirnov* y *Shapiro-Wilk´s W*; y al análisis de homogeneidad de varianzas de *Levene*. Cuando los datos no cumplieron las condiciones de normalidad, estos fueron transformados utilizando Log10. Cuando la transformación no fue suficiente para establecer una distribución normal, se utilizó el análisis no-paramétrico de *Kruskal-Wallis*. Se realizaron análisis de correlación de *Pearson* para establecer posibles correlaciones entre los valores de fecundidad con el peso de la hembra reproductora, la temperatura en el momento de la eclosión y el peso inicial de los juveniles 45 días después de la eclosión. Además, se evaluaron posibles correlaciones entre los valores de diversidad genética (número de alelos y heterocigosidad observada) y los parámetros del desempeño productivo (tasa de crecimiento, supervivencia y factor de conversión alimenticia). Los parámetros del desempeño productivo, así como los valores de tasa metabólica, punto crítico de oxígeno y supervivencia frente al reto patológico, fueron comparados utilizando el análisis de varianza de una vía (ANOVA) con una significancia de $P<0.05$. Dado que el número de familias utilizadas en algunas cruzas fue diferente, se utilizó la prueba *Tukey HSD* para N diferente (Sokal y Rohlf, 1995; Spjotvoll y Stoline, 1973). Dada la naturaleza de los datos, se utilizó el diseño de ANOVA anidado para establecer diferencias en el peso inicial, peso final y tasas de crecimiento tanto para la etapa de pre-cría como de engorda

monosexual. Los datos de supervivencia fueron transformados a arco seno para comparar porcentajes.

La heterosis, definida como la diferencia porcentual entre el promedio de las cruzas reciprocas y el promedio de los progenitores (Falconer, 1981), se estimó de acuerdo a la ecuación (2):

$$\text{Heterosis (\%)} = [(F1 - P) / P] \times 100, \qquad (2)$$

donde, F1= valor fenotípico promedio de la cruza recíproca, P= valor fenotípico promedio de ambos parentales. La heterosis específica respecto a cada parental se determinó utilizando la misma ecuación, considerando solamente el valor fenotípico de cada grupo parental, C, T o M.

Los valores de diversidad genética (número de alelos [Na] y heterocigosidad observada [Ho]) de los grupos parentales, las cruzas de referencia y el núcleo, fueron tomados de Mora-Castrejón (2019).

Se realizó una estimación económica del impacto de la heterosis, comparando los resultados de producción en la engorda monosexual de los parentales y el núcleo. Para ello se utilizó un valor de USD$12/kg para organismos de 30 a 90 g (Harkel, 2018; Nuñez-Aamao *et al.,* 2018; Hernández-Llamas *et al*., 2019). Por otro lado, existe un mercado que comercializa organismos de 20-30 g a un precio de USD$8.5/kg (Xiang, 2016; WBRZ, 2020). Mientras que para organismos de >90 g se han reportado precios por kilogramo de USD$22 (Asher Ariel, com. pers. Austalian Crayfish Hatchery, 2020).

7. RESULTADOS

7.1 Etapa de pre-cría

7.1.1 Calidad de agua

La Tabla III presenta los valores promedio (± desviación estándar) de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura durante los 195 días de la etapa de pre-cría. Los valores se mantuvieron dentro de los límites aceptables definidos por Villarreal y Peláez (1999) para el cultivo de *redclaw*.

Tabla III. Promedio general (± DE) de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura en 97 tanques circulares de plástico de 1,500 L, utilizados durante 195 días de cultivo de juveniles de *C. quadricarinatus* provenientes de las diferentes familias generadas en el programa de cruzamiento.

Parámetro (± DE)	Promedio (± DE)	Rango aceptable
Salinidad (g/L)	0.74 ± 0.06	< 6
Oxígeno (mg/L)	7.90 ± 0.53	> 5
pH	8.53 ± 0.13	6.5 – 9.0
Temperatura (°C)	25.60 ± 0.22	23 – 31

7.1.2 Desempeño reproductivo

Los parámetros del desempeño reproductivo (peso de la hembra reproductora, fecundidad absoluta, número de juveniles producidos al día 45 después de la eclosión y el peso de los juveniles producidos al día 45 después de la eclosión) se muestran en la Tabla IV. Respecto al peso de las hembras reproductoras, C:M fue significativamente menor ($P < 0.05$) a M:CT, mientras que las demás cruzas no mostraron una diferencia significativa. Sin

embargo, esta diferencia no tuvo una influencia en cuanto a la fecundidad absoluta, el número de juveniles producidos y el peso de los juveniles al día 45 después de la eclosión. En cuanto al peso de los juveniles producidos, se mostraron algunas diferencias ($P < 0.05$), siendo los grupos parentales los que, en general, mostraron un peso mayor, mientras que las cruzas de referencia presentaron los valores más bajos. Los análisis de correlación de *Pearson* no mostraron relaciones significativas entre los valores de fecundidad absoluta y la temperatura de eclosión ($P = 0.596$) y el peso de las hembras ($P = 0.598$). Del mismo modo, no se encontraron correlaciones significativas entre el peso de los juveniles al día 45 después de la eclosión y la temperatura de eclosión ($P = 0.491$), el peso de las hembras ($P = 0.543$) y la fecundidad absoluta ($P = 0.330$). La Figura 21 muestra el análisis de heterosis del número de juveniles producidos al día 45 después de la eclosión de las cruzas del núcleo. Se determinó una heterosis positiva promedio de 5.33%, 10.05% y 1.38% en CT:M, TC:M y M:TC respectivamente, mientras que M:CT presentó una heterosis negativa de -2.75%. En cuanto al análisis de heterosis especifica respecto a los parentales, los resultados mostraron que CT:M y TC:M fueron las cruzas que mostraron una heterosis positiva respecto al mejor parental, en este caso C, con un 3.57% y 4.35% respectivamente. Aparentemente, la combinación de una hembra de origen CT o TC con un macho de origen M, resulta en una mayor generación de heterosis. Se determinó que el 55% de las familias generadas en las cruzas del núcleo, tuvieron un número de juveniles producidos al día 45 después de la eclosión, superior al del mejor grupo parental (C:C), y la heterosis en dichas familias, varió entre 0.60 y 44.51%.

Tabla IV. Número de muestra, promedios (± DE) del peso de las hembras, fecundidad absoluta, número y peso de los organismos producidos al día 45 después de la eclosión, para los organismos de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo, cultivados en tanques circulares de plástico de 1,500 L.

Grupos	n	Peso de la hembra (g)	Fecundidad absoluta (# de huevos)	# de juveniles al día 45 después de la eclosión	Peso de los juveniles al día 45 después de la eclosión (g)
Parentales					
C : C	5	67.89 ± 4.79[ab]	514.66 ± 37.07[a]	283.07 ± 20.39[a]	0.37 ± 0.03[d]
T : T	5	70.84 ± 4.55[ab]	469.46 ± 33.48[a]	258.21 ± 18.42[a]	0.39 ± 0.01[d]
M : M	5	69.05 ± 16.79[ab]	506.79 ± 16.66[a]	278.73 ± 9.16[a]	0.40 ± 0.03[d]
Cruzas de referencia					
C : T	5	67.12 ± 5.45[ab]	505.42 ± 15.54[a]	277.98 ± 8.55[a]	0.27 ± 0.02[ab]
T : C	5	70.37 ± 5.69[ab]	469.26 ± 29.56[a]	258.09 ± 16.26[a]	0.25 ± 0.02[ab]
C : M	5	54.40 ± 2.99[a]	535.00 ± 40.69[a]	294.25 ± 22.38[a]	0.29 ± 0.02[abc]
M : C	5	68.38 ± 1.12[ab]	465.70 ± 15.80[a]	256.13 ± 8.69[a]	0.38 ± 0.02[d]
T : M	5	68.24 ± 10.60[ab]	521.85 ± 56.09[a]	287.02 ± 30.85[a]	0.23 ± 0.01[a]
M : T	5	64.03 ± 4.74[ab]	515.01 ± 39.44[a]	283.25 ± 21.69[a]	0.32 ± 0.01[bcd]
Cruzas del núcleo					
CT : M	13	61.82 ± 1.53[ab]	533.06 ± 17.35[a]	293.18 ± 9.54[a]	0.33 ± 0.01[cd]
TC : M	13	59.42 ± 2.27[ab]	537.06 ± 26.43[a]	295.38 ± 14.53[a]	0.33 ± 0.01[cd]
M : CT	13	74.25 ± 14.60[b]	492.18 ± 54.53[a]	270.70 ± 29.99[a]	0.36 ± 0.01[d]
M : TC	13	69.86 ± 4.42[ab]	494.73 ± 37.92[a]	272.10 ± 20.86[a]	0.33 ± 0.01[cd]

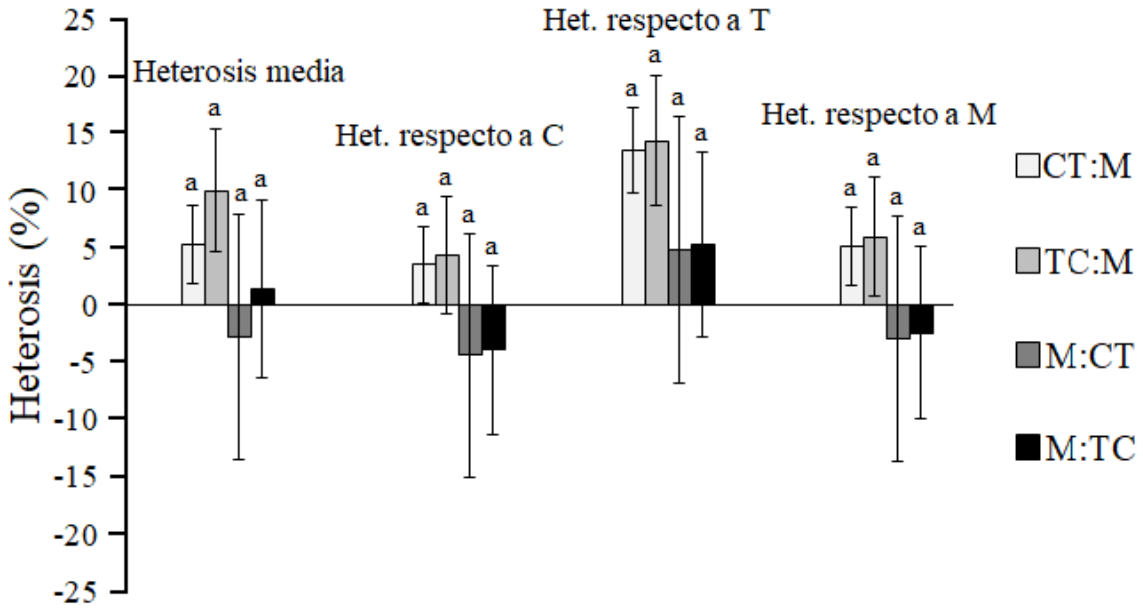

Figura 21. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) del número de juveniles de *C. quadricarinatus* producidos al día 45 después de la eclosión, en las cruzas del núcleo durante la pre-cría. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

7.1.3 Desempeño productivo

La Tabla V muestra el resultado del desempeño productivo de juveniles en la etapa de pre-cría. El peso final y la tasa de crecimiento fue significativamente menor en las cruzas de referencia M:C y M:T en comparación con la parental C:C, las cruzas de referencia C:T y T:C, y las cruzas del núcleo M:CT y M:TC. Los resultados de los grupos parentales y las cruzas de referencia muestran que cuando un reproductor de origen M está incluido, el peso final y la tasa de crecimiento presentan los valores más bajos. La heterosis media para la tasa de crecimiento (Figura 22) fue positiva para TC:M, M:CT y M:TC con un 4.20%, 7.77% y 8.55% respectivamente, mientras que CT:M presentó una heterosis negativa de -1.39%. Por otro lado, el análisis de heterosis específico respecto a cada parental mostró que ninguna de las cruzas tuvo una heterosis positiva respecto al mejor parental (C:C); sin

embargo, M:CT y M:TC fueron muy similares (-0.57% y -0.74% respectivamente). El 40% de las familias del núcleo, presentó una tasa de crecimiento superior al mejor grupo parental (C:C). La heterosis en dichas familias varió entre 0.26% y 32.90%.

Tabla V. Peso final, tasa de crecimiento (TC), supervivencia, factor de conversión alimenticia (FCA), número de alelos (Na)* y heterocigosidad observada (Ho)* de juveniles de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas parentales, de referencia y del núcleo después de 195 días de cultivo en tanques de 1,500 L. (Promedio ± SE)**.

Grupos	Peso final (g)	TC (g/día)	Supervivencia (%)	FCA	Na	Ho
Parentales						
C : C	18.84 ± 0.62^{b}	0.095 ± 0.004^{b}	58.65 ± 6.56^{a}	1.67 ± 0.08^{a}	4.92	0.56
T : T	17.92 ± 0.83^{ab}	0.090 ± 0.005^{ab}	62.77 ± 3.46^{a}	1.80 ± 0.18^{a}	4.50	0.63
M : M	16.18 ± 1.05^{ab}	0.081 ± 0.005^{ab}	58.28 ± 9.36^{a}	2.03 ± 0.28^{a}	3.58	0.57
Cruzas de referencia						
C : T	18.56 ± 1.05^{b}	0.094 ± 0.005^{b}	56.12 ± 3.59^{a}	1.79 ± 0.08^{a}	4.67	0.70
T : C	18.25 ± 0.92^{b}	0.092 ± 0.005^{b}	55.00 ± 2.81^{a}	2.00 ± 0.10^{a}	5.00	0.65
C : M	15.86 ± 0.96^{ab}	0.080 ± 0.005^{ab}	60.06 ± 9.06^{a}	1.88 ± 0.12^{a}	3.67	0.58
M : C	14.53 ± 1.11^{a}	0.073 ± 0.006^{a}	59.98 ± 6.70^{a}	2.37 ± 0.36^{a}	3.75	0.56
T : M	16.43 ± 0.89^{ab}	0.083 ± 0.004^{ab}	56.59 ± 13.77^{a}	2.13 ± 0.35^{a}	3.58	0.61
M : T	14.50 ± 0.38^{a}	0.072 ± 0.001^{a}	62.38 ± 6.08^{a}	2.14 ± 0.27^{a}	3.67	0.59
Cruzas del núcleo						
CT : M	17.13 ± 0.84^{ab}	0.086 ± 0.004^{ab}	59.06 ± 2.89^{a}	1.78 ± 0.10^{a}	4.67	0.70
TC : M	17.93 ± 0.94^{ab}	0.090 ± 0.005^{ab}	57.25 ± 4.60^{a}	1.81 ± 0.16^{a}	4.67	0.61
M : CT	18.73 ± 1.34^{b}	0.094 ± 0.007^{b}	60.70 ± 3.20^{a}	1.80 ± 0.08^{a}	4.00	0.62
M : TC	18.63 ± 1.03^{b}	0.094 ± 0.005^{b}	55.74 ± 5.57^{a}	2.00 ± 0.13^{a}	4.83	0.62

* Tomado de Mora-Castrejón (2019).
** Diferentes superíndices en la misma columna indican una diferencia significativa ($P < 0.05$).

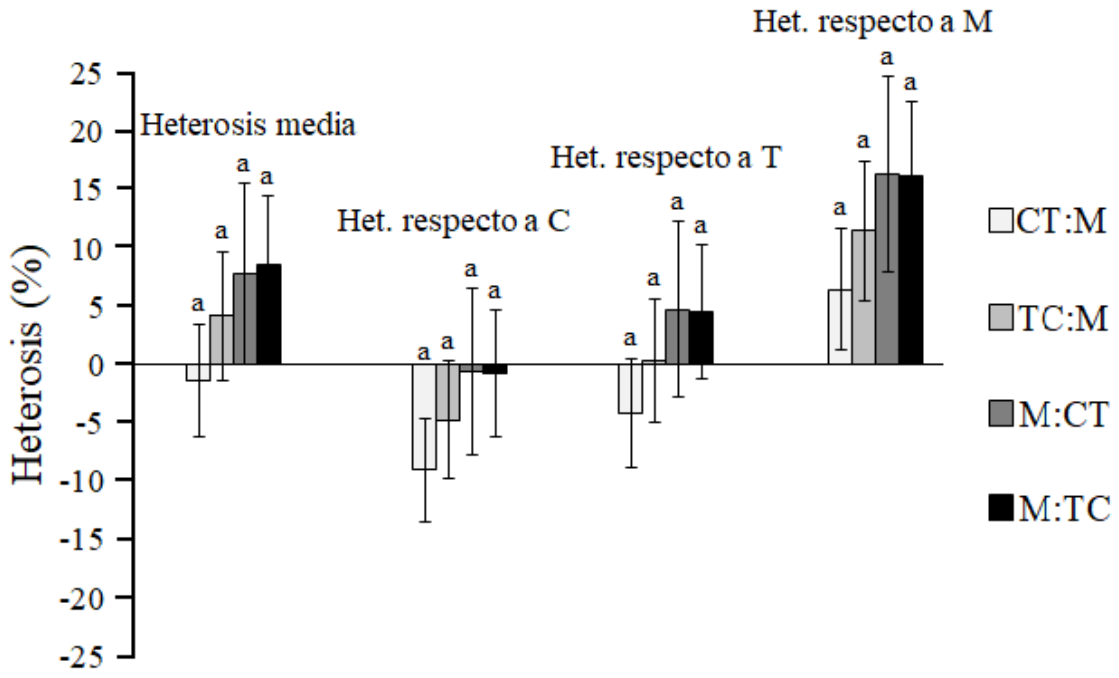

Figura 22. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la tasa de crecimiento en las cruzas del núcleo, después de 195 días de cultivo en la pre-cría de *C. quadricarinatus*. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

La supervivencia promedio después de 195 días de cultivo varió entre 55.00% y 62.77% sin encontrarse diferencias significativas entre los diferentes grupos. La heterosis media fue positiva (Figura 23) para CT:M, TC:M y M:CT con un 3.25%, 1.07% y 6.12% respectivamente, mientras que M:TC presentó una heterosis negativa de -1.58%. Por otro lado, el análisis de heterosis específico respecto a cada parental mostró que ninguna de las cruzas tuvo una heterosis positiva respecto al parental (T:T). El 25% de las familias del núcleo presentó una tasa de crecimiento superior al mejor grupo parental (T:T). La heterosis en dichas familias varió entre 4.05% y 45.30%. Por último, el FCA varió entre 1.67 y 2.37 sin encontrarse diferencias significativas entre los diferentes grupos ($P > 0.05$).

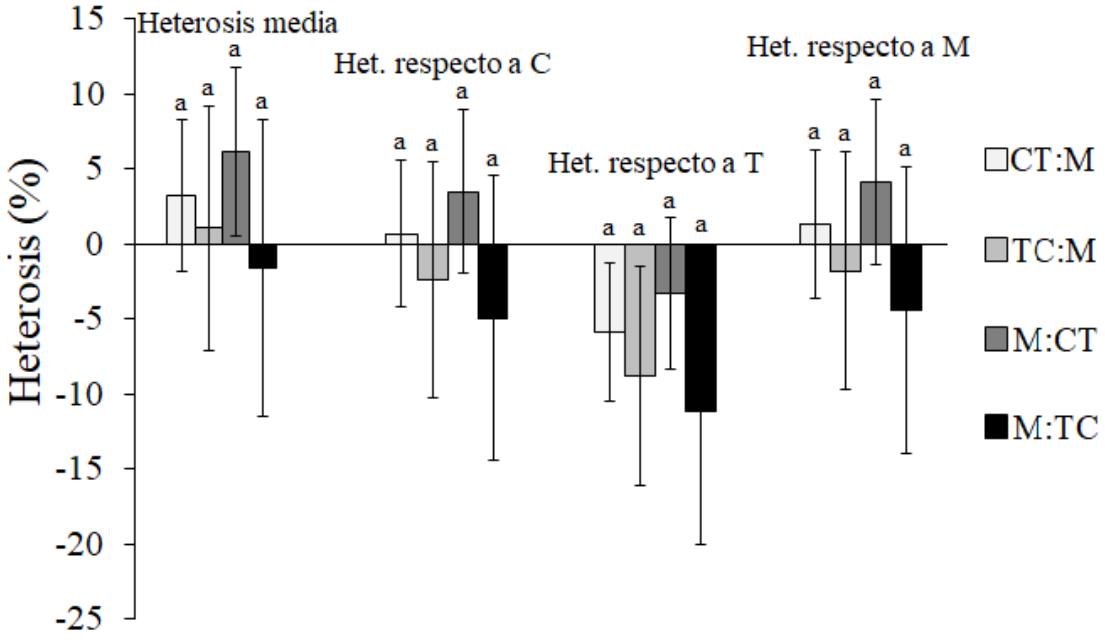

Figura 23. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la supervivencia en las cruzas del núcleo después de 195 días de cultivo durante la pre-cría de *C. quadricarinatus*. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

7.1.4 Correlación entre la diversidad genética y los parámetros productivos

Utilizando la información generada en Mora-Castrejón (2019), que se muestra en la Tabla V, no se encontraron correlaciones significativas entre el número de juveniles producidos al día 45 después de la eclosión y Na (y= 291.37-3.24x; r= -0.13; p= 0.67), así como con Ho (y= 268.22+15.16x; r= 0.05; p= 0.87). Del mismo modo, tampoco se encontraron correlaciones significativas entre la supervivencia y Na (y= 66.95-1.94x; r= -0.44; p= 0.13) y Ho (y= 69.88-18.23x; r= -0.33; p= 0.27). Por otro lado, se determinó una correlación positiva significativa ($P < 0.05$) entre la tasa de crecimiento y el número de alelos (y= 0.27+0.08x; r= 0.78; p= 0.00), y una correlación positiva a un nivel $P < 0.10$, entre la tasa de crecimiento y la heterocigosidad observada (y= 0.24+0.60x; r= 0.48; p= 0.10) (Figura 24).

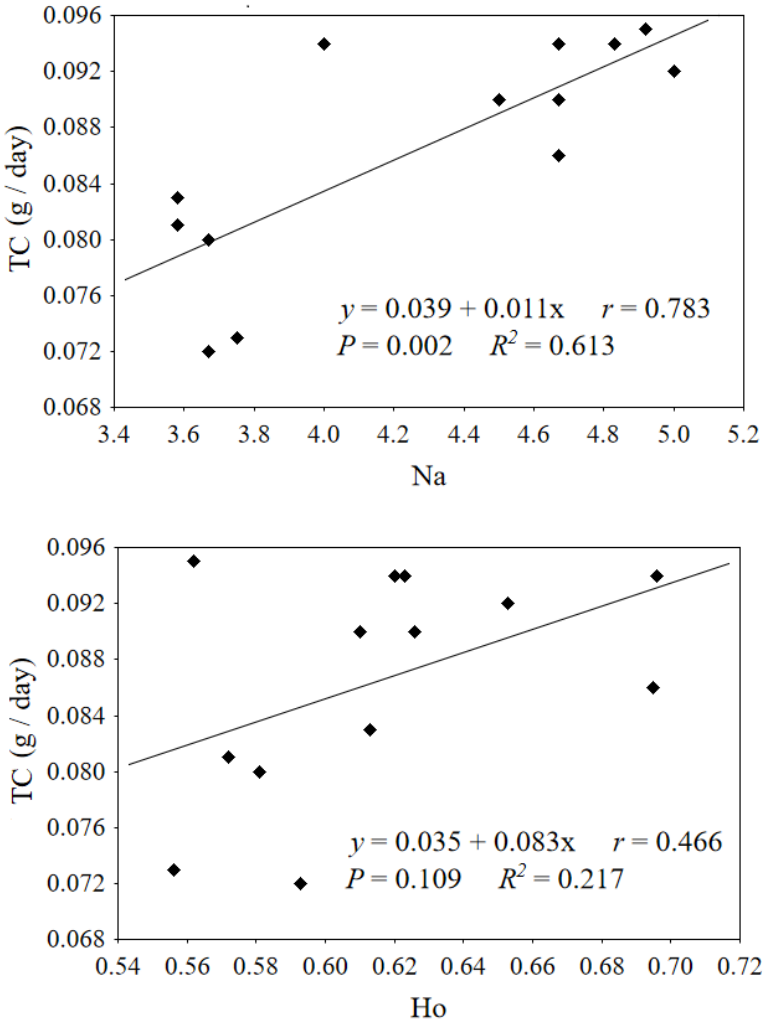

Figura 24. Correlación entre la tasa de crecimiento (TC) después de 195 días de cultivo de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas generadas, con el número de alelos (Na) y la heterocigosidad observada (Ho).

7.2 Etapa de engorda monosexual

7.2.1 Calidad de agua

Los valores promedio de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura en el estanque de machos y hembras de *C. quadricarinatus* durante el ciclo de cultivo se muestran en la Tabla VI. Mientras que la dinámica de dichos parámetros durante los 120 días de cultivo se muestra en la Figura 25 y Figura 26.

Tabla VI. Promedio general (± DE) de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura en los estanques de cultivo de *C. quadricarinatus* de machos y hembras durante el ciclo de cultivo de 120 días.

Parámetro	Promedio (± DE)		Rango aceptable*
	Machos	Hembras	
Salinidad (g/L)	8.17 ± 1.71	6.29 ± 1.19	< 6
Oxígeno (mg/L)	6.43 ± 0.68	6.46 ± 0.94	> 5
pH	8.00 ± 0.33	8.04 ± 0.44	6.5 – 9.0
Temperatura (°C)	27.54 ± 2.74	27.52 ± 2.04	23 – 31

* Límites aceptables para el cultivo de redclaw, definidos por Villarreal y Peláez (1999).

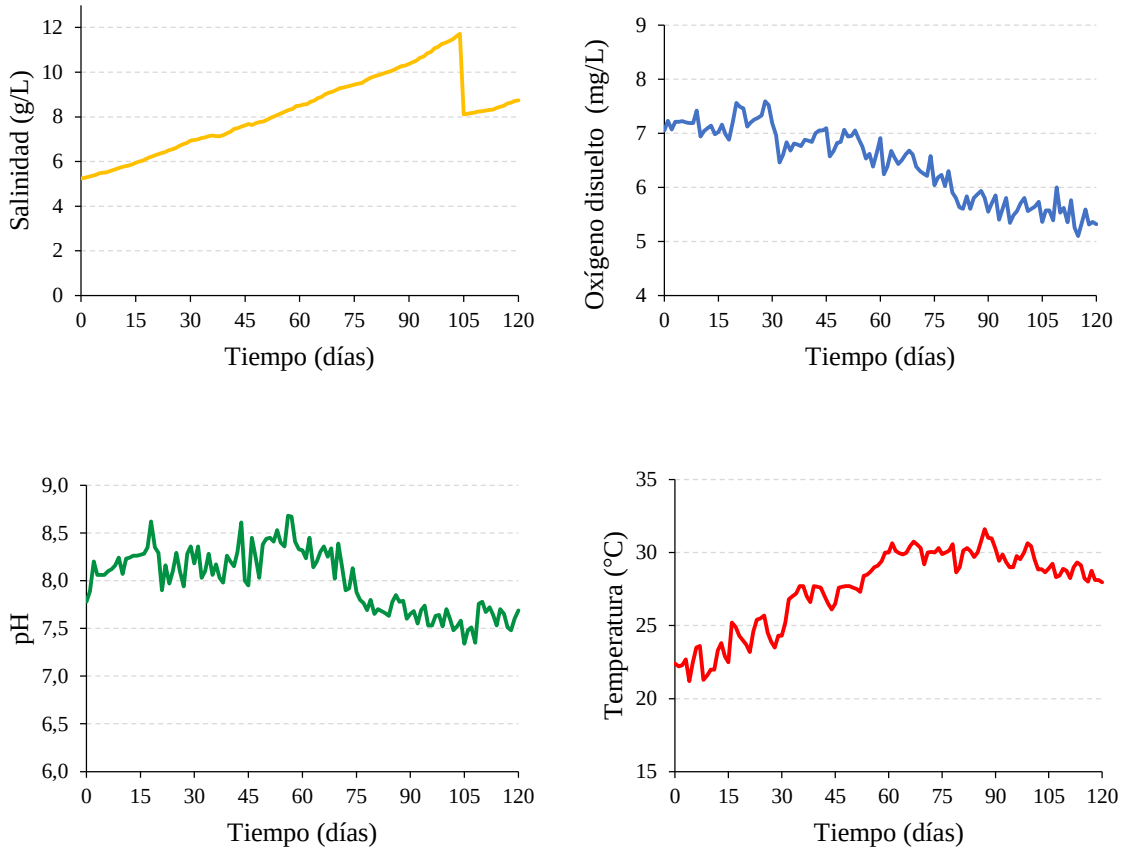

Figura 25. Variación diaria de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura en el estanque de 1,000 m^2 recubierto con membrana HDPE durante 120 días de cultivo de machos de las diferentes cruzas de *C. quadricarinatus.*

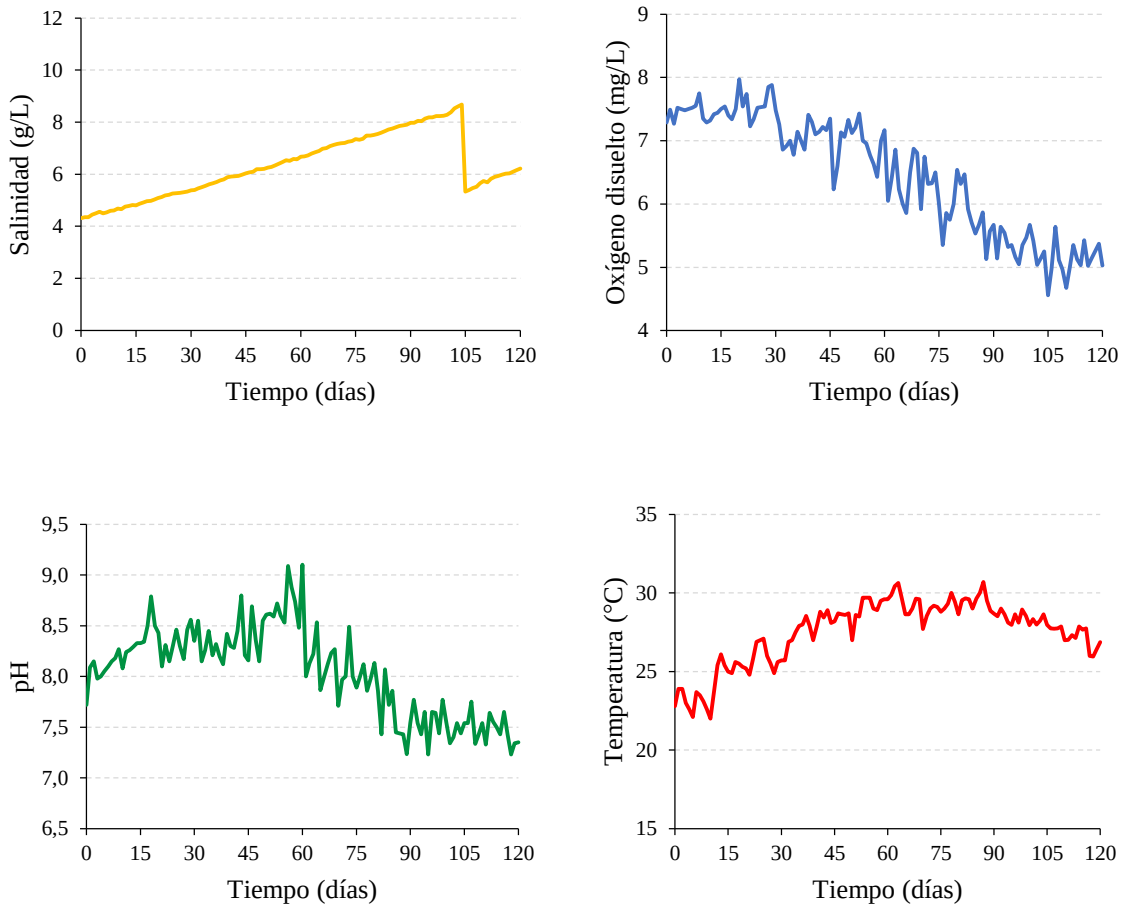

Figura 26. Variación diaria de la salinidad, oxígeno disuelto, pH y temperatura en el estanque de 1,000 m^2 recubierto con membrana HDPE durante 120 días de cultivo de hembras de las diferentes cruzas de *C. quadricarinatus*.

7.2.2 Desempeño productivo

El crecimiento durante los 120 días de cultivo en los estanques de machos y hembras se muestra en la Figura 27 y Figura 28, respectivamente. La Tabla VII y Tabla VIII presentan el resultado del análisis de desempeño productivo en los grupos de machos y hembras respectivamente procedentes de las cruzas de *C. quadricarinatus*. En machos, el peso final de los grupos parentales y las cruzas reciprocas varió entre 50.05 y 60.02 g, mientras que, en hembras, varió entre 40.94 y 49.06 g, sin encontrarse diferencias significativas entre los

grupos evaluados. Sin embargo, tanto en machos como en hembras, las cruzas del núcleo (CT:M, TC:M, M:CT y M:TC) obtuvieron un peso final promedio (59.23 g en machos y 47.82 g en hembras) superior comparado con los grupos parentales (52.72 g en machos y 44.1 g en hembras) y las cruzas de referencia (55.17 g en machos y 43.75 g en hembras). La tasa de crecimiento para los diferentes grupos evaluados varió entre 2.09 y 2.32 g/sem en machos y entre 1.45 y 1.76 g/sem en hembras, sin encontrarse diferencias significativas entre los grupos evaluados. De igual forma, las cruzas del núcleo, tuvieron un valor promedio (2.27 g/sem en machos y 1.72 g/sem en hembras) superior al de los grupos parentales (1.98 g/sem en machos y 1.56 g/sem en hembras) y las cruzas de referencia (2.13 g/sem en machos y 1.60 g/sem en hembras). Las Figuras 29 y 30 muestran resultados de la heterosis de la tasa de crecimiento para machos y hembras de las cruzas del núcleo, respectivamente. Una heterosis media positiva fue evidente tanto para machos como para hembras, la cual fue de 9.77-15.78% en machos y 6.77-13.11% en hembras. El análisis de heterosis específica mostró valores positivos en la totalidad de las cruzas del núcleo para machos y hembras. Respecto al mejor parental (C), la heterosis en machos varió entre 5.07% y 10.55%, mientras que en hembras fue de 1.20% y 8.23%.

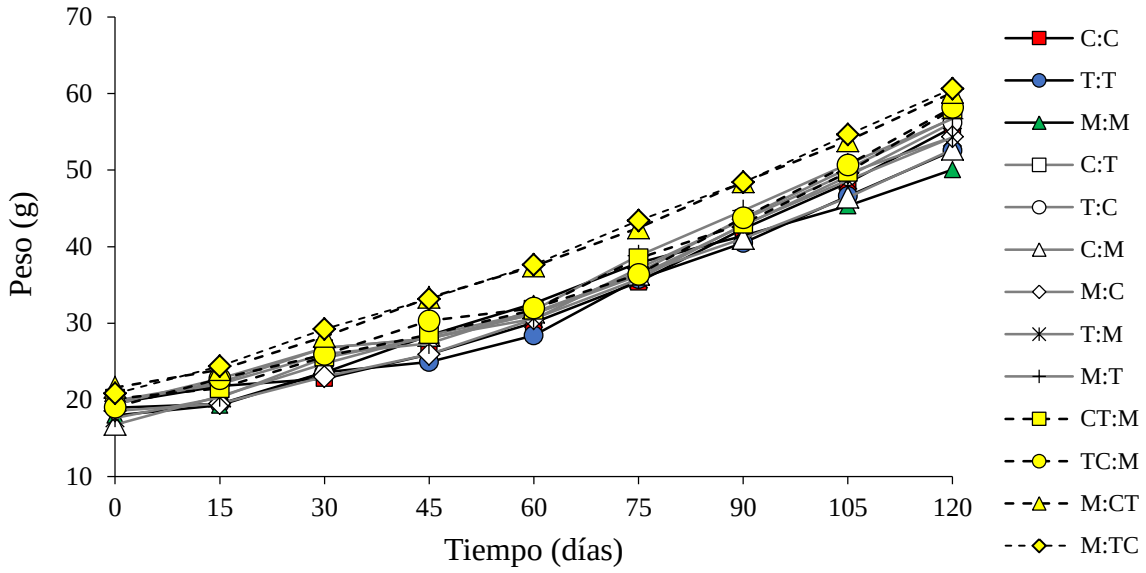

Figura 27. Incremento del peso promedio a través del tiempo en machos adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo durante 120 días de cultivo en estanques recubiertos con membrana HDPE.

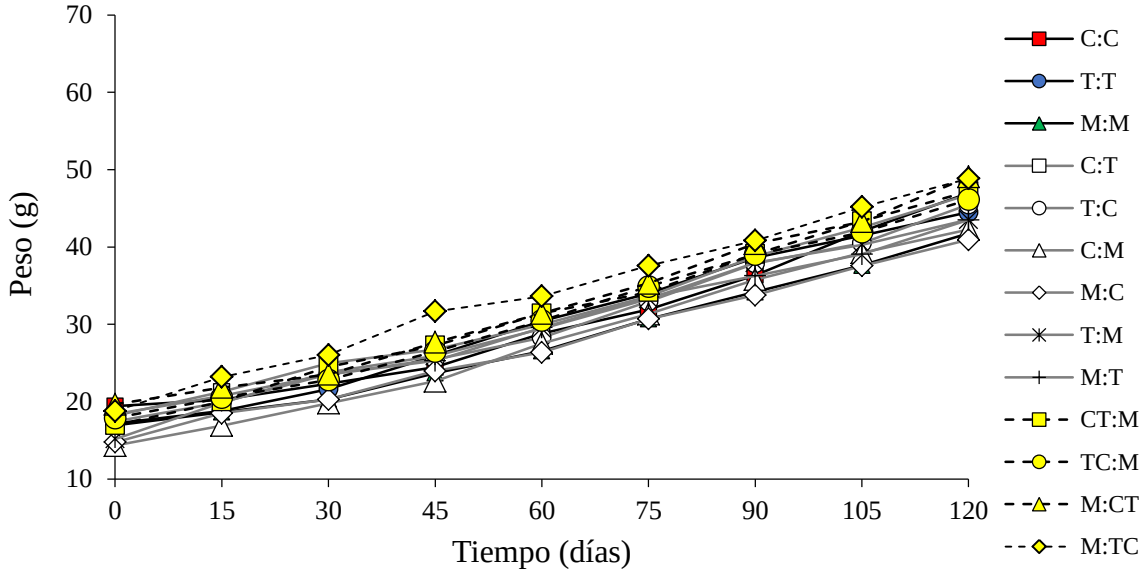

Figura 28. Incremento del peso promedio a través del tiempo en hembras adultas de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo durante 120 días de cultivo en estanques recubiertos con membrana HDPE.

Tabla VII. Peso inicial, peso final, tasa de crecimiento (TC), supervivencia y factor de conversión alimenticia (FCA), de machos adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo, después de 120 días de cultivo en estanques de 1,000 m^2 recubiertos con membrana plástica (Promedio ± SE).

Grupos	Peso inicial (g)	Peso final (g)	TC (g/sem)	Supervivencia (%)	FCA
Parentales					
C:C	19.56 ± 1.74[a]	55.57 ± 1.74[a]	2.10 ± 0.10[a]	70.64 ± 0.51[a]	0.85 ± 0.01[abc]
T:T	18.96 ± 1.05[a]	52.54 ± 1.96[a]	1.96 ± 0.12[a]	71.62 ± 0.86[a]	0.88 ± 0.01[bc]
M:M	17.97 ± 1.80[a]	50.05 ± 4.52[a]	1.87 ± 0.32[a]	70.26 ± 0.63[a]	0.94 ± 0.01[c]
Cruzas de referencia					
C:T	19.91 ± 0.96[a]	56.78 ± 2.40[a]	2.15 ± 0.12[a]	71.20 ± 1.00[a]	0.82 ± 0.01[ab]
T:C	19.45 ± 1.34[a]	56.20 ± 1.90[a]	2.14 ± 0.12[a]	71.90 ± 1.86[a]	0.82 ± 0.02[ab]
C:M	16.76 ± 0.62[a]	52.71 ± 3.59[a]	2.10 ± 0.16[a]	72.47 ± 1.21[a]	0.87 ± 0.01[bc]
M:C	18.55 ± 1.16[a]	54.34 ± 2.20[a]	2.09 ± 0.11[a]	70.05 ± 1.60[a]	0.87 ± 0.02[bc]
T:M	17.62 ± 1.07[a]	54.28 ± 1.41[a]	2.14 ± 0.02[a]	70.64 ± 1.29[a]	0.87 ± 0.02[bc]
M:T	19.80 ± 1.03[a]	56.69 ± 2.50[a]	2.15 ± 0.09[a]	70.11 ± 1.85[a]	0.84 ± 0.02[ab]
Cruzas del núcleo					
CT:M	20.14 ± 1.75[a]	57.97 ± 1.54[a]	2.21 ± 0.09[a]	70.34 ± 0.76[a]	0.81 ± 0.01[ab]
TC:M	19.05 ± 0.79[a]	58.19 ± 3.99[a]	2.28 ± 0.23[a]	70.44 ± 1.00[a]	0.81 ± 0.01[ab]
M:CT	21.61 ± 1.41[a]	60.13 ± 2.44[a]	2.25 ± 0.12[a]	71.61 ± 0.90[a]	0.77 ± 0.01[a]
M:TC	20.82 ± 0.91[a]	60.62 ± 2.80[a]	2.32 ± 0.17[a]	70.39 ± 1.44[a]	0.78 ± 0.01[a]

* Diferentes superíndices en la misma columna indican una diferencia significativa ($P < 0.05$).

Tabla VIII. Peso inicial, peso final, tasa de crecimiento (TC), supervivencia y factor de conversión alimenticia (FCA), de hembras adultas de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo, después de 120 días de cultivo en estanques de 1,000 m^2 recubiertos con membrana plástica (Promedio ± SE).

Grupos	Peso inicial (g)	Peso final (g)	TC (g/sem)	Supervivencia (%)	FCA
Parentales					
C:C	19.05 ± 1.09^{a}	46.99 ± 0.96^{a}	1.63 ± 0.03^{a}	79.41 ± 1.68^{a}	0.86 ± 0.02^{abc}
T:T	17.17 ± 0.44^{a}	44.49 ± 1.32^{a}	1.59 ± 0.08^{a}	74.82 ± 1.36^{a}	0.97 ± 0.02^{abcd}
M:M	16.96 ± 1.17^{a}	41.75 ± 0.94^{a}	1.45 ± 0.05^{a}	73.07 ± 1.61^{a}	1.05 ± 0.02^{cd}
Cruzas de referencia					
C:T	18.17 ± 1.40^{a}	46.77 ± 0.79^{a}	1.67 ± 0.09^{a}	75.88 ± 1.01^{a}	0.90 ± 0.01^{abcd}
T:C	17.42 ± 0.54^{a}	45.48 ± 1.34^{a}	1.64 ± 0.08^{a}	77.46 ± 1.21^{a}	0.91 ± 0.01^{abcd}
C:M	14.33 ± 0.64^{a}	42.25 ± 2.90^{a}	1.63 ± 0.17^{a}	80.37 ± 3.71^{a}	0.95 ± 0.04^{abcd}
M:C	14.75 ± 1.41^{a}	40.94 ± 2.18^{a}	1.53 ± 0.13^{a}	81.85 ± 2.65^{a}	0.96 ± 0.03^{abcd}
T:M	15.18 ± 0.15^{a}	43.53 ± 0.86^{a}	1.65 ± 0.04^{a}	72.32 ± 2.39^{a}	1.02 ± 0.03^{c}
M:T	18.37 ± 1.55^{a}	43.50 ± 2.71^{a}	1.47 ± 0.14^{a}	82.76 ± 3.12^{a}	0.89 ± 0.03^{abcd}
Cruzas del núcleo					
CT:M	16.96 ± 1.58^{a}	47.21 ± 1.09^{a}	1.76 ± 0.07^{a}	78.84 ± 2.92^{a}	0.87 ± 0.02^{abc}
TC:M	17.88 ± 0.76^{a}	46.13 ± 1.30^{a}	1.65 ± 0.08^{a}	77.19 ± 0.93^{a}	0.90 ± 0.01^{bcd}
M:CT	19.66 ± 1.33^{a}	49.06 ± 1.72^{a}	1.71 ± 0.11^{a}	80.72 ± 1.36^{a}	0.81 ± 0.01^{ab}
M:TC	18.79 ± 0.65^{a}	48.86 ± 1.69^{a}	1.75 ± 0.12^{a}	82.64 ± 3.19^{a}	0.81 ± 0.03^{a}

* Diferentes superíndices en la misma columna indican una diferencia significativa ($P < 0.05$).

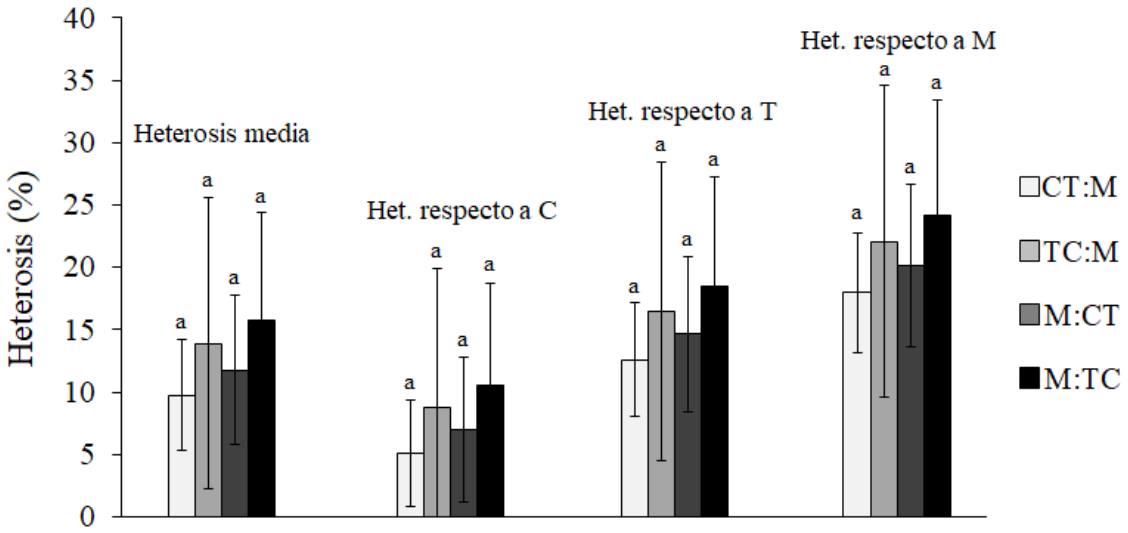

Figura 29. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la tasa de crecimiento de machos en las cruzas del núcleo después de 120 días de engorda monosexual. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

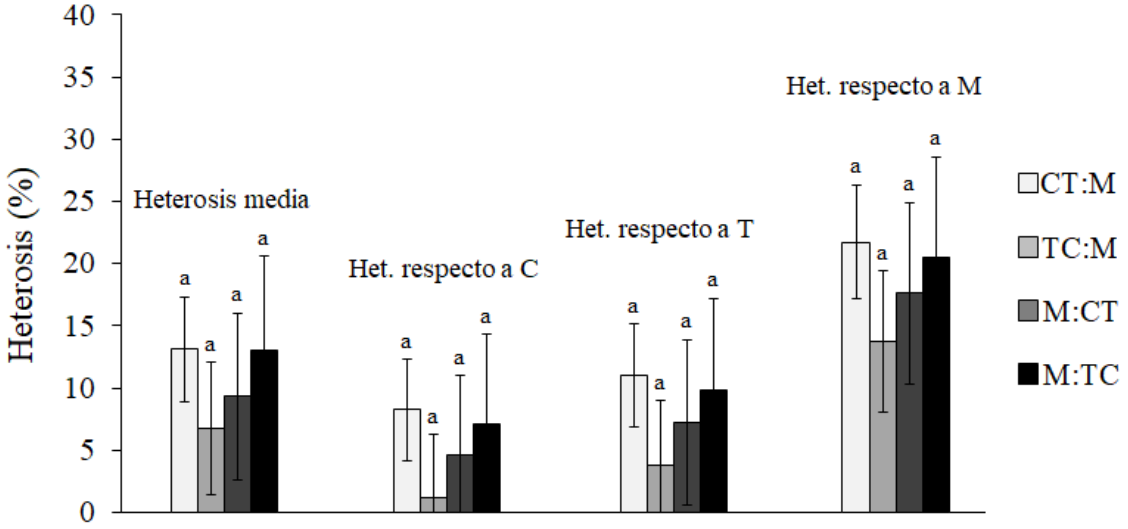

Figura 30. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la tasa de crecimiento de hembras en las cruzas del núcleo después de 120 días de engorda monosexual. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

En general, la supervivencia en hembras fue mayor que en machos. Esta varió entre 72.32% y 82.76% en hembras y entre 70.05% y 71.90% en machos, sin encontrarse

diferencias significativas entre ninguno de los grupos evaluados. La heterosis en supervivencia para machos y para hembras se muestra en las Figuras 31 y 32, respectivamente. En machos, la heterosis media varió entre -0.97% y 1.24%, mientras que en hembras esta variación fue de entre 2.56% y 9.80%. El análisis de heterosis específica respecto a cada parental en machos, mostró que ninguna de las cruzas del núcleo obtuvo una heterosis positiva respecto al mejor parental (T:T). En el caso de las hembras, M:CT y M:TC obtuvieron heterosis positivas respecto al mejor parental (C:C), las cuales fueron de 1.65% y 4.07%.

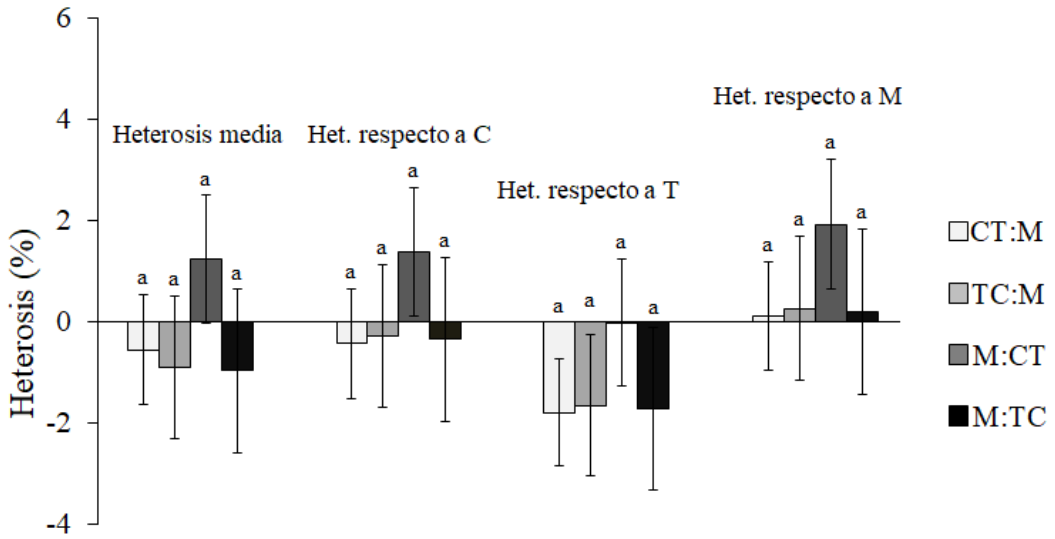

Figura 31. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la supervivencia de machos en las cruzas del núcleo, después de 120 días de cultivo en engorda monosexual. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

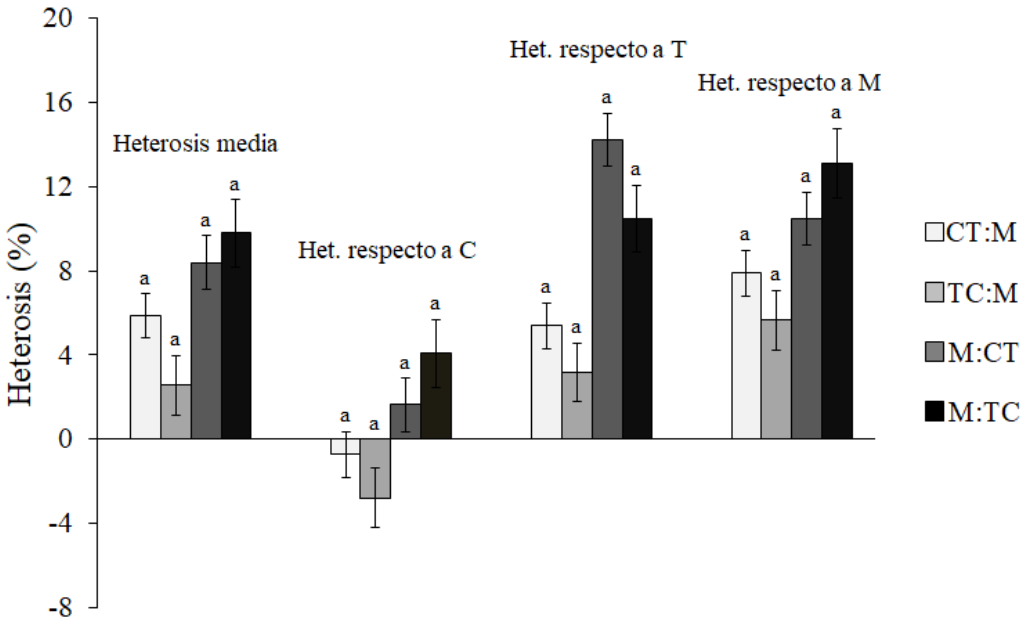

Figura 32. Heterosis media y heterosis específica respecto a cada parental (C, T y M) de la supervivencia de hembras en las cruzas del núcleo después de 120 días de cultivo en engorda monosexual. Los datos se presentan como promedio ± error estándar.

Los valores de FCA en machos variaron entre 0.77 y 0.94, encontrándose algunas diferencias significativas ($P < 0.05$), siendo las cruzas del núcleo las que presentaron los valores más bajos, mientras que el grupo parental M:M produjo el FCA más alto. En el caso de las hembras, los valores de FCA fueron mayores y variaron entre 0.81 y 1.05. De igual forma se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$), siendo M:CT y M:TC las cruzas con los valores más bajos mientras que, tanto M:M como T:M, fueron las cruzas con un FCA mayor a 1.0.

La Figuras 33 y 34 muestran la distribución de frecuencias de los pesos de cosecha de los grupos parentales en los estanques de machos y hembras, respectivamente. En machos, la población de Michoacán presentó el mayor coeficiente de variación (CV),

alcanzando 33.03%, y la frecuencia más alta del porcentaje (45.24%) fue de organismos de 40 g. En cuanto a Tamaulipas, esta presentó un CV de 29.69% y un 23.91% de organismos de 40 g. Mientras que Baja California Sur (C) tuvo un CV de 29.85% y un 21.74% de organismos de 50 g. En el caso de las hembras, Michoacán presentó un CV de 17.50% y un 52.63% de organismos de 40 g, Tamaulipas un CV de 24.82% y un 42.25% de organismos de 50 g, y finalmente Baja California Sur un CV de 24.92% y un 31.07% de organismos de 50 g.

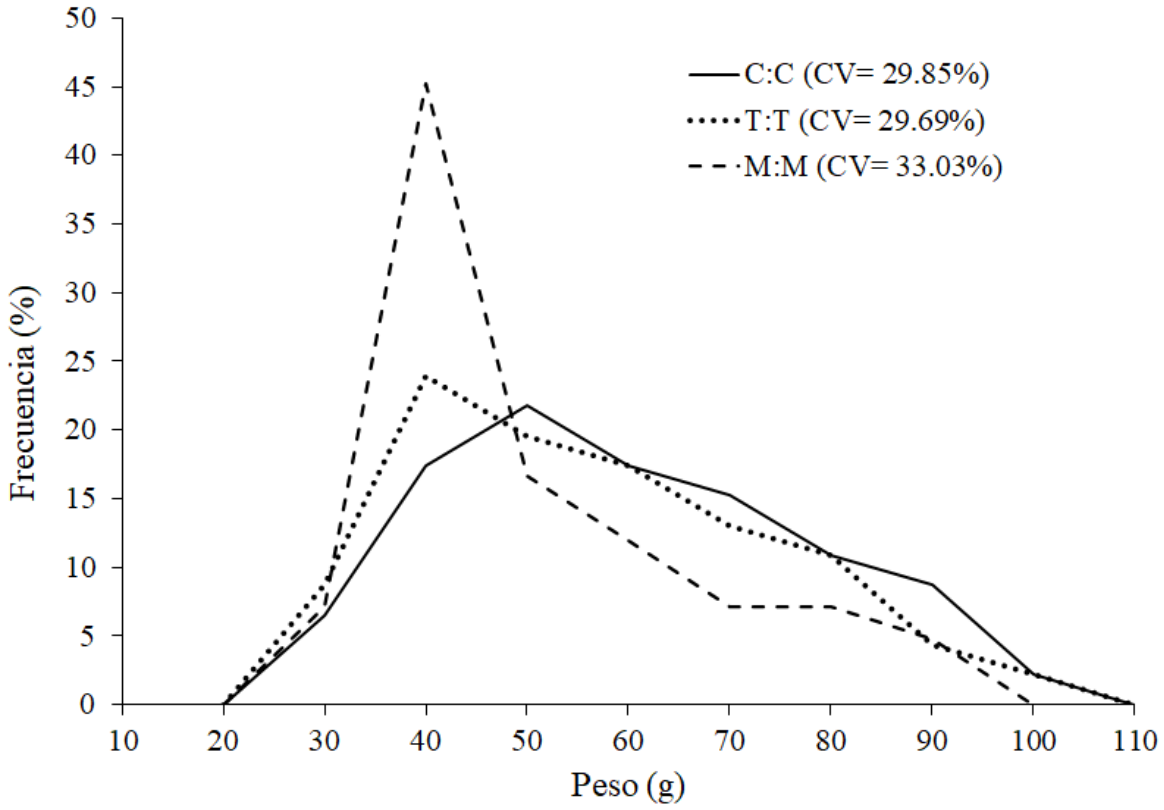

Figura 33. Polígonos de frecuencia del peso de cosecha de machos de *C. quadricarinatus* provenientes de las líneas parentales, después de 120 días de cultivo monosexual en estanques a cielo abierto de 1,000 m^2, recubiertos con geomembrana HDPE.

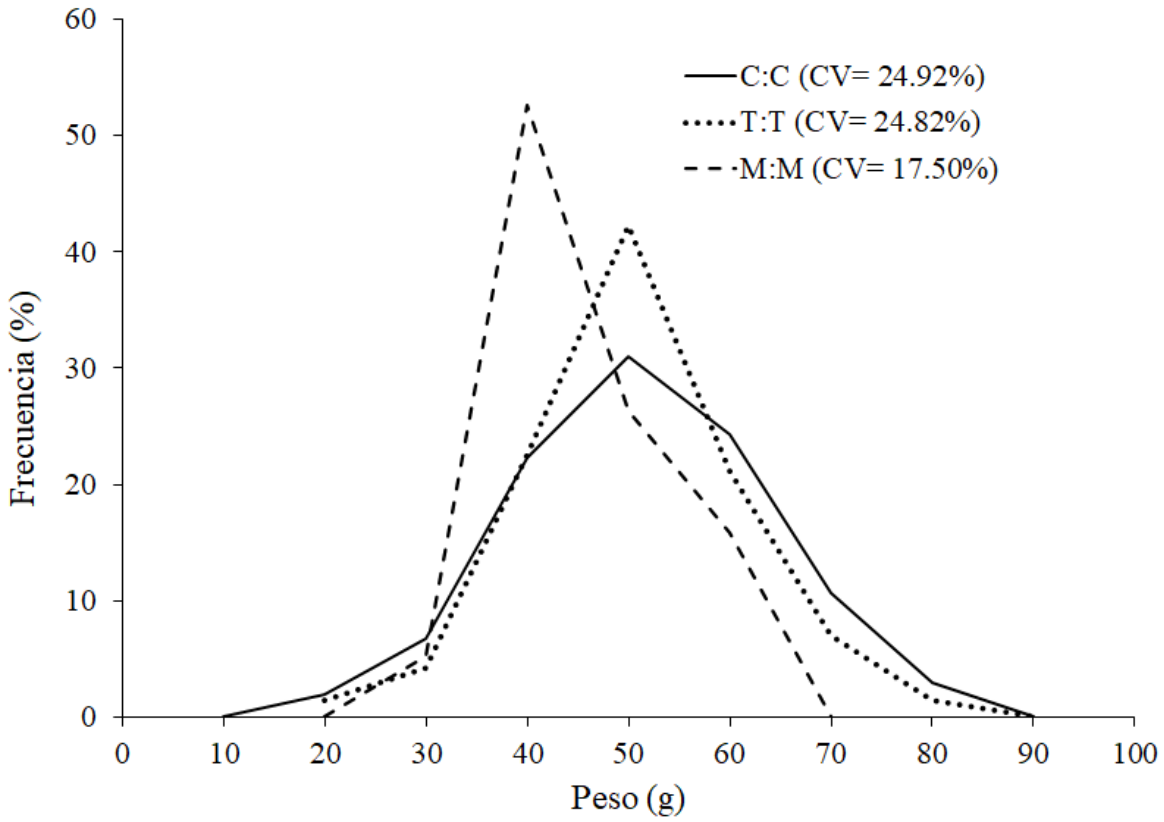

Figura 34. Polígonos de frecuencia del peso de cosecha de hembras de *C. quadricarinatus* provenientes de las líneas parentales, después de 120 días de cultivo monosexual en estanques a cielo abierto de 1,000 m^2, recubiertos con geomembrana HDPE.

La Figuras 35 y 36 muestran la distribución de frecuencias de las cruzas del núcleo comparadas con los grupos parentales. En machos, hubo un incremento de peso final del 10.59% al 17.55%, mientras que, en hembras, este incremento fue del 3.87% al 10.47% respecto a la media parental. Un movimiento a la derecha en cuanto a la distribución de frecuencias de pesos de cosecha fue evidente en las cruzas del núcleo, siendo este de mayor medida en las cruzas M:CT y M:TC tanto para machos como para hembras.

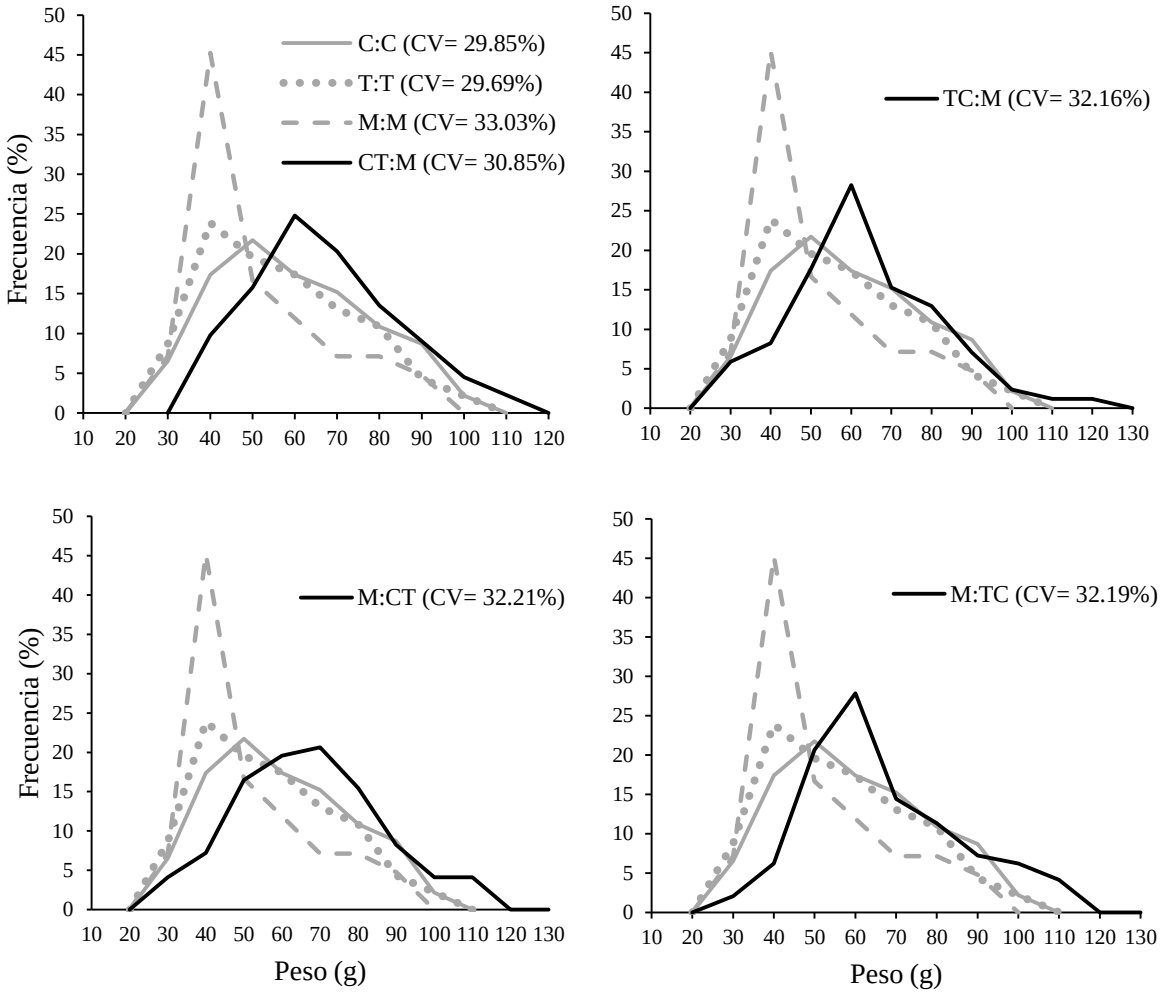

Figura 35. Polígonos de frecuencia del peso de cosecha de machos de *C. quadricarinatus* después de 120 días de cultivo monosexual en estanques con recubrimiento de geomembrana HDPE . Las líneas sólidas representan el incremento promedio del núcleo en comparación con los grupos parentales.

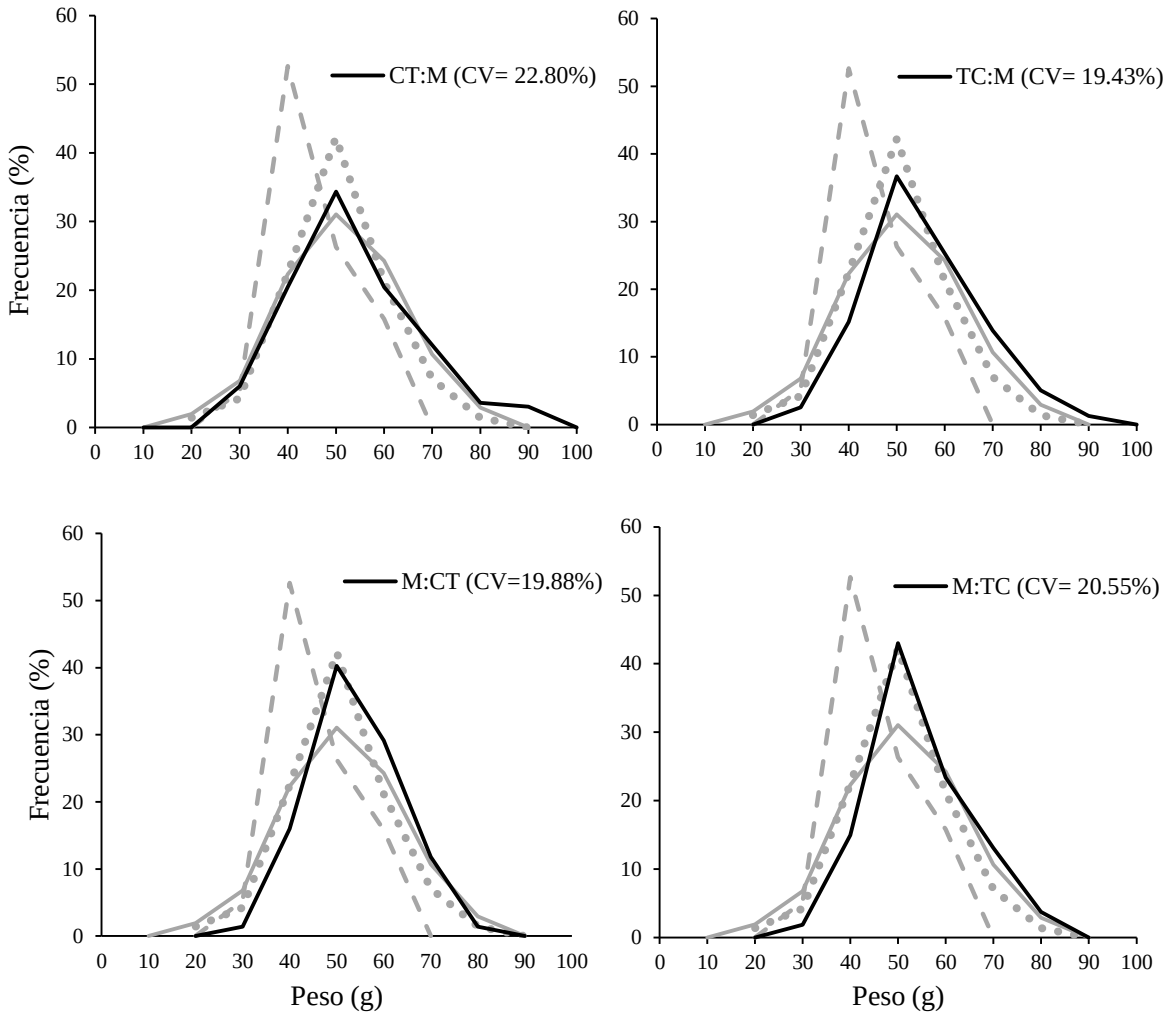

Figura 36. Polígonos de frecuencia del peso de cosecha de hembras de *C. quadricarinatus* después de 120 días de cultivo monosexual en estanques con recubrimiento de geomembrana HDPE . Las líneas sólidas representan el incremento promedio del núcleo en comparación con los grupos parentales.

Las Figura 37, 38, 39 y 40 muestran la proporción de organismos machos de *redclaw* en tres diferentes tallas comerciales, así como el valor económico de dicha población en base a los precios por talla mencionados en la metodología, para los grupos parentales C:C, T:T, M:M y el promedio global de las cuatro cruzas que conforman el núcleo, respectivamente. De las tres grupos parentales, C:C obtuvo la mayor retribución económica ($25,302 USD/ha). Sin embargo, las cruzas del núcleo obtuvieron un mayor

porcentaje de organismos de tallas grandes (15.4%) y un valor del cultivo $2,790 USD/ha más alto en comparación con el mejor grupo parental (C:C). Esto representa un incremento en el ingreso de 11.0%. Los resultados de un análisis similar en el estanque de hembras se presentan en las Figuras 41, 42, 43 y 44. El promedio de los grupos del núcleo obtuvo el mayor porcentaje de organismos de tallas medianas (30-90 g) (96.8%) y el valor comercial fue $22,724 USD/ha), que es $822 USD/ha mayor al mejor grupo parental (C:C), equivalente a un incremento del 3.8%. Tanto para machos como para hembras, la menor proporción de organismos en talla de cosecha y menor valor económico se observó en los grupos del parental M:M.

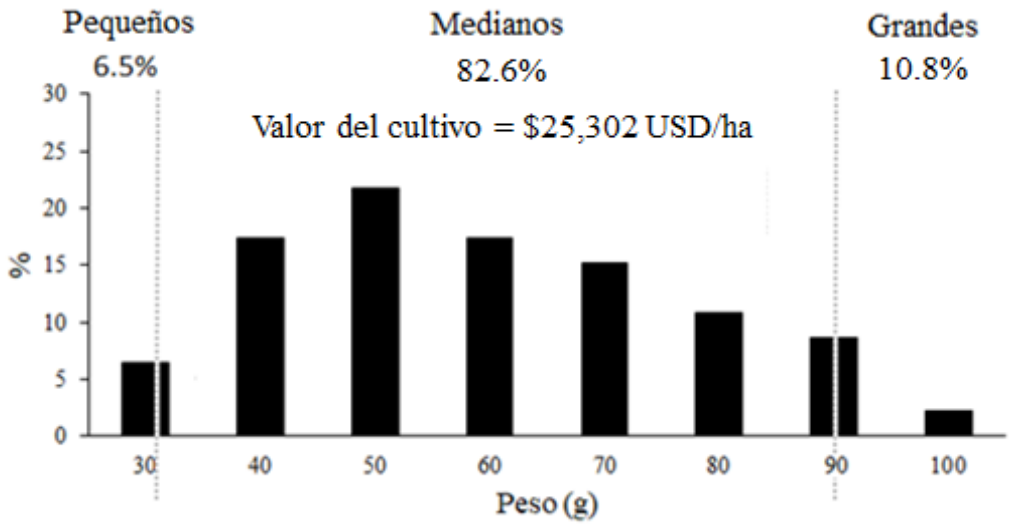

Figura 37. Distribución de pesos de cosecha de machos de *redclaw* provenientes de la cruza parental C:C cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2.

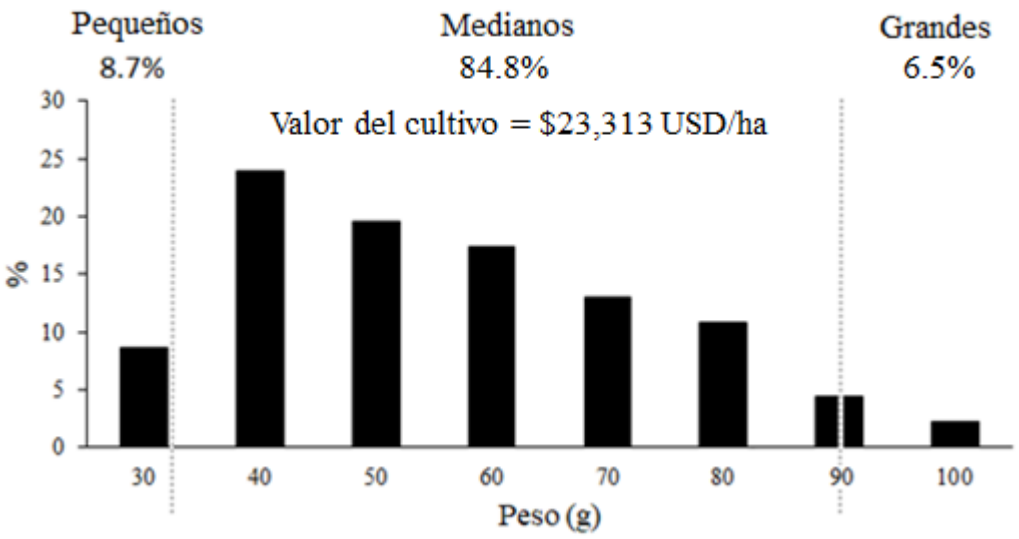

Figura 38. Distribución de pesos de cosecha de machos de *redclaw* provenientes de la cruza parental T:T cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2.

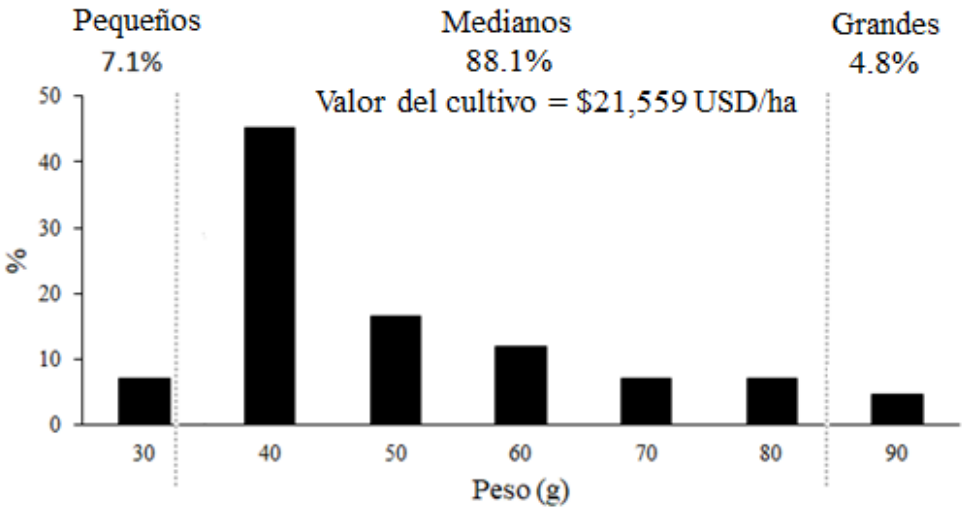

Figura 39. Distribución de pesos de cosecha de machos de *redclaw* provenientes de la cruza parental M:M cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2.

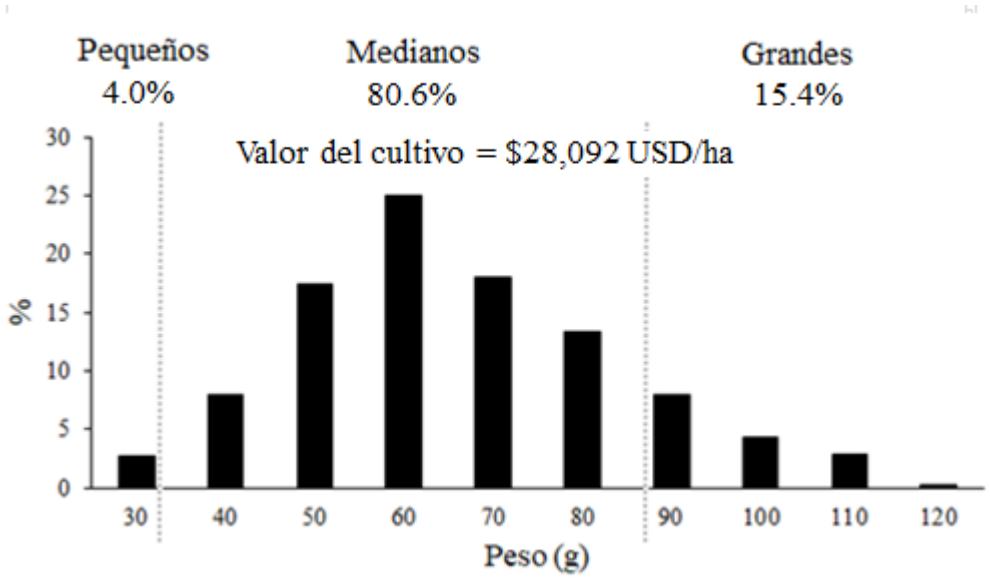

Figura 40. Distribución de pesos de cosecha de machos de *redclaw* provenientes de las cruzas del núcleo cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2.

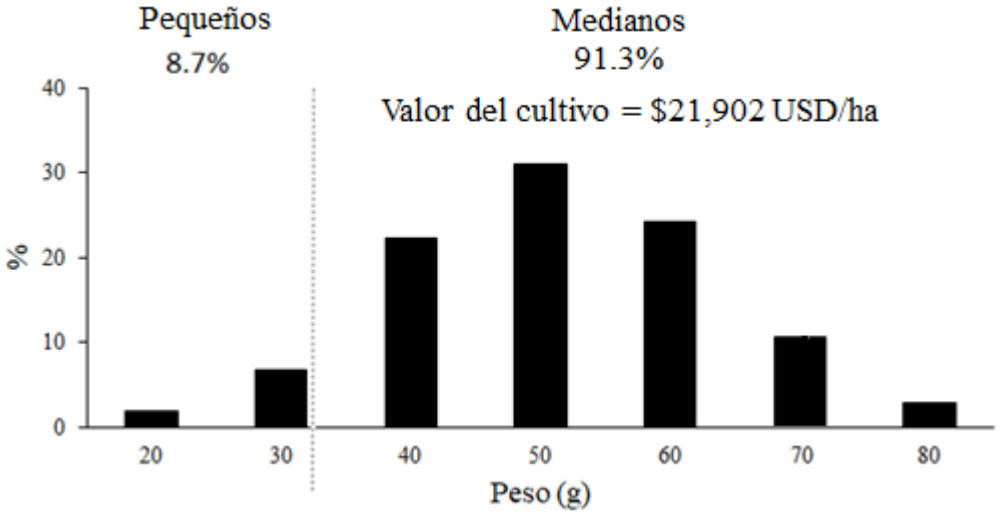

Figura 41. Distribución de pesos de cosecha de hembras de *redclaw* provenientes de la cruza parental C:C cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2.

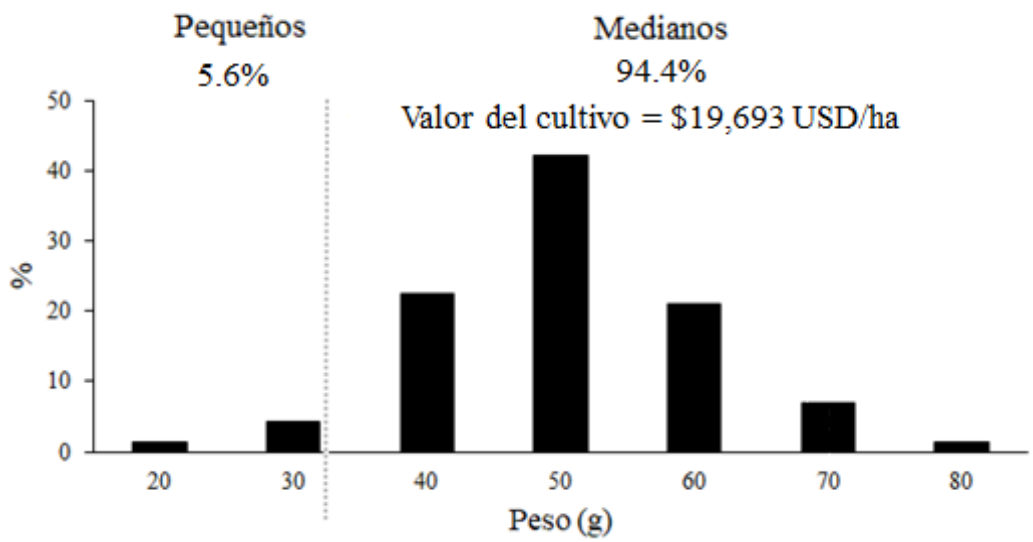

Figura 42. Distribución de pesos de cosecha de hembras de *redclaw* provenientes de la cruza parental T:T cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2.

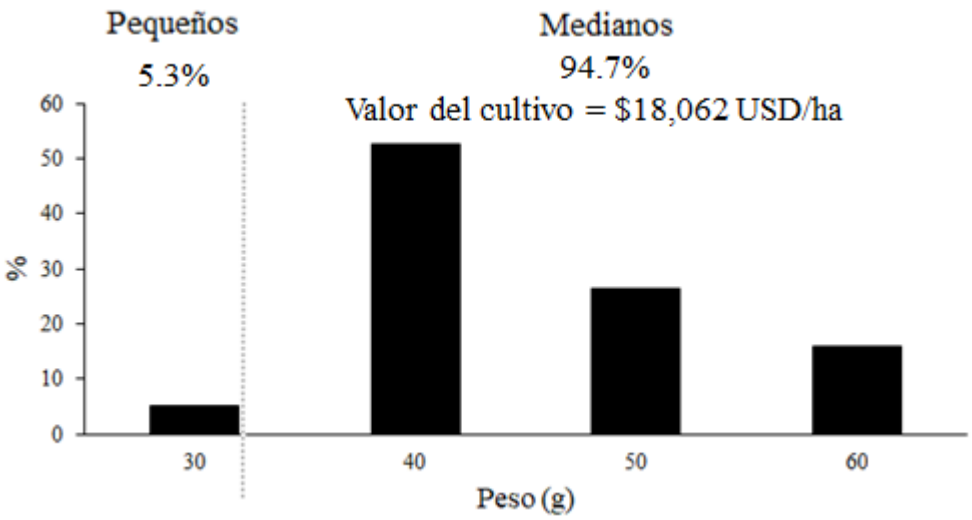

Figura 43. Distribución de pesos de cosecha de hembras de *redclaw* provenientes de la cruza parental M:M cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2.

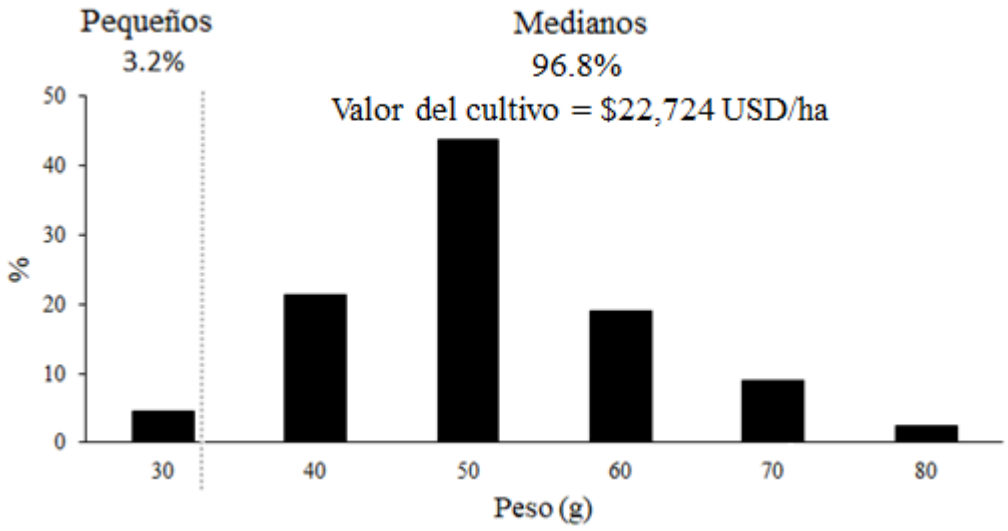

Figura 44. Distribución de pesos de cosecha de hembras de *redclaw* provenientes de las cruzas del núcleo cultivados durante 120 días. Las divisiones representan la práctica recomendada del stock de cosecha. El valor del cultivo se estimó en una producción hipotética equivalente a una hectárea cultivada, sembrando a una densidad de 5 org/m^2.

La Tabla IX muestra el análisis de correlación entre la tasa de crecimiento, supervivencia y factor de conversión alimenticia (FCA) con los valores de diversidad genética (Na y Ho) presentados en la Tabla V. Se encontró una marcada correlación positiva entre la tasa de crecimiento y los valores de Na y Ho, tanto para machos como para hembras; sin embargo, esta solo fue significativa ($P < 0.05$) en hembras. Por otro lado, los valores de FCA mostraron una correlación negativa significativa ($P < 0.05$) con Na en hembras y en machos al $P < 0.10$. Mientras que no se encontró ninguna correlación significativa entre los valores de diversidad genética y la supervivencia ($P > 0.10$).

Tabla IX. Coeficientes de correlación (*r*) y valor-*p* entre los valores promedio de la tasa de crecimiento (TC), supervivencia y factor de conversión alimenticia (FCA), con los valores de diversidad genética (Na y Ho) reportados por Mora-Castrejón (2019). n=13.

	TC		Supervivencia		FCA	
	r	*valor-p*	*r*	*valor-p*	*r*	*valor-p*
Machos						
Na	0.389	0.190	0.106	0.731	-0.541	0.056**
Ho	0.339	0.258	0.191	0.531	-0.496	0.085
Hembras						
Na	0.585	0.036*	0.079	0.798	-0.572	0.041*
Ho	0.612	0.026*	-0.194	0.526	-0.297	0.324

* Correlación significativa a P < 0.05.
** Correlación significativa a P < 0.10.

7.3 Respuesta fisiológica

7.3.1 Tasa metabólica

La Figura 45 muestra el promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo para organismos machos en los respirómetros para los parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante la fase reguladora. Los resultados mostraron que los machos de las cruzas presentan una tasa metabólica estándar (TME) promedio de entre 0.066 y 0.094 $mgO_2/g/h$, con diferencias significativas entre los grupos (Figura 46). De los tres grupos parentales, Baja California Sur (C:C) presentó el metabolismo estadísticamente más alto ($P < 0.05$) en comparación con los organismos de Tamaulipas (T:T) y Michoacán (M:M). Las cruzas de referencia y del núcleo, no presentaron una diferencia significativa con el parental C:C; sin embargo, las cruzas de referencia C:T-T:C y T:M-M:T, y conformadoras del núcleo CT:M y M:CT tuvieron valores de TME significativamente más altos que los parentales T:T y M:M. Los resultados del análisis de TME en hembras (Figura 47 y 48), mostraron valores de entre 0.072 y 0.093 $mgO_2/g/h$

entre las diferentes cruzas, siendo T:T significativamente menor en comparación con los otros grupos parentales C:C y M:M. Además, se encontró que las cruzas de referencia C:M-M:C y T:M-M:T, y del núcleo CT:M y M:CT tuvieron una TME significativamente mayor en comparación con el grupo parental T:T. El promedio global de la TME de todas las cruzas en machos (0.083 $mgO_2/g/h$) fue más bajo en comparación con el de las hembras (0.104 $mgO_2/g/h$).

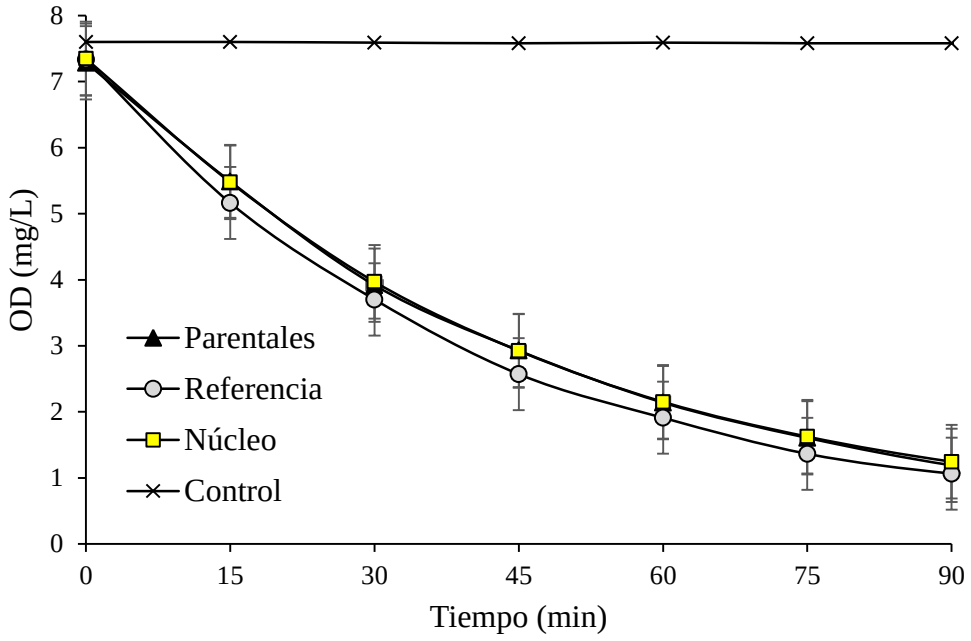

Figura 45. Promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo de organismos machos en los respirómetros para los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante su fase reguladora.

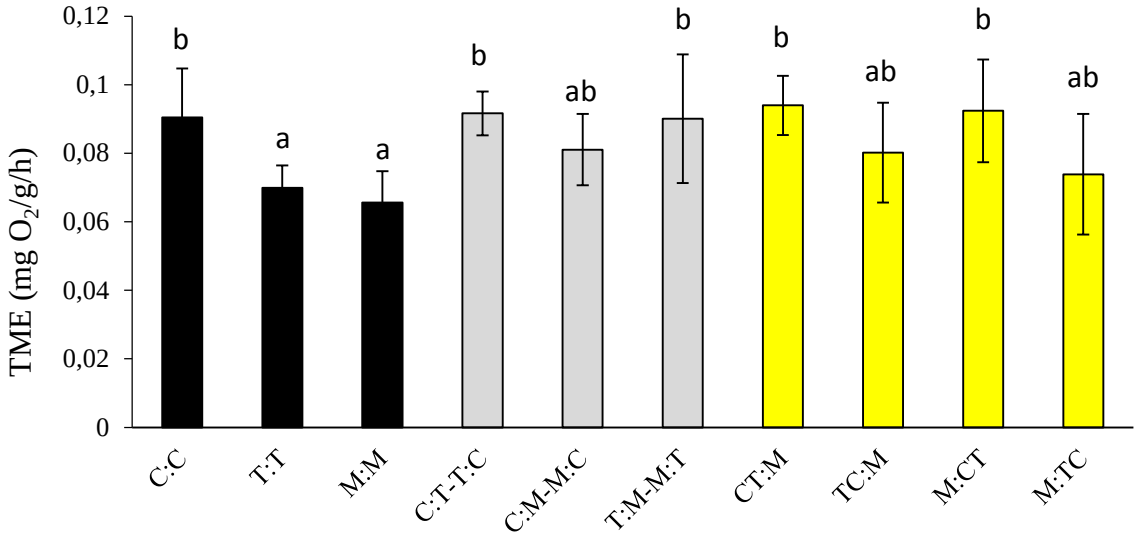

Figura 46. Tasa metabólica estándar (TME) a 28°C, de machos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

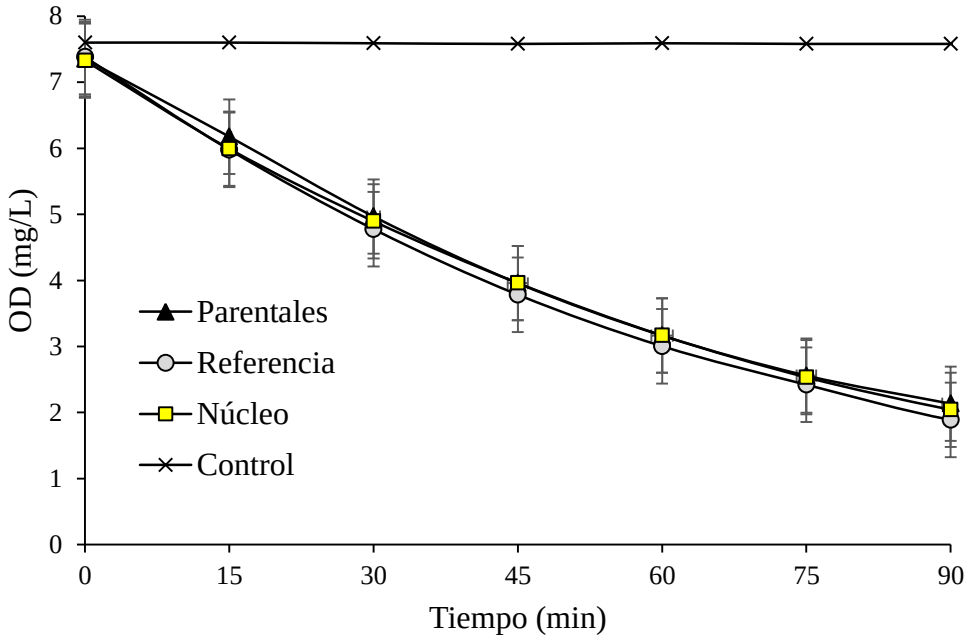

Figura 47. Promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo de organismos hembras en los respirómetros para los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante su fase reguladora.

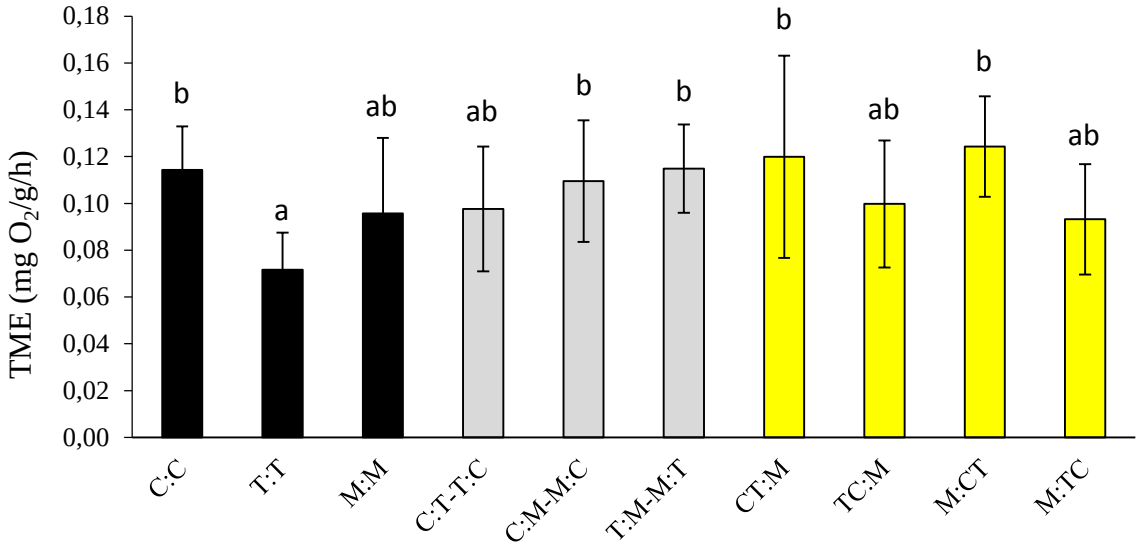

Figura 48. Tasa metabólica estándar (TME) a 28°C, de hembras de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

7.3.2 Punto crítico de oxígeno

La Figura 49 y 51 muestran el promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo en los respirómetros para los parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante la fase conformadora para machos y hembras respectivamente. El análisis del punto crítico de oxígeno en machos mostró una variación de 0.789 y 1.183 mgO_2/L entre los diferentes grupos evaluados (Figura 50) mientras que, en hembras, esta variación fue de 0.940 a 1.542 mgO_2/L (Figura 52). En machos la cruza de referencia CT:TC y la cruza del núcleo M:CT mostraron un punto crítico promedio menor. La cruza CM:MC mostró la tasa metabólica más alta. En las hembras C:C mostró un punto crítico de oxígeno menor a T:T y M:M. Por otro lado, las cruzas del núcleo no mostraron una diferencia significativa respecto a los grupos parentales, a excepción de las hembras M:TC que tuvieron un punto crítico mayor al parental C:C.

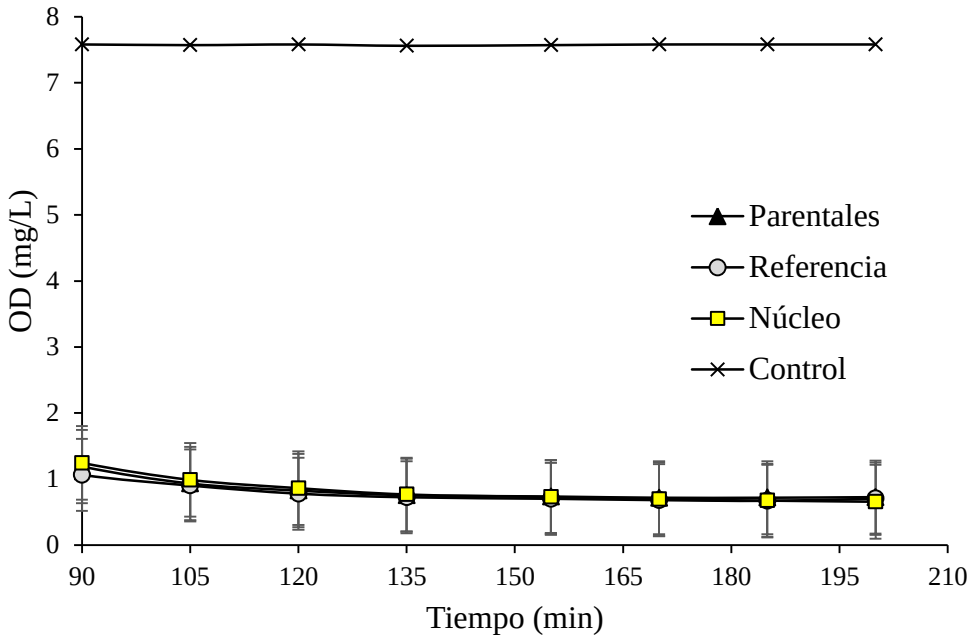

Figura 49. Promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo de organismos machos en los respirómetros para los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante su fase conformadora.

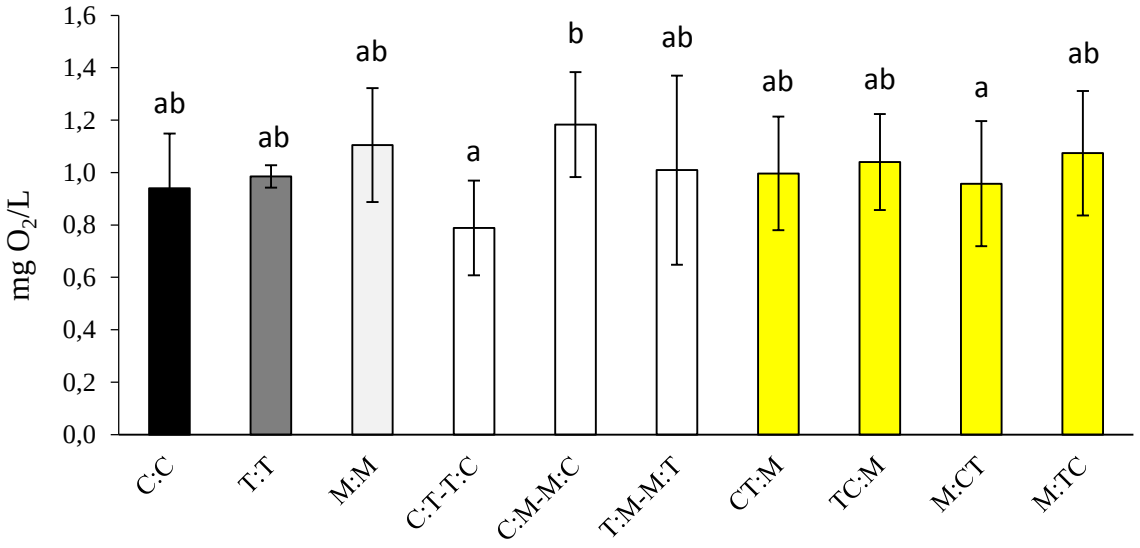

Figura 50. Punto crítico de oxígeno a 28°C, de machos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

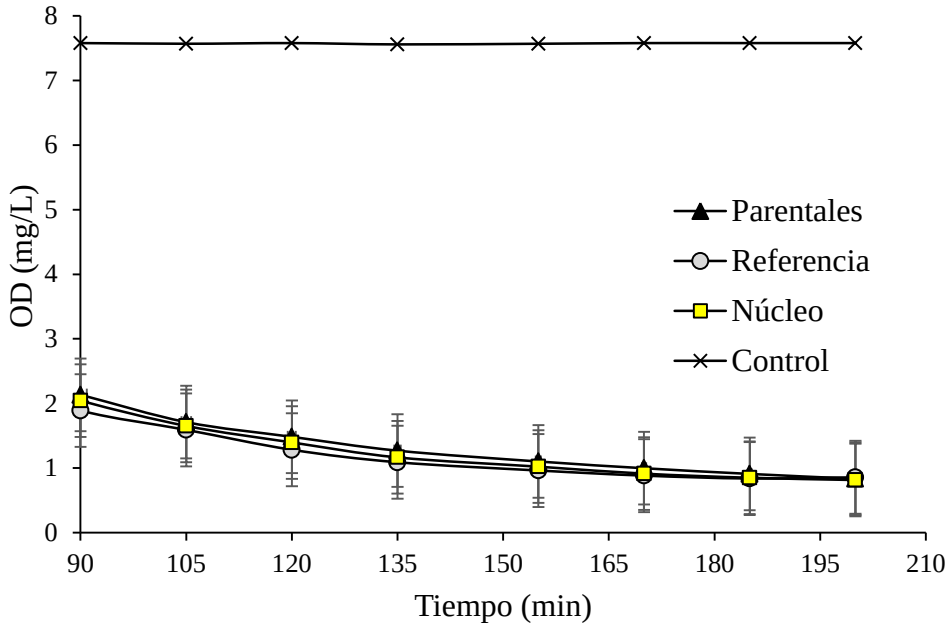

Figura 51. Promedio de la concentración de oxígeno en el tiempo de organismos hembras en los respirómetros para los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas conformadoras del núcleo durante su fase conformadora.

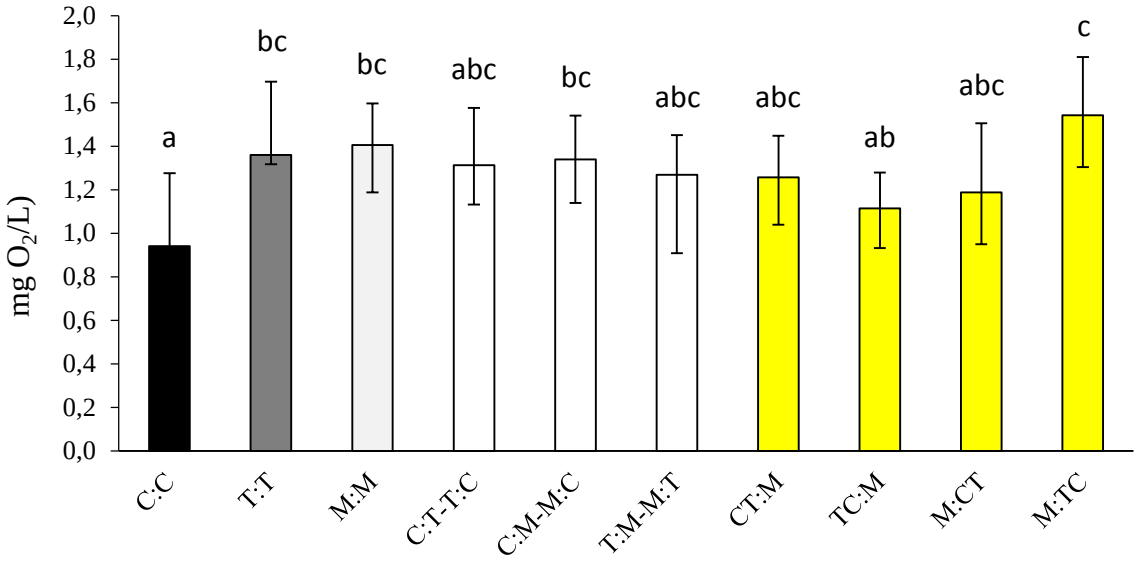

Figura 52. Punto crítico de oxígeno a 28°C, de hembras de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

La Tabla X muestra el análisis de correlación entre los valores de la tasa metabólica estándar y punto crítico de oxígeno con los valores de Na y Ho presentados en la Tabla V. No se encontraron correlaciones significativas para machos o hembras (P > 0.05).

Tabla X. Coeficientes de correlación (*r*) y valor-*p* entre los valores promedio la tasa metabólica estándar (TME) y el punto crítico de oxígeno (PC) con los valores de diversidad genética (Na y Ho). n=10.

	TME		PC	
	r	*valor-p*	*r*	*valor-p*
Machos				
Na	0.218	0.546	-0.540	0.107
Ho	0.391	0.264	-0.550	0.099
Hembras				
Na	-0.204	0.572	-0.241	0.502
Ho	-0.130	0.972	-0.200	0.580

7.4 Respuesta inmunológica

Las Figuras 53, 54 y 55 muestran resultados de la evaluación por triplicado del cambio de supervivencia (%) en el tiempo (120 horas) de pre-adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales (experimento 1), las cruzas de referencia (experimento 2) y las cruzas del núcleo (experimento 3), respectivamente, después de ser inyectados con una dilución 5.6×10^6 de la Cepa 63 *Staphylococcus saprophyticus*, E310 Entre los parentales la supervivencia después de 120 h fue de 30-50%, y no hubo diferencias significativas (P > 0.05) (Tabla XI); sin embargo, la cruza C:C fue la que presentó la menor supervivencia. En lo que respecta a las cruzas de referencia, la supervivencia varió entre 0 y 40%, siendo la cruza C:M-M:C la que presentó una supervivencia significativamente menor (P < 0.05) (Tabla X). La supervivencia en las cruzas del núcleo varió entre 23.3 y 43.3%, sin diferencias significativas (P > 0.05) (Tabla XI).

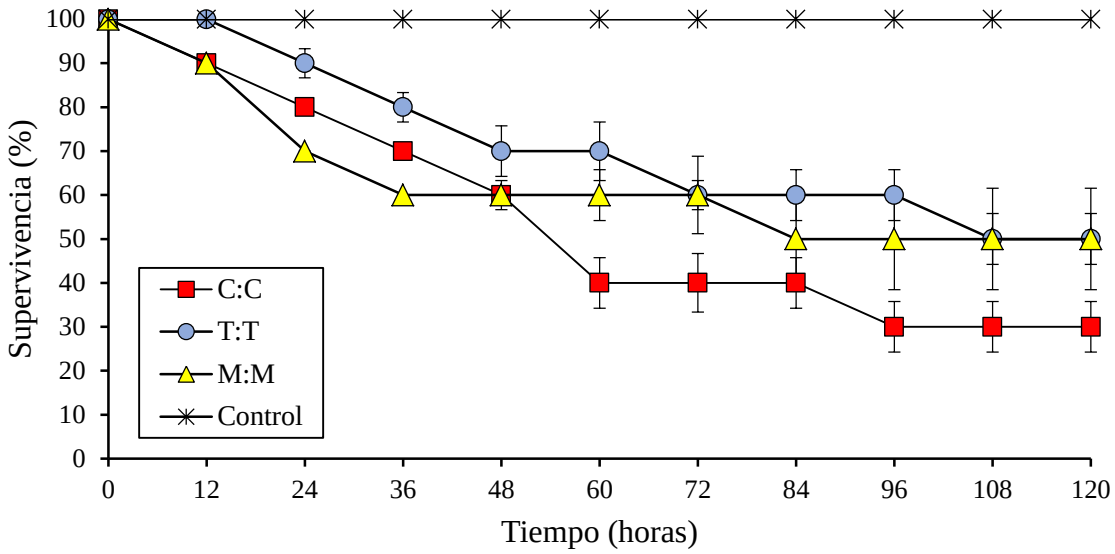

Figura 53. Supervivencia en el tiempo después de la infección de adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de las líneas parentales (Exp. 1), con la Cepa 63 *Staphylococcus saprophyticus*, E310 Cada punto representa el promedio de tres réplicas (10 organismos en cada réplica) ± error estándar.

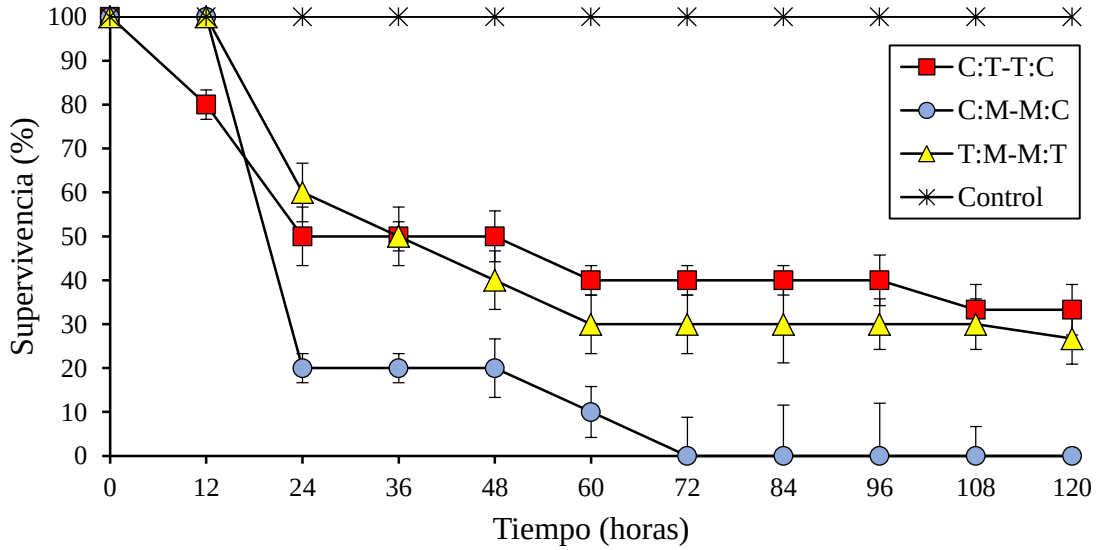

Figura 54. Supervivencia en el tiempo después de la infección de adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas de referencia (Exp. 2), con la Cepa 63 *Staphylococcus saprophyticus*, E310. Cada punto representa el promedio de tres réplicas (10 organismos en cada réplica) ± error estándar.

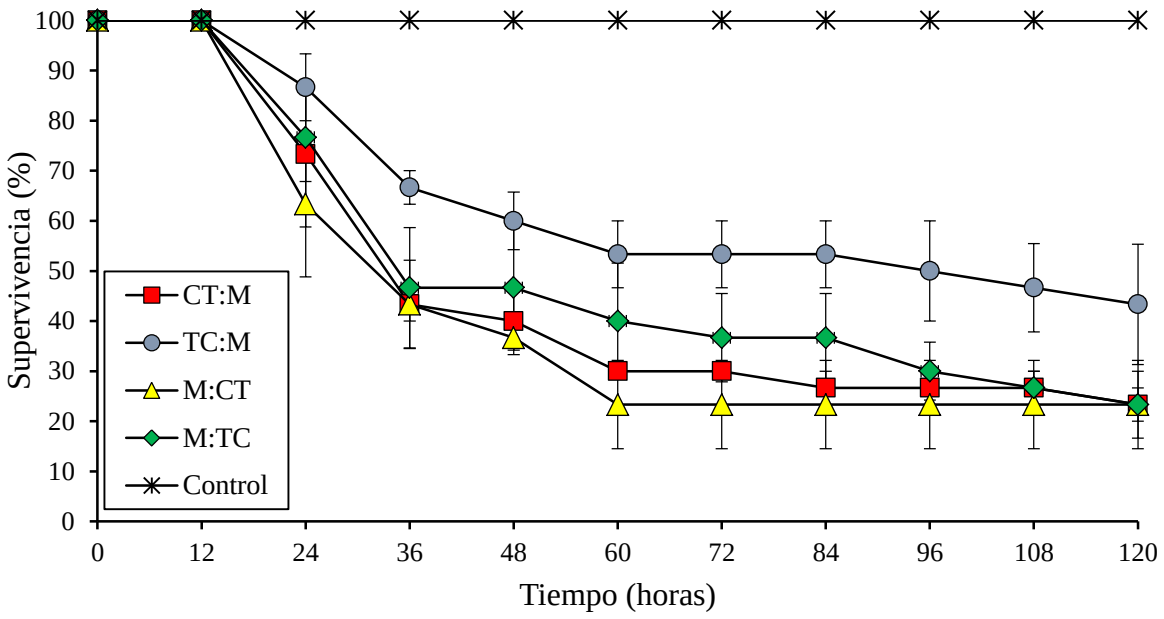

Figura 55. Supervivencia en el tiempo después de la infección de adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de las cruzas del núcleo (Exp. 3), con la Cepa 63 *Staphylococcus saprophyticus*, E310. Cada punto representa el promedio de tres réplicas (10 organismos en cada réplica) ± error estándar.

Tabla XI. Resultados del reto de infección patológica con la Cepa 63 *Staphylococcus saprophyticus*, E310 después de 120 horas, en adultos de *C. quadricarinatus* provenientes de los grupos parentales, las cruzas de referencia y las cruzas del núcleo. *n* = número de organismos en cada grupo evaluado; supervivencia (%) = promedio de tres réplicas ± error estándar.

Experimento	Grupo	*n*	Supervivencia (%)
Exp. 1	C:C	30	30.0 ± 5.8[a]
Grupos parentales	T:T	30	50.0 ± 11.6[a]
	M:M	30	50.0 ± 5.8[a]
Exp.2	C:T-T:C	30	40.0 ± 5.8[b]
Cruzas de referencia	C:M-M:C	30	00.0 ± 0.0[a]
	T:M-M:T	30	30.0 ± 5.8[b]
Exp.3	CT:M	30	23.3 ± 3.3[a]
Cruzas del núcleo	TC:M	30	43.3 ± 12.0[a]
	M:CT	30	23.3 ± 8.8[a]
	M:TC	30	23.3 ± 0.0[a]

8. DISCUSIÓN

8.1 Etapa de pre-cría

Estudios de genética en animales acuáticos han reportado que los parámetros del desempeño productivo que por lo general exhiben una depresión por endogamia, son multilocus o cuantitativos asociados con la capacidad reproductiva, tales como la fecundidad (Kincaid, 1983; Weeks *et al*., 2007). Sin embargo, a pesar de que el cultivo de redclaw en Baja California Sur ha sido llevado a cabo durante muchos años, básicamente sin una renovación de reproductores, los valores de fecundidad absoluta en el presente estudio, se encuentran dentro de lo reportado para la especie en numerosos estudios (Austin, 1998; King, 1993; Masser y Rouse, 1997; Monge-Quevedo, 2013; Parnes y Sagi, 2002; Rodríguez-González, 2006; Yeh y Rouse, 1995), indicando que la fecundidad tanto de la población de Baja California Sur (CIBNOR), como la de Tamaulipas y Michoacán, no presentan una depresión por endogamia en cuanto a su capacidad reproductiva. Para una variedad de crustáceos, el número de huevos generados tiende a incrementar isométricamente con el tamaño de la hembra (Alcorlo *et al*., 2008; Kuris, 1991; Yeh y Rouse, 1995). Sin embargo, los resultados del análisis de correlación de *Pearson* en el presente estudio no mostraron una correlación significativa ($P > 0.05$) entre el tamaño de las hembras (peso) y la fecundidad absoluta el número de juveniles producidos que fueron contados a los 45 días después de la eclosión. Algunos estudios han reportado diferencias en la fecundidad influenciadas por el tamaño de la hembra en *C. quadricarinatus* (King, 1993; Tropea *et al.,* 2012), sin embargo, en dichos estudios la fecundidad ha sido comparando hembras con pesos que varían entre los 13 y los 112 g; mientras que el intervalo de pesos en el presente estudio fue solo de entre 59 y 74 g, lo cual aparentemente, no fue una diferencia sustancial para generar diferencias en cuanto a su fecundidad, como lo estableció Rodríguez-González (2006). Además, Huner y Lindqvist (1991) observaron que, en acociles, la fecundidad ovárica puede diferir del conteo de huevos en pleópodos entre un 20 y 40%, y que esta diferencia puede representar

problemas en la extrusión, fertilización o retención de los huevos (Mason, 1977). Se ha establecido que la temperatura es un factor que puede influenciar la fecundidad (Almeida *et al.,* 2013; Little y Hulata, 2000; Valeta *et al*., 2013), sin embargo, la variación de la temperatura entre las diferentes unidades de cultivo no fue significativa, por lo que este no incidió en la fecundidad de las hembras. En general, los valores de calidad de agua fueron los adecuados para el cultivo de *C. quadricarinatus* (Villarreal y Peláez, 1999) y fueron muy similares entre los tanques experimentales durante toda la evaluación. Muchos estudios han indicado que un número de factores pueden afectar el desove de la hembra y el conteo de juveniles en los primeros días después de la eclosión. Entre ellos, la falta de adaptación al hábitat, alteraciones ambientales (por ej. calidad de agua), depredación de juveniles libres por parte de la hembra a partir de la etapa *instar 3*, infecciones de hongos o bacterias relacionadas con niveles altos de materia orgánica por prácticas de alimentación deficientes, o mortalidades asociadas a líneas genéticamente deterioradas (Arcos *et al*., 2004; Brooks *et al*., 1997; Hoque *et al*., 2018; Izquierdo *et al*., 2001; Kozak *et al*., 2015; Mantelatto y Fransozo, 1997; Snieszko, 1974; Vatsos y Angelidis, 2010; Wouters *et al*., 1999; Xu *et al*., 1994). En el presente estudio se realizó un proceso adecuado de adaptación y manejo de los organismos, control alimenticio con eliminación rutinaria del exceso de materia orgánica, y un constante recambio de agua durante toda la prueba. No hubo evidencia de un impacto negativo en la producción de juveniles entre los diferentes grupos evaluados.

La Tabla V muestra que los pesos finales y tasa de crecimiento durante la etapa de pre-cría son inferiores cuando la cruza incorpora a un reproductor proveniente de Michoacán (M) en los parentales y las cruzas de referencia. Esto puede relacionarse a que dicha población parental no fue sujeta a presión selectiva para crecimiento. En crustáceos, se ha establecido que la muda y la reproducción son procesos fisiológicos antagonistas (Reynolds, 2002), por lo que es posible que las hembras de Michoacán tienen un balance

de energía disponible para crecimiento y reservas energéticas para la reproducción, principalmente en forma de vitelina (Serrano-Pinto *et al*., 2003), diferente al de las poblaciones de Baja California Sur (C) y Tamaulipas (T), las cuales han recibido presión selectiva para crecimiento. El desarrollo de los huevos lecitotróficos depende de la transferencia de energía de la hembra al embrión (García-Guerrero *et al*., 2003; Rodríguez-González, 2006) y su influencia puede registrarse en las etapas tempranas de desarrollo de los juveniles. Aunque las diferencias estadísticas no son significativas en todos los casos, el peso promedio de los juveniles a los 45 días después de la eclosión se encuentra en el intervalo inferior para los parentales y las cruzas de referencia, cuando se involucra una hembra de Michoacán. Como se esperaba, hubo diferencias individuales en el número de juveniles producidos entre las familias generadas, pero no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos para las cruzas. Es posible que un aumento del número de réplicas por tratamiento (número de familias) para los parentales y cruzas de referencia hubiera permitido mostrar esas diferencias de manera estadística. Sin embargo, es importante mencionar que el tamaño de muestra en las condiciones experimentales actuales estuvo limitado a la capacidad física del laboratorio, que definió el número total de familias que se manejaron (97). En ese sentido, se dio preferencia a la conformación de los grupos del núcleo. La ausencia de mejoramiento en la tasa de fecundidad por el cruzamiento ha sido ampliamente reportada en numerosos estudios, y es debido principalmente a la baja heredabilidad de los parámetros reproductivos (Norman *et al*., 2009; Price y Schluter, 1991). Por regla general, los híbridos presentan una fecundidad similar o inferior a las líneas parentales (Amarasinghe y De Silva, 1996; Ridha, 2010; Ochokwu *et al*., 2016; Omeji *et al*., 2013; Smitherman *et al*., 1988). En algunos casos, los cruzamientos pueden generar híbridos que presentan una fecundidad significativamente superior a la de los padres, pero esto se ha reportado principalmente en cruzas interespecíficas (Hovick y Whitney, 2014; Nzohabonayo *et al*., 2017). En crustáceos, los estudios de heredabilidad en parámetros reproductivos son escasos (Arcos *et al*., 2004; Caballero-Zamora *et al*., 2013; Macbeth *et al*., 2007), dado que la mayoría de

los programas de mejoramiento genético se han enfocado principalmente en la mejora de las tasas de crecimiento y la resistencia a enfermedades, a través del uso de la varianza genética aditiva (Ibarra *et al*., 2007; Nguyen, 2015). La investigación futura deberá determinar el impacto de la selección en parámetros reproductivos tales como maduración, espermatogénesis, ovogénesis y/o vitelogénesis, e incluir el uso de técnicas moleculares de expresión génica, para un mejor entendimiento de las variaciones en la fecundidad y como esta puede ser transmitida a través de la herencia.

Bentsen *et al*. (1998) mencionan que la heterosis en la producción acuícola se debería comparar a la cruza o híbrido, no solamente con el promedio de ambos padres, sino con el mejor de los padres, para poder establecer un indicador más apropiado del desempeño. En el presente estudio, los resultados de heterosis especifica respecto a cada parental para el número de juveniles producidos al día 45 después la eclosión, mostraron que las cruzas del núcleo CT:M y TC:M tuvieron un desempeño superior al del mejor de los parentales (C). De las tres líneas parentales, la mayor heterosis observada fue respecto a T, indicando que dicha población presenta una menor capacidad para producir progenie. Según Bortolini *et al*. (2007), Tamaulipas y Baja California Sur fueron de las primeras regiones del país en desarrollar el cultivo de *redclaw* a escala comercial. En ambos casos se llevaron a cabo programas de selección de organismos de tallas grandes, como estrategia para mejorar las tasas de crecimiento, mientras que el desarrollo del cultivo en Michoacán es más reciente (Mendoza-Alfaro *et al*., 2011). Se ha mencionado que la endogamia puede afectar la capacidad reproductiva (Bradshaw y McMahon, 2008), particularmente en poblaciones que han sido sometidas a selección artificial para crecimiento, ya que existe un cambio en las frecuencias alélicas a través del tiempo y la fijación de genes (Andrews, 2010) para incrementar la síntesis de proteínas estructurales (Valente *et al*., 2013) en un proceso que requiere asimilación de energía proveniente del alimento. En un ambiente constante en la naturaleza, la estrategia óptima de un

organismo es asignar parte de esta energía para crecimiento durante las primeras etapas de vida, para después minimizarla y enfocarla en los procesos de reproducción (Lika y Kooijman, 2003). Pero en una población que ha sido sometida a presión de selección para crecimiento, la energía que debería destinarse a la reproducción, se puede ver minimizada (Díaz *et al*., 2006; Villarreal, 1998). En este estudio, esto puede reflejarse en el número promedio relativamente bajo de juveniles producidos en el parental T, a pesar de que, como se indicó, no hubo diferencias significativas. Por otro lado, el efecto de las condiciones ambientales en las poblaciones debe ser considerado (De Silva y Soto, 2009). A pesar de que la población de Baja California Sur, también ha sido sometida a procesos de selección artificial para crecimiento, esta línea ha sido mantenida durante 20 años y al menos 13 generaciones (Valencia-Valdez, 2012) bajo las condiciones ambientales de la región, sin sufrir cambios significativos de calidad de agua o condiciones climáticas, mientras que las poblaciones de Tamaulipas y Michoacán fueron trasladadas a La Paz, influenciado su capacidad reproductiva. En el caso de parental M, que no sufrió una presión de selección artificial para crecimiento, se espera que tengan una mayor capacidad de adaptación a un nuevo ambiente (Bradshaw y McMahon, 2008; Reed *et al*., 2003) y, probablemente, un menor impacto en su capacidad reproductiva.

Las tasas de crecimiento reportadas para las cruzas del núcleo (Tabla V) son comparables con lo reportado en otros estudios de *redclaw* (e.g. Cortés-Jacinto *et al*., 2004; García-Guerrero *et al*., 2013; García-Ulloa *et al*., 2003; Naranjo-Páramo, 2009; Stumpf *et al*., 2014), incluso a pesar de que la densidad por unidad de volumen en nuestro estudio fue mayor. Se ha establecido el impacto que tiene la densidad de siembra en el crecimiento de los organismos en cultivo (Liu *et al*., 2017; Lupatsch *et al*., 2010; Philip y Vijayan, 2015). Por ello, es de esperar que, a densidades de cultivo comercial (< 15 *redclaw* / m^2) (Naranjo-Páramo, 2009; Villarreal y Peláez, 1999) en sistemas con una mayor diversidad y disponibilidad de alimento natural, el crecimiento pudiera ser superior

a lo reportado previamente (Cortés-Jacinto *et al*., 2003; Naranjo-Páramo *et al*., 2004; Villarreal, 2002, etc.). El peso final en los grupos parentales C y T fue relativamente bueno, con pesos finales 2.66 y 1.74 g, respectivamente, superiores a M. Las cruzas de referencia ofrecen una idea del impacto que los reproductores de Michoacán tienen en el crecimiento, donde los valores de peso promedio final de la progenie son consistentemente inferiores cuando al menos un reproductor M está involucrado. Esto puede indicar que la selección masiva para crecimiento ha sido efectiva, como se ha mostrado en especies comerciales, incluyendo camarones peneidos, tilapias y moluscos (principalmente ostión) (Andriantahina *et al*., 2013; De Donato *et al*., 2008; Díaz-Jiménez *et al*., 2012; Jerry *et al*., 2005; Ninh *et al*., 2014; Wang *et al*., 2012; Zhang *et al*., 2019). En el caso de *redclaw*, los resultados de programas de mejoramiento genético en Australia han tenido éxito (Jones *et al*., 2000; McPhee and Jones, 1997), demostrando que los genes relacionados con el proceso de muda y/o el desarrollo del músculo, presentan una alta heredabilidad (Díaz-Jiménez *et al*., 2012).

La heterosis en las cruzas puede ser positiva o negativa a medida que heredan los atributos de una población genéticamente mejorada o deteriorada (Bentsen *et al*., 1998; Sunarma *et al*., 2010; Thanh *et al*., 2010; Zheng *et al.,* 2006). Las cruzas del núcleo TC:M, M:CT y M:TC presentaron una heterosis media positiva superior al 1.5% reportado para el cangrejo de río *Procambarus clarki (*Bosworth *et al*.,1994), o al 1.5% para el langostino de río *Macrobrachium rosenbergii* (Thanh *et al.,* 2010), y comparables con el 6.7% reportado por Dharaneedharan *et al*. (2016) en *M. rosenbergii*. En términos del porcentaje de heterosis, los machos reproductores de Michoacán parecen propiciar una mejor reproducción, estimada como fecundidad absoluta, mientras que los machos reproductores de Baja California Sur y Tamaulipas influencian el potencial de crecimiento, aunque las diferencias estadísticas no fueron significativas, probablemente asociado a un número limitado de muestra para parentales y cruzas de referencia.

La supervivencia final después de los 195 días de cultivo fue consistente en todos los grupos evaluados, y adecuada, particularmente considerando la densidad utilizada validando las condiciones del sistema utilizado. La supervivencia fue superior a las máximas densidades reportadas por Villarreal (2002) (15 org/m^2) y Naranjo-Páramo *et al*. (2004) (20 org/m^2) para estanques revestidos con grava. En los sistemas de producción acuícola es común que la supervivencia disminuya a medida que la densidad de siembra se incrementa (Huang y Chiu, 2008; M´balaka *et al*., 2012; Naranjo-Páramo *et al*., 2004). Como se esperaba, el análisis estadístico de la heterosis en supervivencia para las cruzas no mostró diferencias significativas, ni evidenció tendencias. La mayoría de los estudios de heterosis se enfocan en la evaluación del crecimiento, sin embargo, algunos estudios en peces de agua dulce han reportado valores de heterosis de supervivencia de entre -48.6% y 50.1% (Gjerde *et al*., 2002; Nguenga *et al*., 2000; Nielsen *et al*., 2010; Piwpong *et al*., 2016; Tave *et al*., 1990). En el caso específico de crustáceos, Lin *et al*. (2010) y Lu *et al*. (2017) reportaron heterosis de 11.4% y 30.5% respectivamente en *L. vannamei*. Sin embargo, en ambos estudios, más de la mitad de los híbridos mostraron heterosis negativa. En general, el análisis de la heterosis por cruzamiento relacionada con la supervivencia en estudios de engorda muestra resultados muy variables. Como indico adelante, los estudios de heterosis asociados a supervivencia se relacionan, generalmente, con programas de selección para resistencia a enfermedades específicas (Cock *et al*., 2009; Dorson *et al*., 1995; Ødegård *et al*., 2010; Gjedrem, 2012).

Los valores promedio de factor de conversión alimenticia (FCA) en el presente estudio son similares a lo reportado en evaluaciones con juveniles de *C. quadricarinatus* (e.g. Arredondo-Figueroa *et al*., 2013; Campaña-Torres *et al*., 2003; Carreño-León *et al*., 2014; Cortés-Jacinto *et al*., 2009; Curran *et al*., 2015; Naranjo-Páramo *et al*., 2004; 2009; Stumpf *et al*., 2014). El género *Cherax spp.* es altamente eficiente en términos energéticos, siendo capaces de aprovechar una variedad de fuentes nutricionales

(Villarreal (1988). El FCA frecuentemente es afectado por al menos 3 factores: (1) La densidad de siembra utilizada, que incrementa el estrés del organismo en cultivo. Las interacciones de organismos generan un desgaste de energía para establecer dominancia (Villarreal, 1998), reduciendo el tiempo efectivo para la búsqueda de alimento. Estudios de respuesta fisiológica han demostrado un claro incremento de los niveles de cortisol en plasma y una disminución de la concentración de hormonas de crecimiento en animales estresados (Liu *et al*., 2017; Lupatsch *et al*., 2010; Philip y Vijayan, 2015). El estrés también puede afectar negativamente la capacidad inmune de los organismos, haciéndolos más susceptibles a infecciones patógenas, provocando una menor disposición de energía para crecimiento (Chen y He, 2019; Long *et al*., 2019) afectando el FCA. (2) El cultivo en agua clara. Se ha demostrado que *C. quadricarinatus* presenta un mejor rendimiento en cultivos con una variedad de alimentos, como ocurre en sistemas de alta productividad, que cuentan con la presencia de alimento natural (zooplancton y fitoplancton) (Villarreal, 2002), en comparación con cultivos en agua clara, donde el alimento peletizado es la única fuente de nutrientes (Jones, 1995; Villarreal, 2002). (3) La temperatura de cultivo. A pesar de mantenerse dentro de los valores óptimos para *C. quadricarinatus*, la temperatura de cultivo durante la evaluación se mantuvo más cerca del extremo inferior del rango deseable (Villarreal y Peláez, 1999). Siendo una especie poiquiloterma, el metabolismo es dependiente directo de la temperatura de cultivo, lo cual afecta el consumo de alimento.

El control de la variabilidad genética es esencial en los programas de mejoramiento de cría selectiva (Baker *et al*., 2000; Cobo y Pérez, 2018; Cruz *et al*., 2004; Fernández *et al*., 2014). La Figura 24 muestra una correlación linear positiva entre los valores de la tasa de crecimiento y el número de alelos (Na). Existe evidencia de correlaciones entre la diversidad genética y el crecimiento para varias especies de cultivo (Appleyard *et al*., 2001; Fassatoui *et al*., 2012; Koehn y Gaffney, 1984; Luo *et al*., 2014; Pujolar *et al*., 2005). Esto puede explicarse por la dominancia de los individuos heterocigotos, con una mayor

eficacia biológica, en comparación con los homocigotos (Chapman *et al*., 2009; Fassatoui *et al*., 2012; Pujolar *et al*., 2005), en donde un mayor número de alelos ("pool genético") puede relacionarse con un incremento en la capacidad de adaptación a condiciones ambientales cambiantes (Bernatchez, 2016; Carvalho, 1993; Kenchington y Heino, 2002) y con una reducción de la depresión por endogamia, asociada con alelos recesivos detrimentales (FAO, 2008; Tave, 1999). El análisis muestra que en la población parental de Baja California Sur tiene un número de alelos mayor y que su tasa de crecimiento fue más alta. Por otro lado, los resultados muestran que el menor número de alelos en M, y las cruzas de referencia asociadas a M, están relacionadas a las menores tasas de crecimiento. Por otro lado, también se observó una correlación marginal entre la tasa de crecimiento y los valores de heterocigosidad observada (Ho). En el caso del grupo parental C, es sabido que no se ha incorporado material genético externo durante muchas generaciones, por lo que esta población contiene un alto número de homocigotos, se ha reducido el número de heterocigotos y se ha favorecido la fijación de alelos (Mora-Castrejón, 2019). Sin embargo, dado que C ha sido sujeta a presión de selección de crecimiento, es lógico asumir que su "pool genético" actual refleja una conformación relacionada con este crecimiento mejorado, el cual ha sido reportado previamente (Hernández-Llamas *et al*., 2019; Núñez-Amao *et al*., 2016, 2018). Las cruzas de referencia C:T y T:C muestran que se puede incrementar la heterocigosidad, lo cual se confirma con las cruzas del núcleo, que reflejan esta tendencia. Mora-Castrejón (2019) menciona que no se encontraron niveles altos de consanguinidad y endogamia en las cruzas del núcleo, por lo que no se esperaba encontrar diferencias significativas en el desempeño de éstas, dado que las diferencias fenotípicas serían mínimas.

8.2 Etapa de engorda mono-sexual

8.2.1 Calidad de agua

En el cultivo de *C. quadricarinatus*, la ganancia de peso y la supervivencia están altamente influenciadas por las condiciones ambientales. Se ha establecido una máxima tasa de crecimiento y frecuencia de muda en condiciones de agua dulce (0 g/L) a 28°C, mientras que la mayor supervivencia se ha reportado entre 24 y 28°C (Jones, 1995; Villarreal, 2000; Naranjo *et al*., 2004; Nuñez-Amao *et al*., 2016). Por otro lado, Meade *et al*. (2002) y Rida *et al*. (2020 artículo aceptado) mencionan que tanto el crecimiento como la supervivencia pueden ser afectados en salinidades superiores a 5 g/L. En el presente estudio, la temperatura se mantuvo en el rango óptimo de cultivo para la especie (Jones, 1995; Meade *et al*., 2002; Villarreal, 2002). Sin embargo, al utilizar agua de pozo, con una salinidad inicial de 4 g/L, tal y como se esperaba, la salinidad se incrementó en los estanques de cultivo durante el transcurso de la evaluación, como consecuencia de la evaporación. Hernández-Gurrola (2016) reportó una evaporación de 9.4 mm/día para cultivo de camarón en agua marina en el mismo sistema de cultivo utilizado en el presente estudio, a temperaturas mayores a 26°C. Para contener el incremento de la salinidad, en el día 105 de cultivo se adicionó una cantidad de agua dulce que permitió alcanzar el nivel original de profundidad. De esta manera, el promedio de salinidad en los estanques durante el cultivo fue 7.23 g/L, cerca del nivel máximo deseable (6 g/L) establecido por Villarreal y Peláez (1999) para la especie. La disminución del oxígeno disuelto registrada a través del tiempo era esperada y se relaciona, principalmente, a dos factores: El incremento en la demanda de oxígeno debido al incremento en la biomasa de organismos cultivados, y de la biomasa microbiana (Avnimelech, 2012); y la reducción en la saturación de oxígeno disuelto en el agua debido al incremento de la temperatura (Boyd *et al*., 1994). Los valores de pH se mantuvieron en el intervalo óptimo (6.5-9) para la especie, a pesar del considerable incremento en materia orgánica, la cual contribuye a la acidificación del

agua. Esto debido probablemente al efecto amortiguador de la alcalinidad y la dureza del agua (Villarreal y Peláez, 1999).

8.2.2 Desempeño productivo

De los tres grupos parentales, los organismos provenientes de Tamaulipas y Michoacán, tuvieron que enfrentar un cambio en las condiciones ambientales y de cultivo al ser incorporadas a las condiciones de Baja California Sur. Los principales cambios se relacionan con la adaptación a condiciones de mayor salinidad, temperatura y nivel de intensificación del cultivo. En poblaciones genéticamente divergentes, el genotipo tiende a cambiar durante generaciones para optimizar la respuesta del organismo a condiciones específicas. Este cambio en la interacción ambiente-genotipo puede tener un impacto en el desempeño productivo, principalmente en términos de crecimiento y supervivencia (García-Guerrero y Apun-Molina, 2008; Sae-Lim *et al*., 2016). El hábitat natural de *C. quadricarinatus* incluye sistemas de ríos efímeros con temporadas secas y de inundaciones, donde los organismos se ven expuestos a cambios de salinidad y temperatura, y posiblemente hacinamiento (Jones, 1990). En el presente estudio, los resultados mostraron diferencias numéricas de peso final, tasa de crecimiento y supervivencia, que no fueron estadísticamente significativas ($P > 0.05$), lo cual refleja la habilidad de la especie para adaptarse a cambios en las condiciones ambientales. Esta habilidad puede ser una ventaja en un programa de cruzamiento cuando se utilizan poblaciones geográficamente distantes. Por otro lado, se han reportado diferencias de peso final entre machos y hembras de *C. quadricarinatus* (Cortés-Jacinto *et al*., 2004; Jones, 1990; Villarreal y Naranjo, 2006). En cultivos monosexuales a tallas finales inferiores a 150 g, estos se relacionan principalmente al tamaño de la quela en los machos (Gu *et al*., 1994), y no a una diferencia en la tasa de crecimiento, como lo demostraron Núñez-Amao *et al*. (2016, 2018).

Las Tablas VII y VIII muestran que no hubo diferencias significativas en términos de peso final y tasa de crecimiento entre los diferentes grupos evaluados después de 120 días de cultivo. Sin embargo, el promedio de peso final del núcleo fue 12.34% y 7.67% mayor que el de los grupos parentales, en machos y hembras, respectivamente, con un resultado similar para la tasa de crecimiento. Reportes publicados de heterosis de crecimiento en crustáceos, muestran resultados que varían desde menos de 3% (Bosworth *et al.*, 1994; Thanh *et al*., 2010; Lu *et al*., 2015), entre 6% y 15% (Tian *et al.*, 2006; Lin *et al*., 2010; Dharaneedharan *et al.,* 2016), y hasta 37% (Goyard *et al*., 2008). La heterosis media de crecimiento en las cruzas del núcleo durante la pre-cría fue de -1.39% a 8.55%, mientras que para la engorda monosexual esta varió entre 6.77 y 15.78%. Esto demuestra la importancia de evaluar el desempeño durante todo el ciclo de cultivo, hasta la talla comercial esperada. Los resultados muestran que, a pesar de no demostrar diferencias estadísticas en crecimiento entre las cruzas y los parentales, se puede generar una heterosis considerablemente alta.

La comparación con otras pruebas de crecimiento de *C. quadricarinatus* se dificulta ya que la mayoría de los reportes se basan en cultivos mixtos (machos y hembras) cultivados a densidades bajas. Curtis y Jones (1995) reportaron un crecimiento de 0.52 g/sem a una densidad de 5 org/m^2, Jones y Ruscoe (2000) 2.20 g/sem a 3 org/m^2, Pinto y Rouse (1996) 2.83, 1.98 y 1.54 g/sem a densidades de 1, 3 y 5 org/m^2, Stevenson *et al*. (2013) 1.75 g/sem sin especificar la densidad de siembra, Arzola-González *et al*. (2012) reportaron 2.6 g/sem a 7 org/m^2, y Rodgers *et al*. (2006) 2.40 g/sem a 6 org/m^2. En la presente evaluación, el crecimiento promedio de las cruzas del núcleo a una densidad de 5 org/m^2, fue de 2.26 g/sem en machos y 1.72 g/sem en hembras, con un promedio “mixto” de 1.99 g/sem. El rendimiento es adecuado, considerando la salinidad relativamente alta en los estanques durante la engorda. Esta salinidad se encuentra por encima del rango óptimo de la especie considerado por Villarreal y Peláez (1999). Rida *et*

al. (2020, artículo aceptado) reportan la relación inversa existente entre la salinidad y la tasa de crecimiento en *C. quadricarinatus*. Además de la información genética en el organismo, las diferencias en las condiciones ambientales y de cultivo pueden tener un impacto considerable en el crecimiento y la supervivencia del organismo. *C. quadricarinatus* es considerada una especie eurihalina, que posee la habilidad de vivir en un amplio rango de salinidades (Jones, 1995); sin embargo, dado que su hemolinfa es hiperosmótica respecto al ambiente, enfrenta una constante pérdida de iones por difusión, que, al necesitar ser regulada, consume recursos energéticos (Prymaczok *et al*., 2008). El efecto de la salinidad en el crecimiento durante el presente estudio es evidente al comparar los resultados con lo reportado por Nuñez-Amao *et al*. (2016), quienes reportaron una tasa de crecimiento de 2.49 g/sem para machos y 1.99 g/sem para hembras, en salinidades de aproximadamente 0.5 g/L, utilizando estanques recubiertos con HDPE a escala comercial. En cuanto a la supervivencia, los mismos autores reportaron un promedio de 80.65%, lo cual también es superior a lo reportado en el presente estudio. Aunque Prymaczok *et al*. (2008) reportaron que no hay un efecto en la supervivencia de *redclaw* en exposiciones agudas a salinidades superiores a 15 g/L, Anson y Rouse (1994) encontraron un 50% de mortalidad en juveniles expuestos a 11 g/L después de solamente 15 días. Del mismo modo, Meade *et al*. (2002) demostraron que salinidades superiores a 5 g/L causan mortalidades en exposiciones largas. En base a esta información, la supervivencia durante la prueba se puede considerar aceptable, siendo, además, consistente para todos los grupos.

Los valores de FCA fueron considerablemente bajos. Villarreal (2002) menciona que en cultivos comerciales de redclaw a tallas de cosecha de 60-90 g el FCA se encuentra cerca de 1. Los valores menores a 1 reportados en el presente estudio reflejan un adecuado manejo de la alimentación, con disponibilidad abundante de alimento natural. Aparentemente, los escondrijos de malla de nylon son muy útiles para acumular materia

orgánica en conglomerados microbianos, contribuyendo con la nutrición y la calidad de agua (Avnimelech, 2012). En el caso de la etapa de pre-cría, los valores de FCA se relacionan a las condiciones de agua clara, por lo cual el alimento artificial suplementado constituyó la principal fuente de materia orgánica para el crecimiento de los animales. El cultivo de *redclaw* en estanques permite lograr un óptimo manejo de fertilización, alimentación y manejo de la calidad de agua. En los grupos parentales, machos y hembras de la población de Baja California Sur (C) presentaron los valores promedio de FCA más bajos. Las cruzas conformadoras del núcleo obtuvieron un FCA más bajo en comparación con las cruzas de referencia y los parentales, siendo los machos y hembras de M:CT y M:TC quienes obtuvieron los valores más bajos. Esto se debe a que dichas cruzas presentaron la mejor combinación crecimiento/supervivencia, con una mayor producción de biomasa en función al tiempo y cantidad de alimento suministrado. La Tabla IX mostró que el FCA se relacionó fuertemente con el número de alelos en donde, a mayor diversidad en Na, mayor crecimiento de los organismos.

Un aspecto relevante, es que todos los grupos conformadores del núcleo, tanto en machos como en hembras, mostraron valores de heterosis positiva respecto al mejor de los grupos parentales (C). Usualmente, la heterosis se refiere a la relación entre el promedio de la cruza F1 con el promedio de ambos padres, sin embargo, Dunham (2001) sugiere que lo que realmente se considera de interés en un programa de mejoramiento, es obtener una F1 con un desempeño superior al mejor parental. Crow (2001), por su parte, menciona que mientras más divergencia haya en las líneas parentales, mayor heterocigosidad en la progenie, aunque esto también dependerá de la estructura genética de cada población parental. Los programas de cría selectiva siempre generan mayor beneficio mientras haya mayor variabilidad tanto del parámetro de mejoramiento de interés, así como de las poblaciones utilizadas. En el caso de *redclaw* se han obtenido beneficios considerables al cruzar poblaciones de diferentes ríos en sus regiones

endémicas de Australia (Jones y Ruscoe, 1996). La heterosis relativamente alta obtenida en las cruzas, se puede relacionar con un incremento en el número de heterocigotos y una consecuente disminución de los homocigotos, los cuales tienen una mayor proporción de genes recesivos deletéreos (Mora-Castrejón, 2019). Por otro lado, la Tabla V muestra que la población de Baja California Sur (C) presenta el valor más bajo de heterocigosidad observada (Ho). Aunque las tres poblaciones provienen de un origen común en Australia, estas han sido aisladas durante 20 años (Hernandez-Gurrola *et al.* 2020) con diferente presión de selección. En el caso de Baja California Sur, esta presión de selección masiva por talla resultó en la fijación de alelos y una disminución en la heterocigosidad observada, por un lado, pero, en términos de la varianza genética aditiva, (proporción de la varianza fenotípica que podemos asociar a los genes) lograda, se mejoraron las tasas de crecimiento en la población.

Entre los aspectos comercialmente importantes de un cultivo se incluyen la tasa de crecimiento, la distribución de frecuencias de tamaño y el porcentaje de organismos cosechados con talla de mercado. La distribución de frecuencias de los grupos parentales se muestra en las Figuras 33 y 34. Como se mencionó en el punto 8.1, la presión de selección previa en las poblaciones parentales C y T queda evidenciada al comparar con M. Jones *et al*. (1998) indicaron que los pesos de cosecha después de 12 meses en un estanque de *redclaw* son extremadamente variables, ya que se pueden obtener organismos que varíen entre 40 y 200 g, excluyendo a los juveniles que se producen por cruzas espontáneas en el estanque. Gran parte de esta variación puede ser atribuida a la información genética y es, por lo tanto, heredable. En base a esta variación, se puede esperar un incremento anual en las tasas de crecimiento de entre 5 y 10% (Jones *et al*., 2000). Los incrementos reportados en las cruzas del núcleo en el presente estudio se encuentran dentro de estos niveles. A nivel comercial se busca que la mayor parte del producto alcance talla comercial. Por otro lado, es común seleccionar reproductores de

los estanques de engorda para el siguiente ciclo de cultivo. Jones *et al*. (1995) recomiendan seleccionar entre 5 y 10% de los organismos más grandes de cada sexo para conformar un grupo reproductor para la siguiente generación. Es importante mencionar que utilizar un número reducido de reproductores aumenta la probabilidad de endogamia (McPhee *et al*., 2004). Por otro lado, tradicionalmente los productores en Australia suelen transferir los organismos que no alcanzan la talla comercial a otros estanques de engorda mixta (Villarreal, 2002), esto con la finalidad de continuar su crecimiento. Si dichos organismos, sexualmente maduros, se reproducen en los estanques y los juveniles son utilizados para un cultivo subsecuente, eventualmente generan una progenie genéticamente propensa a producir bajos rendimientos (Stevenson *et al*., 2013).

Naranjo-Páramo (2009) menciona un costo de producción de *redclaw* en un sistema optimizado de $2.55 USD/kg, mientras que Arzola-González *et al*. (2012) mencionan $2.46 USD/kg para un sistema similar en Sinaloa. El precio promedio de venta para organismos de 40-90 g es de $12USD/kg (Hernández-Llamas *et al*., 2019). Considerando un costo promedio de $2.50USD/kg, basado en sistemas de producción con dos estanques de machos y hembras por hectárea, se puede establecer una comparación entre un hipotético cultivo con organismos de los parentales y el núcleo, sembrados a una densidad de 5 org/m^2, se obtendría una utilidad bruta de $20,105 USD/ha, que representa un ingreso superior en $1,368 USD/ha con respecto a un cultivo basado en organismos provenientes del parental C, $2,884 USD/ha frente a organismos de T, y $4,019 USD/ha frente a organismos de M. Los resultados evidencian, por un lado, el impacto económico de la varianza genética aditiva en poblaciones que han sido sometidas a presión de selección (C y T), cuando se comparan con una población sin presión de selección (M).) Por otro lado, se muestra el impacto de la varianza genética no-aditiva, al realizar cruzas de poblaciones genéticamente divergentes (núcleo), comparadas con los parentales. Jones *et al*. (2000) mencionan que los programas de mejoramiento genético para *redclaw*

se deben basar en la selección de un número considerable de organismos superiores, respecto a un parámetro deseado, y una vez iniciado este proceso, añadir periódicamente nuevo material genético con poblaciones que presenten alta variabilidad. Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que se pueden obtener ganancias en tasas de crecimiento y rendimiento del cultivo, a través de la aplicación de técnicas genéticas de bajo costo.

8.3 Respuesta fisiológica

El efecto en los parámetros de producción de llevar a cabo cruzamientos, ya sea intra o interespecíficos, para el mejoramiento genético de especies acuícolas ha sido ampliamente reportado. Sin embargo, existe poca información de su impacto desde una perspectiva de respuesta fisiológica, particularmente en la evaluación de los valores de tasa metabólica y nivel crítico de oxígeno. Determinar el metabolismo por medio del consumo de oxígeno como un método para cuantificar la energía utilizada por un organismo (Hopkins y Cech, 1994) puede ser un indicador de la habilidad de éste, o de una línea genética específica, para distribuir y enfocar sus reservas energéticas en producción de biomasa. Los valores de tasa metabólica estándar (TME) obtenidos en el presente estudio (0.066 – 0.094 $mgO_2/g/h$) a 28°C, son similares a lo reportado para organismos mayores a 10 g de *redclaw* (Meade *et al*., 2002; Monge-Quevedo, 2013; Carreño-León, 2014). Mientras que, en estudios con otras especies de crustáceos, Chen y Nan (1994) reportaron tasas de consumo de oxígeno de 0.91, 0.71, 0.71, 0.60 y 0.49 $mgO_2/g/h$ para *P. chinensis*, *P. penicillatus*, *P. monodon*, *P. japonicus* y *Metapenaeus ensis*, respectivamente. Por otro lado, Vinatea *et al.* (2011) reportaron valores de 0.25 $mgO_2/g/h$ en adultos de *L. vannamei* expuestos a condiciones óptimas de temperatura y salinidad.

Durante las pruebas de respirometría se observó que los organismos de menor tamaño presentaron valores de TME y nivel crítico de oxígeno superiores al de los animales de mayor tamaño, esto es consistente con lo reportado en la literatura (Villarreal, 1998; Carreño-León, 2014), y es un principio que aplica a todos los seres vivos (Robinson *et al*., 1983), ya que los organismos más pequeños tienen una relación superficie-volumen mayor, lo que genera demanda energética más alta en comparación con organismos de mayor talla. En particular para el caso de crustáceos, una explicación de TME más altas en organismos pequeños, está relacionado con el ciclo de vida del animal, el cual durante sus etapas de juvenil tiende a canalizar su energía principalmente en el crecimiento, con procesos de muda más frecuentes. Un pre-adulto en cambio, al iniciar su proceso de maduración sexual, enfoca parte de su energía en la producción de gametos y conductas de apareamiento relacionadas con la reproducción. Cuando se comparan los valores de TME y punto crítico de oxígeno de machos y hembras, se observa que, en general, los machos presentaron valores más bajos. Por otro lado, esto puede explicarse desde un punto de vista energético relacionado con la reproducción, ya que se ha demostrado que las hembras invierten una mayor cantidad de energía durante los procesos de ovogénesis (Rodríguez-González *et al*., 2009). A pesar de ello, durante la evaluación de las diferentes cruzas, tanto en machos como en hembras, el tamaño de los organismos no influyó en los resultados del presente estudio ya que se seleccionaron animales de tamaños muy similares y no hubo diferencias significativas en peso para los diferentes grupos evaluados. Por otro lado, otro de los factores que pueden afectar la tasa metabólica del organismo es el consumo de alimento y los procesos digestivos asociados a ello (McGaw, 2007). Para evitar esto, los organismos utilizados fueron colocados en contenedores con agua limpia, y mantenidos sin alimento durante 24 horas previas a la evaluación, con el objeto de establecer una tasa metabólica rutinaria y no una influenciada a procesos digestivos. Esta estrategia parece ser adecuada de acuerdo con la literatura. Carter y Mente (2014) mencionan que después de un periodo de alimentación, el flujo de aminoácidos y otros nutrientes del sistema digestivo hacía otros tejidos,

estimula un rápido aumento del metabolismo reflejado por aumentos en el consumo de oxígeno. Houlihan *et al*. (1993) observaron que el mayor pico de síntesis de proteínas después de una alimentación, coincidió con el mayor pico de consumo de oxígeno en el cangrejo de mar *Carcinus maenas*. Inclusive, después de 16 horas de la última alimentación, la tasa de síntesis de proteína seguía siendo considerable. Villarreal (1998) demostró que es factible evaluar la tasa metabólica rutinaria después de 24 horas. En animales sin alimentar, la tasa de síntesis proteica representa un 20-50% del pico máximo de síntesis en animales alimentados (Carreño-León et al. 2014; Villarreal y Ocampo, 1993).

Los resultados de TME en machos muestran que, de los grupos parentales, C presentó valores significativamente más altos en comparación con T y M. Dado que no hubo diferencias en cuanto al tamaño de los organismos en los tres grupos, esta diferencia puede atribuirse a cambios en la eficiencia energética de los animales. Desde ese punto de vista, el menor consumo de los parentales T y M podría considerarse relevante en cuanto a la demanda de oxígeno en un estanque y su impacto en la capacidad de carga del mismo (Naranjo *et al*., 2018), particularmente cuando se busca intensificar el cultivo. Sin embargo, cuando no hay limitación de oxígeno en el sistema de cultivo, la principal meta de un productor acuícola es obtener las mejores tasas de crecimiento. En este sentido, el parental C es la población más adecuada para este propósito. Los resultados del presente estudio indican que un mayor crecimiento, es decir, una mayor acumulación en biomasa corporal por parte del organismo, requiere de un mayor consumo de oxígeno. Basado en los estudios de requerimientos de energía en *Cherax spp.* (Villarreal, 1998), y de demanda energética para la generación de gametos (Rodríguez-González e*t al*., 2009), de desarrollo embrionario (García-Guerrero *et al*., 2002) y de crecimiento (Carreño-León *et al*., 2014), es posible concluir que la selección masiva para crecimiento llevada a cabo en la población de Baja California Sur, se ha generado una población con un pool genético específico (Valencia-Valdez, 2012; Mora-Castrejón, 2019) que privilegia el metabolismo eficiente

para la construcción de proteína a partir de una mayor demanda metabólica estándar. Por otro lado, aunque no hay diferencias significativas, la tasa promedio de los grupos conformadores del núcleo es ligeramente superior al promedio de los parentales, lo que puede indicar que los organismos no han optimizado todavía su respuesta fisiológica con la nueva arquitectura genética.

Si se busca una concordancia entre los valores de TME con crecimiento, se puede establecer que las cruzas de referencia, C:T-T:C y T:M-M:T, tuvieron tasas metabólicas marginalmente más altas y mayores tasas de crecimiento. En el núcleo, los machos TC:M y M:TC presentaron los crecimientos más altos pero la TME promedio fue inferior al resto de las cruzas en el núcleo. En hembras la misma tendencia se observa, pero los valores promedio son ligeramente más altos que para los machos. Esto probablemente debido a que gran parte del proceso de síntesis de tejidos en machos se enfoca en el crecimiento, mientras que en hembras hay, además, un incipiente costo energético para el desarrollo de oocitos (Rodríguez-González *et al*., 2009), por lo que se espera que los valores de TME sean más altos en hembras, comparados con los machos (Carreño-León <., 2014; Monge-Quevedo, 2013).

Los valores del punto crítico de oxígeno disuelto en el presente estudio son similares a lo reportado por Monge-Quevedo (2013) para reproductores de 30-60 g. En el estudio el promedio del punto crítico fue más bajo para machos y hembras del parental de Baja California Sur, producto de una adaptación significativa a la domesticación, reflejada por una mejor capacidad para mantenerse como regulador del consumo de oxígeno (Villarreal, 1998). Varios autores han establecido que la especie tiene una tolerancia significativa a niveles bajos de oxígeno (Villarreal y Peláez, 1999; Carreño-León *et al*., 2014; Monge-Quevedo, 2013). Los valores de punto crítico de oxígeno en este estudio son inferiores a lo reportado para otras especies de crustáceos como *L. vannamei* (2.00

mgO_2/L) (Seidman y Lawrence, 1985), *C. tenuimanus* (1.78 mgO_2/L) (Villarreal, 1998) o *Faefantepenaeus californiensis* (1.8 mgO_2/L) (Ocampo, 2001). *Cherax quadricarinatus* presenta una tasa metabólica baja y una buena capacidad de tolerar condiciones de oxígeno limitado (Carreño-León *et al*., 2014) en comparación con otros crustáceos de importancia comercial. Como se mencionó antes, el punto crítico de saturación de oxígeno disuelto refleja la estrategia metabólica para el mantenimiento de sistemas básicos que permitan mantener vivo al organismo cuando la saturación de oxígeno es limitada. Reiber (1995) y Villarreal (1998), entre otros, mencionan que algunas especies de acociles son capaces de mantener un metabolismo aeróbico hasta alcanzar el nivel crítico de oxígeno, pero tienen la capacidad de cambiar a metabolismo anaeróbico. Carreño-León *et al*., (2014) menciona que una posible estrategia de *redclaw* es llevar a cabo un reciclaje de productos metabólicos, donde el lactato es convertido a glucosa o glucógeno para la producción de energía, permitiendo extender el tiempo de conformación fisiológica. Por otro lado, el punto crítico de oxígeno en machos no mostró diferencias significativas entre los parentales y los grupos conformadores del núcleo. En cuanto a los resultados de punto crítico en hembras, estos son similares entre los diferentes grupos, con excepción de C que fue significativamente menor que M:TC. Esto indica que este grupo del núcleo no mantuvo la capacidad de tolerancia fisiológica con respecto al mejor parental, por lo que la investigación futura deberá establecer si existen diferencias en la expresión génica específica que puedan indicar cuales son las rutas metabólicas suprimidas. Por otro lado, los valores promedio de punto crítico para machos son menores que para hembras, indicando una diferencia en la que los machos muestran una capacidad adaptativa superior a las hembras. Como se ha indicado antes, esto se relaciona a la estrategia de uso de recursos energéticos, en donde las hembras sexualmente adultas deben destinar una proporción mayor de energía a la formación de gametos (Rodríguez-González *et al*., 2009; Monge- Quevedo, 2013).

8.4 Respuesta inmunológica

A diferencia de los vertebrados, los invertebrados, como los crustáceos, no presentan un sistema inmune específico (Aguirre-Guzmán *et al*., 2009; Vázquez *et al*., 2009). Sin embargo, se han llevado a cabo algunos estudios para mejorar la supervivencia ante la exposición a patógenos específicos (Moss *et al*., 2005; Trang *et al*., 2019). Actualmente, existen tres estrategias designadas para incrementar la supervivencia, incluyendo la selección natural en las granjas de engorda, la selección de supervivientes en retos artificiales, y la selección de organismos cuyas familias presentaron una mayor supervivencia en un reto artificial (Moss *et al*., 2005). Sin embargo, este tipo de estudios y técnicas de mejoramiento se basan en el uso de la varianza genética aditiva (*i.e.* a los efectos aditivos de todos los alelos del organismo) (Tave, 1999). Por otro lado, en el presente trabajo se evaluó la posibilidad de generar tolerancia mediante el uso de la varianza genética no-aditiva (*i.e.* de dominancia) a partir del entrecruzamiento de tres genotipos de *redclaw* en México (Baja California Sur, Tamaulipas y Michoacán). A excepción del tratamiento C:M-M:C en el experimento 2 (Tabla XI), que tuvo mortalidad total después de 72 horas, los resultados del reto de infección de los demás grupos evaluados, no mostraron una diferencia significativa en términos de supervivencia. A pesar de esto, se observaron algunas diferencias porcentuales que pueden indicar capacidades diferentes entre los grupos, que no pudieron ser elucidadas estadísticamente por el número limitado de réplicas y la variación entre ellas. Wiegertjes (1995) menciona que, a menos que se trate de animales consanguíneos, una población inevitablemente mostrará una alta variabilidad en respuesta a una infección con un patógeno, la cual se ve reflejada en la variabilidad dentro de los parámetros de resistencia natural. Rahman *et al*. (2019) por otro lado, mencionan que la hibridación puede ser utilizada para mejorar la resistencia a enfermedades al reproducir una línea resistente con una menos resistente, es decir, líneas que presenten una alta variabilidad entre ellas, pero baja dentro de ellas. Debido a esto, la probabilidad de encontrar diferencias de respuesta entre las poblaciones y cruzas evaluadas en nuestro estudio era baja. A la fecha, no existen estudios donde se

evalué un posible incremento en la resistencia a patógenos mediante cruzas intraespecíficas en crustáceos. Sin embargo, se han llevado a cabo algunos estudios que evalúan el efecto del cruzamiento en la resistencia a enfermedades basados en funciones de inmunidad no-especifica en vertebrados. Cai *et al*. (2004) y Solis *et al*. (2007), reportaron diferencias significativas entre híbridos interespecíficos y parentales de *O. aureus* y *O. niloticus* en infecciones con *Aeromonas sobria.* Sarder *et al*. (2001) reportó evidencia de heterosis media en forma de dominancia en la herencia de algunos parámetros de respuesta inmune no-específica. Sin embargo, ninguna de las cruzas excedió el valor más alto mostrado por las líneas parentales. Los resultados de dichos estudios muestran que, aparentemente, la herencia es no-aditiva (*i.e.* no es intermedia entre los dos parentales), sino que los valores fenotípicos de la descendencia tienden a ser más cercanos a los del parental con la mejor respuesta inmune. En nuestro estudio, los mejores parentales (T:T y M:M) alcanzaron una supervivencia del 50%, mientras que Baja California Sur alcanzó 30%. Esto puede estar relacionado con la presión de selección para crecimiento que, en este grupo, se ha realizado por cerca de 20 años. Hemos mencionado que la distribución de energía para procesos metabólicos en las especies puede privilegiar alguna estrategia particular si se ejerce presión de selección (i.e, crecimiento, reproducción o capacidad de respuesta fisiológica o inmune (Villarreal, 1998)), por lo que es posible que el parental C tenga una menor capacidad de responder a ataques de patógenos específicos. Esto es particularmente cierto, en poblaciones donde se considera que no existen enfermedades de importancia comercial que las afecten (Villarreal y Peláez, 1999) por que han estado aisladas de otras poblaciones comerciales, que pudieran contaminar su cultivo. Por otro lado, la cruza C:M-M:C presentó mortalidad total después de 72 horas. Aunque es posible que haya habido un error metodológico en el proceso de inyección de ese grupo, la investigación futura deberá buscar establecer respuestas específicas, por retos patológicos y de expresión génica, que puedan establecer si la combinación de esas dos poblaciones divergentes genera una debilidad significativa del sistema inmune de la especie.

En cuanto a los grupos del núcleo, los resultados muestran que las cruzas no alcanzaron los valores de LD-50 esperados. Esto puede deberse a dos razones: (1) Los grupos tienen una menor capacidad de respuesta inmune que los parentales, o (2) La virulencia de la cepa utilizada en la evaluación resultó superior a la esperada. Esto es posible ya que, cuando se realiza la determinación de concentración bacteriana para el reto patológico a partir de determinaciones de LD-50, se realizan interpolaciones matemáticas entre concentraciones que pueden generar variaciones (también llamado error experimental) de valor esperado al momento de realizar el reto patológico. Por ello, en el presente estudio no se pueden comparar directamente los valores de supervivencia entre parentales y los grupos conformadores del núcleo. Los resultados mostraron que el grupo TC:M tuvo un promedio del porcentaje de supervivencia 20% superior al de los otros grupos del núcleo, aunque la variación entre las réplicas fue tal que no hubo diferencias estadísticas. De manera similar, la cruza de referencia C:T-T:C, tuvo un promedio del porcentaje de supervivencia más alto que las otras cruzas. Estos resultados pueden indicar alguna diferencia a nivel de capacidad de respuesta inmunológica, por lo que la investigación futura deberá evaluar si la combinación de esas poblaciones divergentes genera una ventaja significativa asociada con el sistema inmune de la especie. Como se mencionó anteriormente, la cría para resistencia a patógenos específicos es una estrategia altamente deseable para mitigar el impacto de las enfermedades cuando estas tienen un efecto significativo en el cultivo comercial, como por ejemplo en el caso del camarón, donde las enfermedades han causado pérdidas de millones de toneladas de producto anualmente (Soto-Rodríguez *et al*., 2015). Sin embargo, existe una relación genética entre esta capacidad y otros aspectos de importancia económica, como el crecimiento (Barría *et al*., 2019). Correlaciones negativas entre la resistencia a enfermedades y la supervivencia o el crecimiento han sido reportadas en numerosos estudios (Gjedrem, 2015; Yáñez *et al*., 2016). Argue *et al*. (2002) reportó una menor ganancia de peso y frecuencia de mudas en líneas de *L. vannamei* resistentes a TSV en comparación con líneas susceptibles. Los resultados sugieren que los genes pleiotrópicos

(*i.e.* genes que afectan directamente a dos o más rasgos), pueden ser responsables del efecto observado entre la resistencia a enfermedades y el crecimiento (Moss y Doyle, 2005). Un crecimiento rápido exhibe un costo fisiológico que limita los recursos asignados a otras funciones corporales, por lo que se puede esperar en efecto negativo en aspectos como la fecundidad o la supervivencia (Vehvilainen *et al*., 2010). Las cruzas del presente estudio que presentaron una mejor respuesta del cruzamiento en términos de resistencia inmune, fueron las cruzas de referencia C:T-T:C y las cruzas del núcleo TC:M ya que, en ambos casos, se obtuvieron buenos crecimientos y supervivencias más altas en el reto de infección. Información asociada a la expresión de genes podrá, en una investigación futura, contribuir a definir si existe una correlación efectiva entre las variables de diversidad genética y la respuesta inmune.

9. CONCLUSIONES

- La fecundidad de las poblaciones parentales evaluadas en el presente estudio se encuentra dentro de lo reportado para la especie, a pesar de que el cultivo de *redclaw* en México ha sido llevado a cabo básicamente sin incorporación de sangre nueva a partir de la cruza con poblaciones.

- En cuanto al número de juveniles producidos, el cruzamiento recíproco de las poblaciones parentales generó una heterosis media de hasta 10.05%, y una heterosis respecto al mejor parental (C) de hasta 4.35% para el grupo conformador del núcleo TC:M.

- El crecimiento durante la etapa de pre-cría es comparable con lo reportado en otros estudios de juveniles de redclaw, a pesar de utilizarse una densidad más alta y condiciones de cultivo en agua clara.

- Tanto en el grupo parental, como en las cruzas de referencia que incluyen a un reproductor proveniente de Michoacán (M), los promedios de peso final y tasa de crecimiento se encuentran en la parte inferior del intervalo de la evaluación. Esto se relaciona con que, a diferencia de las poblaciones de Baja California Sur (C) y Tamaulipas (T), M no fue sometida a presión de selección para crecimiento.

- Las cruzas del núcleo presentaron valores altos de peso final y tasa de crecimiento. Durante la pre-cría, la heterosis media en M:TC fue de 8.55%, pero no se observó una heterosis positiva respecto al mejor parental (C). En la etapa de engorda monosexual, se reportó una heterosis media máxima de 15.78%, y una heterosis respecto al mejor parental de 10.55% para M:TC.

- Los machos y hembras de todos los grupos conformadores del núcleo tuvieron una heterosis positiva respecto al mejor parental, durante la etapa de engorda monosexual. En conjunto con el incremento en los valores de diversidad genética reportados por Mora-Castrejón (2019), el vigor hibrido logrado en los grupos del núcleo, permite concluir que es adecuado para el inicio de un programa de selección.

- La supervivencia durante la etapas de precría y engorda monosexual es similar o superior a otros reportes publicados. Esto es relevante, particularmente considerando que el cultivo durante la precría se realizó en condiciones de agua clara a alta densidad, y la salinidad promedio registrada durante la engorda fue más alta del máximo recomendado por Villareal y Peláez (1999) para la especie. En base a estos resultados, se puede establecer que la especie tiene una capacidad adaptativa significativa para el cultivo en diferentes condiciones ambientales.

- Tanto en la etapa de precría como en la de engorda monosexual, el cruzamiento recíproco de las poblaciones parentales no generó un diferencial de supervivencia significativo. Las heterosis más altas se obtuvieron para las hembras M:TC durante la etapa de engorda, las cuales fueron de 9.8% y 4.07% para heterosis media y heterosis respecto al mejor parental (C). Esto indica una mejora en la capacidad de respuesta del organismo. Por su parte, los valores de heterosis para machos en la precría y engorda monosexual fueron generalmente cercanos a cero o negativos, indicando que no hubo un avance con respecto a los parentales.

- Los valores relativamente altos de FCA en la etapa de pre-cría fueron esperados ya que se asocian a un cultivo en alta densidad en agua clara (sin productividad natural), donde la única fuente nutricional en las unidades experimentales es la ración balanceada. Se esperaba que los FCA durante la engorda monosexual en estanques a

cielo abierto fueran más bajos, en comparación con otros estudios, debido particularmente a los buenos crecimientos y la contribución del alimento natural. Las cruzas que obtuvieron los mejores resultados fueron M:CT y M:TC debido a una mejor combinación crecimiento/supervivencia.

- Se estableció una correlación linear positiva entre el crecimiento y los valores de diversidad genética, número de alelos (Na) y heterocigosidad observada (Ho). Un pool genético ampliado, con una reducción de la depresión por endogamia asociada a alelos recesivos deletéreos, puede incrementar la capacidad de adaptación a condiciones ambientales cambiantes, donde la dominancia de los heterocigotos puede resultar en una mayor eficacia biológica en comparación con los homocigotos.

- Si los resultados obtenidos durante la etapa de engorda monosexual se extrapolaran a producción comercial, un cultivo conformado por organismos del núcleo generaría una utilidad bruta 6.8% superior en comparación con un cultivo conformado por organismos de C, 14.3% superior a T y 20.0% superior a M, lo cual es un incremento considerable en el rendimiento. El cruzamiento de poblaciones divergentes de la especie es una técnica de mejoramiento de las características de la población, de bajo costo.

- Los machos de C presentaron una TME más alta en comparación con los de T y M. Esto puede ser el resultado de un proceso de selección masiva para crecimiento llevado a cabo por más de 13 generaciones, ya que una mayor síntesis de proteínas requiere de un mayor consumo de oxígeno para su metabolismo.

- Las cruzas del núcleo TC:M y M:TC presentaron una alta eficiencia energética, dado que obtuvieron mejores crecimientos, con TME similares a los otros grupos.

- La sobrevivencia después de inyección de un patógeno no mostró resultados concluyentes. Para los parentales, C presentó el promedio de supervivencia más bajo, que puede estar asociado a la presión masal de selección para crecimiento. En el núcleo, los resultados mostraron que TC:M tuvo una supervivencia promedio 20% superior al de los otros grupos del núcleo, aunque los resultados mostraron gran variabilidad y no fueron significativamente diferentes a los otros grupos. En general, un incremento en la resistencia a enfermedades se asocia con el uso de la varianza genética aditiva, al seleccionar organismos supervivientes a retos patológicos. Por otro lado, se ha demostrado que es difícil que el uso de la varianza genética no-aditiva genere vigor híbrido en términos de resistencia.

- En general, los resultados muestran que los grupos conformadores del núcleo de *Cherax quadricarinatus* generados, tienen un pool ampliado con respecto a los parentales (Mora-Castrejón, 2019), muestran características deseables en términos de respuesta productiva (crecimiento, supervivencia, factor de conversión del alimento), tienen una capacidad fisiológica tal que refleja una mayor eficiencia que poblaciones comparables de crustáceos de cultivo, y una respuesta inmune a retos patológicos específicos tal, que permite definir al núcleo como susceptible para el inicio de un programa de mejoramiento genético.

10. LITERATURA CITADA

Aguirre-Guzmán, G., J.G. Sanchez-Martínez, A.I. Campa-Córdova, A. Luna-González, F. Ascencio. 2009. Penaeid shrimp immune system. Thai. J. Vet. Med. 39(3), 205-215.

Almeida, D.B., M.A. Paldes da Costa, L.N. Bassini, C.I. Peréz-Calabuig, C.G. Avila-Moreira, M.D. Nuns-Rodrigues, H.J. Peréz, R.A. Tavares, A.S. Varela Jr, H.L. Marques-Moreira. 2013. Reproductive performance in female strains of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquacult. Int. 21(6), 1291-1300.

Amarasinghe, U.S., S.S. De Silva. 1996. Impact of *Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus* (Pisces: Cichlidae) hybridization on population reproductive potential and long-term influence on a reservoir fishery. Fisheries Management and Ecology 3(3), 239-249.

Ambas, I., A. Suriawan, R. Fotedar. 2013. Immunological responses of customised probiotics-fed marron, *Cherax tenuimanus*, (Smith 1912) when challenged with *Vibrio mimicus*. Fish & Shellfish Immunology 35, 262-270.

Andrews, C.A. 2010. Natural Selection, Genetic Drift, and Gene Flow Do Not Act in Isolation in Natural Populations. Nature Education Knowledge 3(10), 1-5.

Andriantahina, F., X. Liu, H. Huang, J. Xiang. 2013. Selection for growth performance of tank-reared Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Chinese Journal of Oceanology and Limnology 31(3), 534-541.

Anson KJ, Rouse DB. 1994. Effects of salinity on hatching and post-hatch survival of the Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. J World Aquacult Soc. 25, 277–280.

Appleyard, S.A., J.M. Renwick, P.B. Mather. 2001. Individual heterozygosity levels and relative growth performance in *Oreochromis niloticus* (L.) cultured under Fijian conditions. Aquac. Res. 32, 287-296.

Arcos, F.G., I.S. Racotta, A.M. Ibarra. 2004. Genetic parameter estimates for reproductive traits and egg composition in Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. Aquaculture 236, 151-165.

Argue, B.J., S.M. Arce, J.M. Lotz, S.M. Moss. 2002. Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus. Aquaculture 204(3-4), 447-460.

Arredondo-Figueroa, J.L., J.T. Ponce-Palafox, K. Shirai-Matsumoto, A. Pérez-Zavaleta, I.D. Barriga-Sosa, A. Ruiz-Luna. 2013. Effects of including shrimp protein hydrolysate in practical diets on the growth and survival of redclaw crayfish hatchlings Cherax quadricarinatus (Von Martens, 1868). Aquaculture Research 44, 966-973.

Arzola-González, J.F., E.M. de la Cruz, L.I. Verde-Osuna, E. García-Burgueño, L.M. Flores-Campaña, Y. Gutiérrez-Rubio. 2012. Crecimiento, densidad y rentabilidad del cultivo de langosta de agua dulce (Decapoda: *Cherax quadricarinatus*) en Sinaloa, México. Ra Ximhai 8(3), 17-26.

Astete-Espinoza, L., C. Garrido, C. Caceres. 2010. Respuestas fisiológicas de *Neotrypaea uncinata* (Decapoda: Thalassinidea) a la hipoxia y al parasitismo por *Ionella agassizi* (Isopoda: Epicaridea). Rev. Biol. Mar. Oceanog. 45, 423-431.

Austin, C.M. 1993. Preliminary Pond Production of the Red Claw Crayfish, *Cherax Quadricarinatus*, in the Central United States. Journal of Applied Aquaculture 4, 93-102.

Austin, C.M. 1998. A comparision of clutch and brood size in the Red Claw, *Cherax quadricarinatus* (von Martens) and the Yabby, *C. destructor* Clark (Decapoda: Parastacidae). Aquaculture 167, 35-145.

Avnimelech, Y. 2012. Biofloc Technology - A Practical Guide Book, 2d Edition. The World Aquaculture Society. Second Edition. Louisiana. 272 p.

Bachere, E. 2000. Shrimp immunity and disease control. Aquaculture 191, 3-11.

Baker, N., K. Byrne, S. Moore, P. Mather. 2000. Characterization of microsatellite loci in the redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. Molecular Ecology 9(4), 494-495.

Baker, N., M. De Bruyn, P.B. Mather. 2008. Patterns of molecular diversity in wild stocks of the redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) from northern Australia and

Papua New Guinea: Impacts of Plio-Pleistocene landscape evolution. Freshwater Biology 53, 1592-1605.

Bakos, J., S. Gorda. 1995. Genetic improvement of common carp strains using intraspecific hybridization. Aquaculture 129, 183-186.

Barría, A., A.B. Doeschl-Wilson, J.P. Lhorente, R.D. Houston, J.M. Yáñez. 2019. Novel insights into the genetic relationship between growth and disease resistance in an aquaculture strain of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture 511, 734207.

Becking, T., A. Mrugała, C. Delaunay, J. Svoboda, M. Raimond, S. Viljamaa-Dirks, A. Petrusek, F. Grandjean, C. Braquart-Varnier. 2015. Effect of experimental exposure to differently virulent *Aphanomyces astaci* strains on the immune response of the noble crayfish *Astacus astacus*. Journal of Invertebrate Pathology 132, 115-124.

Bentsen, H.B., A.E. Eknath, M.S. Palada de Vera, J.C. Danting, H.L. Bolivar, R.A. Reyes, E.E. Dionisio, F.M. Longalong, A.V. Circa, M.M. Tayamen, B. Gjerde. 1998. Genetic improvement of farmed tilapias: Growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 160, 145-173.

Bernatchez, L. 2016. On the maintenance of genetic variation and adaptation to environmental change: considerations from population genomics in fishes. Journal of Fish Biology 89(6), 2519-2556.

Biscarini, F., E.L. Nicolazzi, A. Stella, P.J. Boettcher, G. Gandini. 2015. Challenges and opportunities in genetic improvement of local livestock breeds. Frontiers in Genetics 6(33), 1-7.

Bortolini, J.L., F. Alvarez, G. Rodríguez-Alamaraz. 2007. On the presence of the Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus,* in Mexico. Biol Invasions 9, 615-620.

Bosworth, B.G., W.R. Wolters, A.M. Saxton. 1994. Analysis of a diallel cross to estimate effects of crossing on performance of red swamp crawfish, *Procambarus clarkii*. Aquaculture 121, 301-312.

Boyd, C.E., B.J. Watten, V. Goubier, R. Wu. 1994. Gas supersaturation in surface waters of aquaculture ponds. Aquacultural Engineering 13(1), 31-39.

Boyd, C.E., C.S. Tucker. 1998. Pond Aquaculture Water Quality Management. Springer Science & Business Media.

Bradshaw, C.J.A., C.R. McMahon. 2008. Population Ecology: Fecundity. Encyclopedia of Ecology, 1535-1543.

Brooks, S., C.R. Tyler, J.P. Sumpter. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. Reviews in Fish Biology and Fisheries 7, 378-416.

Caballero-Zamora, A., E.G. Cienfuegos-Rivas, H.H. Montaldo, G.R. Campos-Montes, A. Martínez-Ortega, H. Castillo-Juárez. 2013. Genetic parameters for spawning and growth traits in the Pacific white shrimp (*Penaeus (Litopenaeus) vannamei*). Aquaculture Research 46(4), 833-839.

Cai, W.Q., S.F. Li, J.Y. Ma. 2004. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia x male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. Aquaculture, 229: 79-87.

Campaña-Torres, A., H. Villarreal-Colmenares, R. Rivera-Cerecedo, L.R. Martínez-Córdova. 2003. Efecto del nivel proteico de la dieta sobre el desarrollo de juveniles de la langosta australiana *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). Rev. Biol. Trop. 51(3), 749-752.

Campaña, A., H. Villarreal, R. Civera, L. Martinez. 2004. Efecto del nivel protéico de la dieta, sobre el desarrollo de juveniles de langosta australiana *Cherax quadricarinatus* (redclaw). Biologia Tropical. Vol. 51, 749-751.

Campaña-Torres, A., L.R. Martínez-Cordova, H. Villarreal-Colmenares, R. Civera-Cerecedo. 2005. Estudio de los parámetros de producción del acocil australiano *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1858), variando el nivel de proteína en su dieta. Hidrobiológica 15(3), 255-260.

Carreño-León, D., I. Racotta-Dimitrov, R. Casillas-Hernández, A. Monge-Quevedo, L. Ocampo-Victoria1, J. Naranjo-Páramo, H. Villarreal. 2014. Growth, Metabolic and

Physiological Response of Juvenile *Cherax quadricarinatus* Fed Different Available Nutritional Substrates. J Aquac Res Development 5(2), 1-7.

Carter, C.G., E. Mente. 2014. Protein synthesis in crustaceans: a review focused on feeding and nutrition. Central European Journal of Biology 9(1), 1-10.

Carvalho, G.R. 1993. Evolutionary aspects of fish distribution: genetic variability and adaptation. Journal of Fish Biology 43, 53-73.

Chapman, J.R., S. Nakagawa, D.W. Coltman, J. Slates, B.C. Sheldon. 2009. A quantitative review of heterozygosity–fitness correlations in animal populations. Molecular Ecology 18, 2746-2765.

Charlesworth, D., J.H. Willis. 2009. The genetics of inbreeding depression. Fundamental Concepts in Genetics 10, 783-796.

Chen, J.C., F.H. Nan. 1994. Comparisons of oxygen consumption and ammonia-N excretion of five penaeids. J. Crust. Biol. 14, 289-294.

Chen, Y.H., J.G. He. 2019. Effects of environmental stress on shrimp innate immunity and white spot syndrome virus infection. Fish Shellfish Immunol 84, 744-755.

Cobo, R., L. Peréz. 2018. Aspectos generales del cultivo y la genética del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras 35(1), 18-23.

Cock, J.H., T. Gitterle, M. Salazar, M. Ray. 2009. Breeding for disease resistance of Penaeid shrimps. Aquaculture 286(1-2), 1-11.

Cortés-Jacinto, E., H. Villarreal-Colmenares, M. Rendón-Rumualdo. 2003. Effect of feeding frequency on growth and survival of juvenile crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens 1868) (Decapoda: Parastacidae). Hidrobiológica 13(2), 151-158.

Cortés-Jacinto, E., H. Villarreal-Colmenares, R. Civera-Cerecedo, L.E. Cruz-Suárez. 2004. Studies on the nutrition of the freshwater crayfish Cherax quadricarinatus (Von Martens): Effect of the dietary protein level on growth of juvenile and pre-adults. Freshwater Crayfish 14, 70-80.

Cortés-Jacinto, E., A.I. Campa-Córdova, F. Ascencio, H. Villarreal-Colmenares, R.J. Holguín-Peña. 2009. The effect of protein and energy levels in diet on the antioxidant activity of juvenile redclaw Cherax quadricarinatus (von Martens, 1868). Hidrobiológica 19(2), 77-83.

Crow, J.F. 2001. Heterosis. In S. Brenner and J.H. Miller (Eds), Encyclopedia of Genetics (p. 933). Elsevier Science Inc.

Cruz, P., A.M. Ibarra, H. Mejia-Ruiz, P.M. Gaffney, R. Pérez-Enríquez. 2004. Genetic Variability Assessed by Microsatellites in a Breeding Program of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Marine Biotechnology 6(2), 157-164.

Curran, G.C., S. Dasgupta, K.R. Thompson. 2015. Production trial of juvenile Australian red claw crayfish in and indoor nursery. June. Recovered from: https://www.was.org/magazine/ArticleContent.aspx?Id=1095

Curtis, M.C. C.M. Jones. 1995. Overview of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* farming practices in northern Australia. Freshwater Crayfish 10, 447-455.

Davidovich, N., T. Pretto, S.E. Blum, Z. Baider, R. Grossman, H. Kaidar-Shwartz, Z. Dveyrin, E. Rorman. 2019. Mycobacterium gordonae infecting redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Dis. Aquat. Org. 135, 169-174.

De Donato, M., R. Ramirez, C. Howell, R. Verginelli, T. Orta, S. Cabrera, E. Mata, R. Manrique. 2008. Artificial family selection based on growth rate in cultivated lines of *Litopenaeus vannamei* (Decapoda, Penaeidae) from Venezuela. Genet. Mol. Biol. 31(4), 850-856.

De Silva, S.S., D. Soto. 2009. Climate change and aquaculture: potential impacts, adaptation and mitigation. In K. Cochrane, C. De Young, D. Soto and T. Bahri (eds). Climate change implications for fisheries and aquaculture: overview of current scientific knowledge. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 530. Rome, FAO. pp. 151-212.

Dharaneedharan, S., M. Heo, C. Balasundaram. 2016. Genetic assessment for growth performance in diallel crosses of wild and cultured giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of Applied Aquaculture 28(3), 183-198.

Díaz, F., G. Escalante, A.D. Re, E. Sierra. 2006. Fisiología energética de *Cherax quadricarinatus* (von Martens) alimentado con dos dietas, expuesto a un régimen constante y fluctuante de temperatura. Hidrobiológica 16(1).

Díaz-Jiménez, L., C.I. Pérez-Rostro, M.P. Hernández-Vergara. 2012. Heritability and response to selection for growth in the f1generation of crayfish *Procambarus acanthophorus.* Tropical and Subtropical Agroecosystems 15(2), S57-S62.

Dorson, M., E. Quillet, M.G. Hollebecq, C. Torhy, B. Chevassus. 1995. Selection of rainbow trout resistant to viral haemorrhagic septicaemia virus and transmission of resistance by gynogenesis. Veterinary Research 26, 361–368.

Duan, H., S. Jin, Y. Zhang, F. Li, J. Xiang. 2014. Granulocytes of the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* can endocytose beads, E. coli and WSSV, but in different ways. Developmental and Comparative Immunology 46, 186-193.

Dunham, R.A., K. Majumdar, E. Hallerman, D. Bartley, G. Mair, G. Hulata, Z. Liu, N. Pongthana, J. Bakos, D. Penman, M. Gupta, P. Rothlisberh, G. Hoerstgen-Schwark. 2001. Review of the status of aquaculture genetics. In R.P. Subasinghe, P. Bueno, M.J. Philips, C. Hough, S.E. McGLaddery, J.R. Arthur. Eds. Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium. Bangkok, Thailand, 20-25. February 2000. pp. 137-166. NACA, Bangkok and Fao, Rome.

Edgerton, B.F., L. Owens. 1999. Histopathological surveys of the redclaw freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*, in Australia. Aquaculture 180, 23-40.

Factor, J.R., J. Beeckman. 1990. The digestive system of the lobster, Homarus americanus: III. Removal of foreign particles from the blood by fixed phagocytes of the digestive gland. J. Morphol. 206, 293-302.

Falconer, D.S. 1981. Introducción a la Genetica Cuantitativa. Compañia Editorial Continental, México. 457 pp.

FAO, 2008. Aquaculture Development. 3. Genetic resource management. FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries. No. 5, Suppl. 3. Rome, FAO. 125 p.

FAO. 2009. Desarrollo de la acuicultura. 3. Gestión de recursos genéticos. FAO Orientaciones Técnicas para la Pesca Responsable. No. 5, Supl. 3. Roma, FAO. 148p.

FAO. 2011. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Cherax quadricarinatus*. Texto por Jones, C. En: FAO Fisheries Division (en línea). Roma.

FAO. 2012. Application of genetic technologies in aquaculture development and management. Committee on Fisheries. Sub-committee on aquaculture. South Africa. Recuperado de http://www.fao.org/3/mc856e/mc856e.pdf

FAO. 2018. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 250 p.

Fassatoui, C., Chenuil, A., M.S. Romdhane. 2012. Relationships between heterozygosity, growth parameters and age in the common pandora *Pagellus erythrinus* (Sparidae) in the Gabes Gulf (Tunisia). Mar. Ecol. Prog. Ser. 445, 251-261.

Fernández, J., M.A. Toro, A.K. Sonesson, B.Villanueva. 2014. Optimizing the creation of base populations for aquaculture breeding programs using phenotypic and genomic data and its consequences on genetic progress. Font. Genet. 4, 414.

FishStatJ. 2018. Programa informático para series cronológicas de estadísticas de pesca y acuicultura. Recuperado de http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/es

Freitas, P.D., M.R. Calgaro, P.M. Galetti. 2007. Genetic diversity whitin and between broodstocks of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), (Decapoda, Penaeidae) and its implication for the gene pool conservation. Braz. J. Biol. 67, 939-943.

Gao Y, L.K. Liu, K.J. Wang, H.P. Liu. 2020. A negative elongation factor E inhibits white spot syndrome virus replication by suppressing promoter activity of the viral immediate early genes in red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Dev Comp Immunol. 107, 103665.

García-Guerrero, M., I.S. Racotta, C. Rodríguez-Jaramillo, H. Villarreal, E. Cortes-Jacinto. 2003. Energy storage during the transition from endogenous to exogenous feeding in Australian redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1898). Invertebrate reproduction & development 44(2-3), 101-106.

García-Guerrero, M., H. Villarreal, I.S. Racotta. 2003. Effect of temperature on lipids, proteins, and carbohydrates levels during development from egg extrusion to juvenile stage of *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 135, 147-154.

García-Guerrero, M.U., J.P. Apun-Molina. 2008. Density and Shelter Influence the Adaptation of Wild Juvenile Cauque Prawns *Macrobrachium americanum* to Culture Conditions. North American Journal of Aquaculture 70.

García-Guerrero, M., P. Hernández-Sandoval, J. Orduña-Rojas, E. Cortés-Jacinto. 2013. Efecto de la temperatura sobre el incremento en peso, sobrevivencia y preferencia térmica de juveniles del acocil Cherax quadricarinatus. Hidrobiológica 23(1), 73-81.

García-Ulloa, M., H.M. López-Chavarín, H. Rodríguez-González, H. Villarreal-Colmenares. 2003. Growth of redclaw crayfish Cherax quadricarinatus (Von Martens 1868) (Decapoda: Parastacidae) juveniles fed isoproteic diets with partial or total substitution of fish meal by soya bean meal: Preliminary study. Aquaculture Nutrition 9(1), 25-31.

García-Mendoza, M.E. 2017. Calidad bacteriológica del agua en sistemas de mantenimiento de reproductores de *Seriola lalandi.* (Tesis maestría). Centro de

Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Baja California, México.

Gelineau, A., F. Medale, T. Boujard. 1998. Effect of feeding time on postpandrial nitrogen excretion and energy expenditure in rainbow trout. J. Fish. Biol. 52, 655-664.

Gitterle, T., H. Johansen, C. Erazo, C. Lozano, J. Cock, M. Salazar. 2007. Response to multi-trait selection for harvest weight, overall survival, and resistance to white spot syndrome virus (WSSV) in *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*. Aquaculture 272, S262–S262.

Gjedrem, T. 2004. Selection and breeding programs in aquaculture. Springer, Dordrecht.

Gjedrem, T., N. Robinson, M. Rye. 2012. The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: A review. Aquaculture 350-353, 117-129.

Gjedrem, T. 2015. Disease Resistant Fish and Shellfish Are within Reach: A Review. J. Mar. Sci. Eng. 3(1), 146-153.

Gjerde, B., P.V.G.K. Reddy, K.D. Mahapatra, J.N. Saha, R.K. Jana, P.K. Meher, M. Sahoo, S. Lenka, P. Govindassamy, M. Rye. 2002. Growth and survival in two complete diallele crosses with five stocks of Rohu carp (*Labeo rohita*). Aquaculture 209, 103-115.

Goyard, E., C. Goarant, D. Ansquer, P. Brun, S. de Decker, R. Dufour, C. Galinié, J. Peignon, D. Pham, E. Vourey, Y. Harache, J. Patrois. 2008. Cross breeding of different domesticated lines as a simple way for genetic improvement in small aquaculture industries: Heterosis and inbreeding effects on growth and survival rates of the Pacific blue shrimp Penaeus (*Litopenaeus) stylirostris*. Aquaculture 278, 43-50.

Gu, H., P.B. Matuer, M.F. Capra. 1994. The relative growth of chelipeds and abdomen and muscle production in male and female redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* von Martens. Aquaculture 123, 249-257.

Harkel, L. 2018. China gov´t says country´s crayfish industry worth $42bn. Available from URL: http://www.undercurrentnews.com/19June2018.

Hauton, C. 2012. The scope of the crustacean immune system for disease control. Journal of Invertebrate Pathology 110(2), 251-260.

He, L., Y.N. Xie, W. Lu, Y. Wang, L.L. Chen, P.B. Mather, Y.L. Zhao, Y.P. Wang, Q. Wang. 2012. Genetic diversity in three redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*, von Martens) lines developed in culture in China. Aquaculture Research 43(1), 75-83.

Hedgecock, D., J.P. Davis. 1995. Heterosis for yield and crossbreeding of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Aquaculture 272, S17-S29.

Hernández-Gurrola, J.A. 2016. Caracterización de la calidad de agua en un sistema intensivo de cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, en condiciones de alta salinidad con recambio de agua limitado. (Tesis de maestría). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Baja California Sur, Mexico.

Hernández-Gurrola, J.A., J. Naranjo-Páramo, M. Vargas-Mendieta, P. Cruz-Hernández, A. Villarreal-García, G. Mora-Castrejón, H. Villarreal-Colmenares. 2020. Effect of crossbreeding three divergent populations on the juvenile production and rearing performance of the redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture 527, 735420.

Hernández-Llamas, A., L. Núñez-Amao, J. Naranjo-Páramo, M. Vargas-Mendieta, H. Villarreal. 2019. A review of alternative pond harvesting schedules for male and female redclaw crayfish *C. quadricarintatus*, reared in intensive monosex commercial conditions: a stochastic bieconomic approach. Reviews in Aquaculture, 1-14.

Hopkins, T.E., J.J. Cech. 1994. Effect of temperature on oxygen consumption of the bat ray, *Mylobatis californica* (Chondrichthyes, Mylobatidae). Copeia 2, 529-532.

Hoque, F., A. Hussan, A. Das, P. Chakraborty. 2018. Managing water quality and fish health in aquaculture: Farmer's traditional practices in west Bengal. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies 6(4), 31-35.

Houlihan, D.F., E.M. Mathers, A. Foster. 1993. Biochemical correlates of growth rate in fish. En: Rankin J.C., Jensen F.B. (eds) Fish Ecophysiology. Chapman & Hall Fish and Fisheries Series, vol 9. Springer, Dordrecht.

Hovick, S.M., K.D. Whitney. 2014. Hybridisation is associated with increased fecundity and size in invasive taxa: meta-analytic support for the hybridisation-invasion hypothesis. Ecology Letters 17(11), 1464-1477.

Hsie, C., C. Huang, Y. Pan. 2016. Crayfish plague *Aphanomyces astaci* detected in redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* in Taiwan. Journal of Invertebrate Pathology 136, 117-123.

Huang, W.B., T.S. Chiu. 2008. Effects of stocking density on survival, growth, size variation, and production of Tilapia fry. Aquaculture Research 28(3), 165-173.

Huner, J.V, O.V. Lindqvist. 1991. Special problems in freshwater crayfish egg production. In: Crustacean Egg Production. (Eds). A. Wenner & A. Kuris. Pp. 235-246. Balkema, Rotterdam.

Hutchings, R.W., H. Villarreal. 1996. Biología y Cultivo de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*. Manual de Producción. Navimar, S.A. Guayaquil, Ecuador. 500 p.

Ibarra, A.M., C.I. Pérez-Rostro, J.L. Ramírez, E. Ortega-Estrada. 2007. Genetics of the resistance to hypoxia in postlarvae and juveniles of the Pacific white shrimp *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* (Boone 1931). Aquaculture Research 38(8), 838-846.

INAPESCA. 2018. Acuacultura. Langosta de agua dulce. Recuperado de: https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuacultura-camaron-azul.

Izquierdo, M.S., H. Fernández-Palacios, A.G.J. Tacon. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197, 25-42.

James, A.W. 1989. Principes of Animal Physiologic. MacMillan Publishing 2da Edición. 789-795 pp.

Jerry, D.R., I.W. Purvis, L.R. Piper, C.A. Dennis. 2005. Selection for faster growth in the freshwater crayfish *Cherax destructor*. Aquaculture 247(1-4), 169-176.

Johanson, M.W., K. Soderhall. 1989. Cellular immunity in crustaceans and the proPO system. Parasitol Today 5(6), 171-176.

Jones, C.M. 1990. The biology and aquaculture potential of the tropical freshwater crayfish, Cherax quadricarinatus. Brisbane: Queensland Department of Primary Industries.

Jones, C.M. 1995. Production of juvenile redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens) (Decapoda, Parastacidae): I. Development of hatchery and nursery procedures. Aquaculture 138, 221-238.

Jones, C.M., I.M. Ruscoe. 1996. Production Technology for Redclaw Crayfish (*Cherax quadricarinatus*). Final Report. Fisheries Research and Development Corporation. Freshwater Fisheries & Aquaculture Centre. Walkamin, Australia.

Jones, C.M., I.M. Ruscoe. 2000. Assessment of stocking size density in the production of redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens) (Decapoda: Parastacidae), cultured under earthen pond conditions. Aquaculture 189, 63-71.

Jones, C.M., C.P. McPhee, I.M. Ruscoe. 2000. A review of genetic improvement in growth rate in redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens) (Decapoda: Parastacidae). Aquaculture Research 31(1), 61-67.

Kenchington, E., M. Heino. 2002. Maintenance of genetic diversity: challenges for management of marine resources. International Council for the Exploration of the Sea. ICES CM 2002/Y:13.

Kincaid, H.L. 1983. Inbreeding in fish populations used for aquaculture. Aquaculture 33, 215–227.

King, C.R. 1993. Potential fecundity of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens), in culture. Aquaculture 114, 237-241.

Koehn, R.K., P.M. Gaffney. 1984. Genetic heterozygosity and growth rate in *Mytilus edulis*. Marine Biology 82(1), 1-7.

Kozák, P., Z. Ďuriš, A. Petrusek, M. Buřič, I. Horká, A. Kouba, E. Kozubíková-Balcarová, T. Policar. 2015. Crayfish Biology and Culture. University of South Bohemia in České

Budéjovice, Faculty of Fisheries and Protection of Waters, Vodñany, Czech Republic. 456 p.

Li, Z., J. Li, Q. Wang, Y. He, P. Liu. 2006. The effects of selective breeding on the genetic structure of shrimp *Fenneropenaeus chinensis* populations. Aquaculture 258, 278-282.

Li, Y., X. Chen, F. Lin, Q. Chen, X. Ma, H. Liu. 2017. CqToll participates in antiviral response against white spot syndrome virus via induction of anti-lipopolysaccharide factor in red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Developmental & Comparative Immunology 74, 217-226.

Lika, K., S.A.L.M. Kooijman. 2003. Life History Implications of Allocation to Growth Versus Reproduction in Dynamic Energy Budgets. Bulletin of Mathematical Biology 65, 809-834.

Lin, H.J., Q. Shen, L.P. Zhang, C.Q. Hu, L.Q. Liang. 2010. A diallel analysis on growth traits in shrimp *Litopenaeus vannamei*. Journal of Tropical Oceanography 6, 51-56.

Lin, F.Y., Y. Gao, H. Wang, Q.X. Zhang, C.L. Zeng, H.P. Liu. 2016. Identification of an anti-lipopolysacchride factor possessing both antiviral and antibacterial activity from the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Fish Shellfish Immunol. 57, 213-221.

Little, D.C., G. Hulata. 2000. Strategies for tilapia seed production. En: Beveridge MCM, Mcandrew BJ (Eds) Tilapia: biology and exploitation. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.

Liu, Y., C. Chang, J. Hseu, K. Liu, J. Tsai. 2013. Immune responses of prophenoloxidase and cytosolic manganese superoxide dismutase in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* against a virus and bacterium. Molecular Immunology 56, 72-80.

Liu, B., R. Jia, K. Zhao, G. Wang, J. Lei, B. Huang. 2017. Stocking density effects on growth and stress response of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared in land-based recirculating aquaculture system. Acta Oceanologica Sinica 36(10), 31-38.

Long, L., H. Zhang, Q. Ni, H. Liu, F. Wu, X. Wang. 2019. Effects of stocking density on growth, stress, and immune responses of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser*

sinensis) in a recirculating aquaculture system. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 219, 25-34.

Longshaw, M. 2011. Diseases of crayfish: A review. Journal of Invertebrate Pathology 106, 54-70.

Lopéz-Lopéz, S., H. Nolasco, F. Vega-Villasante. 2003. Characterization of digestive gland-esterase-lipase activity of juveniles redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Comp. Biochem. And Physiol. Part B 135, 337-347.

Lopéz-Lopéz, S., H. Nolasco, H. Villarreal-Colmenares, R. Civera-Cerecedo. 2005. Digestive enzyme response to supplemental ingredients in practical diets for juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture Nutrition 11(2), 79-85.

Lopéz-Simeón, R., P. Negrete-Redondo, J. Romero-Jarero. 2007. Comprobación in vivo de la capacidad antibacterial de Oedogonium capillare contra Vibrio fluvialis en pez Dorado *Carassius auratus*. Veterinaria México 38(4), 439-454.

Lu, X., S. Luan, K. Luo, X. Meng, W. Li, J. Sui, B. Cao, J. Kong. 2015. Genetic analysis of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): heterosis and heritability for harvest body weight. Aquaculture Research 47(11), 3365-3375.

Lu, X., S. Luan, B. Cao, J. Sui, P. Dai, X. Meng, K. Luo, J. Kong. 2017. Heterosis and heritability estimates for the survival of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under the commercial scale ponds. Acta Oceanologica Sinica 36(2), 62-68.

Luan, S., J. Kong, Q.Y. Wang. 2006. Genetic variation in wild and cultured populations of the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus* (Bate 1888) using microsatellites. Aquac. Res. 37, 785-792.

Luo G., Q. Gao, C. Wang, W. Liu, D. Sun, L. Li. 2014. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. Aquaculture 422, 1–7.

Lupatsch, I., G.A. Santos, J.W. Schrama, J.A.J. Verreth. 2010. Effect of stocking density and feeding level on energy expenditure and stress responsiveness in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture 298, 245-250.

M´balaka, M., D. Kassam, B. Rusuwa. 2012. The effect of stocking density on the growth and survival of improved and unimproved strains of *Oreochromis shiranus*. The Egyptian Journal of Aquatic Research 38(3), 205-211.

Mantelatto, F.L., A. Fransozo. 1997. A fecundity of the crab *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Decapoda, Brachyura, Portunidae) from the Ubatuba region. Sao Paulo, Brazil. Crusteaceana 70(2), 214-226.

Masser, M.P., D.B. Rouse. 1997. Australian red claw crayfish. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC 244 p.

Macbeth, M., M. Kenway, M. Salmon, J. Benzie, W. Knibb, K. Wilson. 2007. Heritability of reproductive traits and genetic correlations with growth in the black tiger prawn *Penaeus monodon* reared in tanks. Aquaculture 270(1-4), 51-56.

Mason, J.C. 1977. Reproductive efficiency of *Pacifastacus leniusculus* in culture. Freshwater Crayfish 3, 101-117.

McGaw, I.J. 2007. The interactive effects of exercise and feeding on oxygen uptake, activity levels, and gastric processing in the graceful crab, Cancer gracilis. Physiol Biochem Zool 80, 335–343.

McMahon, B.R. 2001. Respiratory and circulatory compensation to hypoxia in crustaceans. Resp Physiol 128, 349–364.

McPhee, C.P., C.M. Jones. 1997. Selection for weight gain in redclaw crayfish. Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet. 12, 81-84.

McPhee, C.P., C.M. Jones, S.A. Shanks. 2004. Selection for increased weight at nine months in Redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). Aquaculture 237, 131-140.

Meade, M.E., J.E. Doeller, D.W. Kraus, S.A. Watts. 2002. Effects of Temperature and Salinity on Weight Gain, Oxygen Consumption Rate, and Growth Efficiency in

Juvenile Red-Claw Crayfish *Cherax quadricarinatus*. Journal of the World Aquaculture Society 33(2), 188-198.

Mendoza-Alfaro, R.E., G.A. Rodríguez-Almaraz, S.A. Castillo-Alvarado. 2011. Riesgo de dispersión y posibles impactos de los acociles australianos del género *Cherax* en México. Universidad Autónoma de Nuevo León, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, 140 p.

Metts L.S., K. Thompson, Y. Xiong, B. Kong, C.D. Webster, Y. Brady. 2007. Use alfalfa hay, compared to feeding practical diets containing two protein levels on growth, survival, body composition and processing traits of australian red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, grown in ponds. Journal of the World Aquaculture Society 38, 218-230.

Monge-Quevedo, A. 2013. Potencial reproductivo y el estado fisiológico de *Cherax quadricarinatus* en ambiente con cero recambio de agua. (Tesis de maestría). Instituto Tecnológico de Sonora. Cd. Obregón, Sonora, México.

Mora-Castrejón, G. 2019. Caracterización del desarrollo de un pie de cría de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* con elevada variabilidad genética. (Tesis maestría) Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Baja California Sur, México.

Moss, S.M., R.W. Doyle. 2005. Breeding shrimp for disease resistance: Challenges and opportunities for improvement. In P. Walker, R. Lester and M.G. Bondad-Reantaso (eds). Diseases in Asian Aquaculture V, pp. 379-393. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila.

Moss, D.R., S.M. Arce, C.A. Otoshi, R.W. Doyle, S.M. Moss. 2007. Effects of inbreeding on survival and growth of Pacific white shrimp *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*. Aquaculture 272(1), S30-S37.

Naranjo-Paramo, J. 2009. Optimización del cultivo de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*, mediante el ajuste de los niveles de recambio de agua, aireación y alimentación. Doctorado en Ciencias Marinas Tesis, Instituto Politécnico

Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B.C.S., México. 141 p.

Naranjo, J., H. Villarreal, J. Cortés. 2000. Efecto del nivel de aireación en el desarrollo de *Cherax quadricarinatus*, en estanques recubiertos con plásticos. En: Villarreal, C., Cortés E. y J. Naranjo (Eds.). Evaluación del potencial de bi-cultivo agrícola/acuícola como una estrategia de eficiencia productiva, fase 1: optimización del cultivo intensivo de la langosta de agua dulce australiana *Cherax quadricarinatus*. Informe parcial. Red Mexicana de Acuacultura. CIBNOR. La Paz, B.C.S. México, pp. 114-130.

Naranjo-Páramo, J., A. Hernández-Llamas, H. Villarreal. 2004. Effect of stocking density on growth, survival and yield of juvenile redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) in gravel-lined commercial nursery ponds. Aquaculture 242, 197-206.

Naranjo-Páramo, J., A. Hernández-Llamas, M. Vargas-Mendieta, L. Mercier, H. Villarreall. 2018. Dynamics of commercial size interval populations of female redclaw Crayfish (*Cherax quadricarinatus*) reared in gravel-lined ponds: A stochastic approach. Aquaculture 484, 82-89.

Nguenga, D., G.G. Teugels, F. Ollevier. 2000. Fertilization, hatching, survival and growth rates in reciprocal crosses of two strains of an African catfish *Heterobranchus longifilis* Valenciennes 1840 under controlled hatchery conditions. Aquaculture Research 31, 565-573.

Nguyen, N.H. 2015. Genetic improvement for important farmed aquaculture species with a reference to carp, tilapia and prawns in Asia: achievements, lessons and challenges. Fish and Fisheries 17(2), 483-506.

Nielsen, H.M., J. Odegard, I. Olesen, B. Gjerde, L. Ardo, G. Jeney, Z, Jeney. 2010. Genetic analysis of common carp (*Cyprinus carpio*) strains: I: Genetic parameters and heterosis for growth traits and survival. Aquaculture 304(1-4), 14-21.

Ninh, N.H., T.P. Ngo, W. Knibb, N.H. Nguyen. 2014. Selection for enhanced growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in brackish water (15-20 ppt) in Vietnam. Aquaculture 428-429, 1-6.

Norman, H.D., J.R. Wright, S.M. Hubbard, R.H. Miller, J.L. Hutchison. 2009. Reproductive status of Holstein and Jersey cows in the United States. J. Dairy Sci. 92, 3517-3528.

Nuñez-Amao, L., H. Villarreal, J. Naranjo-Paramo, A. Hernandez-Llamas. 2016. Stochastic analysis of production dynamics of male and female redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) reared under commercial intensive cultivation. Reviews in Aquaculture, 1-12.

Nuñez-Amao, L., H. Villarreal, J. Naranjo-Paramo, A. Hernandez-llamas. 2018. Estimating production costs of preadult redclaw crayfish, Cherax quadricarinatus , reared in a commercial nursery system: A stochastic bioeconomic approach. Journal of the World Aquaculture Society 50(12), 1-14.

Nzohabonayo, E., J. Kang´ombe, D. Kassam. 2017. Effect of hybridisation on fecundity of *Oreochromis karonage* (Trewavas 1941). Egyptian Journal of Aquatic Research 43, 241-244.

Ocampo, L., H. Villarreal, M. Vargas, G. Portillo, F. Magallón. 2001. Effect of dissolved oxygen and temperature on growth, survival and body composition of juvenile *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes). Aquaculture Research 31(2), 167-171.

Ochokwu, I.J., A.H. Bichi, L.U. Onyia. 2016. Intra-specific Hybridization between Two Strains of *Clarias gariepinus* from SouthWest and North Western Nigeria. Nigerian Journal of Fisheries and Aquaculture 4(1), 34-41.

Ødegård, J., P.A. Kettunen, A. Sommer. 2010. Heritability of resistance to viral nervous necrosis in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Aquaculture 300, 59–64.

Omeji, S., R.A. Obande, J. Oyaje. 2013. Intra-specific hybridization of local and exotic *Clarias gariepinus*. International Journal of Modern Biological Research 1, 25-41.

Parnes, S., A. Sagi. 2002. Intensification of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* culture I. Hatchery and nursery system. Aquacultural Engineering 26, 251-262.

Paterson, B.D., M.J. Thorne. 1993. The effect of oxygen tension on the swimmeret rate of *Callianassa australiensis* and *C.arenosa* (Crustacea, Decapoda, Thalassinidea). Mar. Behav. Physiol. 24(1), 15-24.

Pereyra-Morales, M.A., J.L. Sánchez-Salgado, O. Vivancio Rojas, M.C. Agundis Mata. 2017. Respuesta inmune en *Cherax quadricarinatus*: receptores en hemocitos. Mensaje Bioquímico 41, 49-53.

Philip, A.M., M.M. Vijayan. 2015. Stress-Immune-Growth Interactions: Cortisol Modulates Suppressors of Cytokine Signaling and JAK/STAT Pathway in Rainbow Trout Liver. PloS One 10(6), 1-18.

Pinto, G.E., D.B. Rouse. 1996. Growth and survival of the australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* at three densities in Earthen ponds. Journal of the World Aquaculture Society 27, 187-193.

Piwpong, N., J. Chiayvareesajja, S. Chiayvareesajja. 2016. Growth and survival of a diallel cross for five strains of climbing perch (*Anabas testudineus* Bloch, 1792) in Thailand. Agriculture and Natural Resources 50(5), 351-356.

Price, T., D. Schluter. 1991. On the Low Heritability of Life-History Traits. Evolution 45(4), 853-861.

Prymaczok, N.C., D.A. Medesani, E.M. Rodríguez. 2008. Levels of ions and organic metabolites in the adult freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*, exposed to different salinities. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology 41(2), 121-130.

Pujolar, J.M., G.E. Maes, C. Vancoillie, F.A.M. Volckaert. 2005. Growth rate correlates to individual heteroszygosity in the eruropean eel, *Anguilla Anguilla* L. Evolution 59(1), 189-199.

Rahman, M.A., S. Lee, F. Yusoff, S.M. Rafiquzzaman. 2019. Hybridization and its application in aquaculture. Sex Control in Aquaculture, Vol. 1. John Wiley & Sons Ltd.

Reed, D.H., E.H. Lowe, D.A. Briscoe, R. Frankham. 2003. Fitness and adaptation in a novel environment: effect of inbreeding, prior environment, and lineage. Evolution 57(8), 1822-1828.

Reiber, C.L. 1995. Physiological adaptations of crayfish to the hypoxic environment. Am. Zool. 35, 1-11.

Rendon, L., J.L. Balcázar. 2003. Inmunología de camarones: Conceptos básicos y recientes avances. AquaTic 19, 27-33.

Reynolds, J.D. 2002. Growth and Reproduction. In D.M. Holdich. (Ed)., Biology of Freshwater Crayfish (pp. 152-184). Oxford, England: Blackwell Science Ltd.

Ridha, M.T. 2010. Spawning performance and seed production from hybridization between *Oreochromis spilurus* and the GIFT strain of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquaculture Research 41(11), 723-729.

Robinson, W.R., R.H. Peters, J. Zimmermann. 1983. The effects of body size and temperature on metabolic rate of organisms. Canadian Journal of Zoology 61(2).

Rodgers, L.J., P.I. Saoud, D.B. Rouse. 2006. The effects of monosex culture and stocking density on survival, growth and yield of redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) in earthen ponds. Aquaculture 259, 164-168.

Rodicio, M.R., M.C. Mendoza. 2004. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica 22(4), 238-245.

Rodríguez-González, H. 2006. Efecto del nivel de inclusion de proteinas y lipidos en la dieta para reproductoras de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*, en relación a la calidad del huevo y el juvenil. (Tesis de doctorado). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Baja California Sur, México.

Rodríguez-González, H., H. Villarreal, M. García-Ulloa, A. Hernández-Llamas. 2009. Evaluation of practical diets containing different protein levels on gonad development of female redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture Nutrition 15(4), 347-355.

Romero, X., R. Jiménez. 2002. Histopathological survey of diseases and pathogens present in redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Von Martens), cultured in Ecuador. Journal of Fish Diseases 25(11), 653-667.

Rosas, C., A. Sanchéz, E. Díaz, L.A. Soto, G. Gaxiola, R. Brito, R. Báez, R. Pedroza. 1995. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus, P. scmitti, P. duroarum,* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effect of protein level on substrate metabolism. Aquatic Living Resource 8, 161-169.

Sae-Lim, P., A. Kause, H.A. Mulder, I. Olesen. 2016. Selective breeding in aquaculture for future environments under climate change. Paper presented at International Symposium on The Role of Agricultural Biotechnologies in Sustainable Food Systems and Nutrition. At: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), headquarters, Rome, Italy.

Salame, M.J., D.B. Rouse. 2000. Forage-Based Feeding in Commercial Red Claw Ponds in Ecuador. Journal of Applied Aquaculture 10(3), 83-90.

Sánchez-Salgado, J.L., M. Pereyra, O. Vivanco-Rojas, C. Sierra-Castilo, J. Alpuche-Osorno, E. Zenteno, C. Agundis. 2014. Characterization of a lectin from the craysfish Cherax quadricarinatus hemolymph and its effect on hemocytes. Fish Shellfish Immunol. 39, 450-457.

Saoud, I.M., J. Ghanawi, K.R. Thompson, C.D. Webster. 2013. A Review of the Culture and Diseases of Redclaw Crayfish *Cherax quadricarinatus* (Von Martens 1868). Journal of the World Aquaculture Society 44(1), 1-29.

Sarder, M.R.I., K.D. Thompson, D.J. Penman, B.J. McAndrew. 2001. Immune responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) clones: I. Non-specific responses. Developmental and Comparative Immunology 25, 37-46.

Schmidt-Nielsen, K. 1997. Animal Physiology: Adaptation and Environment. Cambridge University Press.

Seidman, E.R., A.L. Lawrence. 1985. Growth, feed digestibility and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* y *P. monodon* growth at different dissolved oxygen levels. Journal World Mariculture Sociality 16, 333-346.

Serrano-Pinto, V.V., C. Vazquez-Boucard, H. Villarreal-Colmenares. 2003. Yolk proteins during ovary and egg development of mature female freshwater crayfish (*Cherax quadricarinatus*). Comp. Biochem. Phys., A134, 33-43.

Serrano-Pinto, V.V. 2004. Vitelogénesis de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868; Decapoda: Parastacidae). Caracterización de las moléculas vitelinas y determinación del lugar de síntesis de la Vitelogenina. (Tesis de doctorado). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, B.C.S., México.

Smallbone, W., C. van Oosterhout, J. Cable. 2016. The effects of inbreeding on disease susceptibility: *Gyrodactylus turnbulli* infection of guppies, *Poecilia reticulata*. Experimental Parasitology 167, 32-37.

Smitherman, R.O., A.A. Khater, N.I. Cassell, R.A. Dunham. 1988. Reproductive performance of three strains of *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 70, 29-37.

Soderhall, I., K. Soderhall. 2002. Immune Reactions En: D.M. Holdich (ed), Biology of Freshwater Crayfish. Blackwell Science. pp. 439-464.

Sokal, R.R., F.J. Rohlf. 1995. Biometry: The Principles and Practices of Statistic in Biological Research. 3rd Ed. W.H. Freeman, New York, 887 pp.

Solis, C.J., A. Santerre, M.I.G. Perez, R.R. Orozc, G. Zaitseva. 2007. A comparative study of phagocytic activity and lymphoproliferative response in five varieties of tilapia *Oreochromis* spp. Journal of Fish Biology, 71, 1541-1545.

Snieszko, S.F. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. Journal of Fish Biology 6(2), 197-208.

Soowannayan, C., M. Phanthura. 2011. Horizontal transmission of white spot syndrome virus (WSSV) between red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) and the giant tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Aquaculture 319 (1-2), 5-10.

Soowannayan, C., G.T. Nguyen, L.N. Pham, M. Phanthura, N. Nakthong. 2015. Australian red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) is susceptible to yellow head virus (YHV) infection and can transmit it to the black tiger shrimp (Penaeus monodon). Aquaculture 445, 63-69.

Soto-Rodríguez, S.A., B. Gómez-Gil, R. Lozano-Olvera, M. Betancourt-Lozano, M.S. Morales-Covarrubias. 2015. "Field and Experimental Evidence of *Vibrio Parahaemolyticus* as the Causative Agent of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease of Cultured Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico". Applied & Environmental Microbiology 81(5), 1689-1699.

Spjøtvoll, E., M.R. Stoline. 1973. "An Extension of the T-Method of Multiple Comparison to Include the Cases with Unequal Sample Sizes,". Journal of the Americal Statistical Association 68, 975–978.

Stevenson, J., J.D. Dean, L. Owens. 2013. Redclaw Selective Breeding Project. Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC). Canberra, Australia. 59 pp.

Stumpf, L., C. Tropea, L.S. López-Greco. 2014. Recovery growth of *Cherax quadricarinatus* juveniles fed on two high-protein diets: Effect of daily feeding following a cyclic feeding period on growth, biochemical composition and activity of digestive enzymes. Aquaculture 433, 404-410.

Sunarma, A., O. Carman, M. Zairin Jr., Alimuddin. 2010. Improving biomass gain using crossbreeding of distinct farmed population of African catfish *Clarias gariepinus*. AACL Bioflux 10(5), 1001-1010.

Tan C.K., L. Owens. Infectivity, transmission and 16S rRNA sequencing of a rickettsia, *Coxiella cheraxi* sp. nov., from the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. Dis Aquat Organ. 41(2), 115-22.

Tave, D. 1995. Selective breeding programmes for medium-sized fish farms. FAO Fisheries Technical Paper. No. 352. Rome. 122 p.

Tave, D. 1999. Inbreeding and brood stock management. Fisheries Technical Paper. No. 392. Rome, FAO. 122 p.

Tave, D., V. Jayaprakas, R.O. Smitherman. 1990. Effects of Intraspecific Hybridization in *Tilapia nilotica* on Survival Under Ambient Winter Temperature in Alabama. Journal of the World Aquaculture Society 21(3), 201-209.

Thanh, N.M., N.G. Nguyen, R.W. Ponzoni, N.T. Vu, A.C. Barnes, P.B. Mather. 2010. Estimates of strain additive and non-additive genetic effects for growth traits in a diallel cross of three strains of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Vietnam. Aquaculture 299, 30-36.

Thompson, K.R., L.A. Muzinic, L.S. Engler, S. Morton, C.D. Webster. 2004. Effects of feeding practical diets containing various protein levels on growth, survival, body composition, and processing traits of Australian red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) and on pond water quality. Aquaculture Research 35(7), 659-668.

Thompson, K.R., L.S. Metts, L.A. Muzinic, S. Dasgupta, C.D. Webster. 2006. Effects of feeding practical diets containing different protein levels, with or without fish meal, on growth, survival, body composition and processing traits of male and female Australian red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) grown in ponds. Aquaculture Nutrition 12(3), 227-238.

Tian, Y., J. Kong, C. Yang. 2006. Comparative growth and viability of hybrids between two populations of Chinese shrimp (*Fennropenaeus chinensis*). Chinese Science Bulletin 51(19), 2369-2374.

Torres-Mendoza, E. 2007. Tasa metabólica estándar y punto crítico de oxígeno de juveniles de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*. (Tesis). Instituto Tecnológico Superior de Cd. Constitución. Cd. Constitución, Baja California Sur.

Trang, T.T., N.H. Hung, N.H. Ninh, W. Knibb, N.H. Nguyen. 2019. Genetic Variation in Disease Resistance Against White Spot Syndrome Virus (WSSV) in *Litopenaeus vannamei*. Front Genet. 10, 264.

Tropea, C., M. Arias, N.S. Calvo, L.S. Lopéz. 2012. Influence of female size on offspring quality of the freshwater crayfish cherax quadricarinatus (Parastacidae: Decapoda). Journal of Crustacean Biology 32(6), 883-890.

Ulaje-Fernández, S.A. 2015. Relación entre respuestas fisiológicas, contenido bioquímico y expresión del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) ante cambios agudos y crónicos de hipertermia e hipoxia. Maestría en el Uso, Manejo, y Preservación de los Recursos Naturales Tesis, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, B.C.S., México. 126 p.

Valencia-Valdez, R. 2012. Estimaciones temporales de variabilidad genética a partir de microsatélites en *Cherax quadricarinatus* cultivado en el Noroeste de México (Tesis Doctoral). Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional, Sinaloa, México.

Valente, L.M.P., K.A. Moutou, L.E.C. Conceicao, S. Engrola, J,M.O. Fernandes, I.A. Johnston. 2013. What determines growth potential and juvenile quality of farmed fish species?. Reviews in Aquaculture 5(1), S168-S193.

Valeta, J.S., J.S. Likongwe, D. Kassam, A.O. Maluwa. 2013. Temperature-dependent egg development rates, hatchability and fry survival rate of Lake Malawi Tilapia (Chambo), *Oreochromis karongae* (Pisces: *Cichlidae*). International Journal of Fisheries and Aquaculture 5(4), 55-59.

Vatsos, I.N., P. Angelidis. 2010. Water quality and fish diseases. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 61(1), 40-48.

Vázquez, L., C. Sierra, S. Juárez, C. Agundis, A. Zavala, E. Zenteno. 1998. Mecanismos de inmunidad en crustáceos. Interciencia 23(6), 344-348.

Vázquez, L., J. Alpuche, G. Maldonado, C. Agundis, A. Pereyra-Morales, E. Zenteno. 2009. Review: Immunity mechanisms in crustaceans. Innate Immunity 15, 179-188.

Vehvilainen, H., A. Kause, H. Koskinen, T. Paananen. 2010. Genetic architecture of rainbow trout survival from egg to adult. Genetics Research 92(1), 1-11.

Villarreal, H. 1989. Feeding, growth and energetic of freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Smith) special emphasis on its potential for commercial culture. (Tesis de doctorado), University of Queensland. 249 p.

Villarreal, H. 1998. Evaluación del potencial de cultivo de la langosta de agua dulce *Cherax tenuimanus* en función de su eficiencia bioenergética. Avances en Nutricion Acuicola III, 65-80.

Villarreal, H. 2000. El cultivo de la langosta de agua dulce. Una oportunidad para la diversificación acuícola. In: Bonilla, Z., Burciaga, I. (Eds.), Memorias del III Simposium Internacional de Acuacultura. Culiacán, Sinaloa, México, pp. 110-135.

Villarreal, H. 2002. Avances en la nutricion de *Cherax quadricarinatus*. In: Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.G. Gaxiola-Cortés, N. Simoes. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.

Villarreal, H., L. Ocampo. 1993. Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis* (Holmes, 1900). Comp. Biochem. Physiol. 106A, 197-101.

Villarreal, H., J. Peláez. 1999. Biología y cultivo de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*. Manual de Producción. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste y Acuacultivos. Santo Domingo, La Paz Baja California Sur, México. 250 p.

Villarreal, H., A. Hernández-Llamas, R. Hewitt. 2003. Effect of salinity on growth, survival and oxygen consumption of juvenile brown shrimp, *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes). Aquaculture Research 34(2), 187-193.

Villarreal, H., M. Hendrickx, M. García-Guerreo. 2003. Description of the embryonic development of *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868)(Decapoda, Parastacidae), based on the staging method. Crustaceana 76(3), 269-280.

Villarreal H., J. Naranjo. 2006. Cultivo de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* "Redclaw" una oportunidad para la diversificación de la industria acuícola. Industria Acuícola 2, 28-33.

Villarreal, H., J. Naranjo. 2008. Cultivo de langosta de agua dulce Cherax quadricarinatus (Redclaw): Una oportunidad para la diversificación de la industria. La Paz, B.C.S.: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. Programa de Acuicultura.

Vinatea, L., W. Muedas, R. Arantes. 2011. The impact of oxygen consumption by the shrimp *Litopenaeus vannamei* according to body weight, temperature, salinity and stocking density on pond aeration: a simulation. Maringá 33(2), 125-132.

Wang, Q., Q. Li, L. Kong, R. Yu. 2012. Response to Selection for Fast Growth in the Second Generation of Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). J. Ocean. Univ. China 11(3), 413-418.

Wang, Y., B.J. Wang, M. Liu, K.Y. Jiang, M.Q. Wang, L. Wang. 2020. First identification of a C-type lectin gene (CqCTL) in *Cherax quadricarinatus*: sequence features and expression profiles. Invertebrate Survival Journal 17(1), 108-116.

WBRZ. 2020. Crawfish price index. Recuperado de https://www.wbrz.com/crawfish-price-index/

Webster, C.D., K.R. Thompson, L.A. Muzinic, D.H. Yancey, S. Dasgupta, Y.L. Xiong, D.B. Rouse, L. Manomaitis. 2004. A Preliminary Assessment of Growth, Survival, Yield, and Economic Return of Australian Red Claw Crayfish, *Cherax quadricarinatus*, Stocked at Three Densities in Earthen Ponds in a Cool, Temperate Climate. Journal of Applied Aquaculture 15(3-4), 37-50.

Weeks, S.C., B.R. Crosser, R. Bennett, M. Gray, N. Zucker. 2007. Maintenance of androdioecy in the freshwater shrimp, *Eulimnadia texana*: estimates of inbreeding depression in two populations. International Journal of Organic Evolution 54(3), 878-887.

Wickins, J.F. 1976. Prawn Biology and Culture. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 14, 435-507.

Wiegertjes, G.F., R.J. Stet, W.B. van Muiswinkel. 1995. Investigations into the ubiquitous nature of high or low immune responsiveness after divergent selection for antibody production in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Vet. Immunol. Immunopathol. 48(3-4), 355-66.

Wouters, R., L. Gomez, P. Lavens, J. Calderon. 1999. Feeding enriched Artemia biomass to *Penaeus vannamei* broodstock: Its effect on reproductive performance and larval quality. Journal of Shellfish Research 18(2), 651-656.

Xiang, B. 2016. Across China: The rise of China's crayfish capital. XinhuaNet. Retrieved from http://www.xinhuanet.com/english/2016-07/02/c_135483779.htm

Xu, X.L., W.J. Ji, J.D. Castell, R.K. O´dor. 1994. Influence of dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of Chinese prawn (*Penaeus chinensis*) broodstock. Aquaculture 119(4), 359-370.

Xu, L., T. Wang, F. Li, F. Yang. 2016. Isolation and preliminary characterization of a new pathogenic iridovirus from redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Diseases of Aquatic Organisms, 120(1), 17-26.

Yáñez, J.M., R. Bangera, J.P. Lhorente, A. Barría, M. Oyarzún, R. Neira, S. Newman. 2016. Negative genetic correlation between resistance against *Piscirickettsia salmonis* and harvest weight in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture 459, 8-13.

Yeh, H.S., D.B. Rouse. 1995. Effects of Water Temperature, Density, and Sex Ratio on the Spawning Rate of Red Claw Crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Journal of the World Aquaculture Society 26(2), 160-164.

Zhang, J., Q. Li, C. Xu, Z. Han. 2019. Response to selection for growth in three selected strains of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Aquaculture 530, 34-39.

Zheng, H., G. Zhang, X. Guo, X. Liu. 2006. Heterosis between two stocks of the bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819). Journal of Shellfish Research 25(3), 807-812.