



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: “SELECCIÓN DE FAMILIAS F1 DE TRUCHA ARCO IRIS,
COMO BASE DEL PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA ASISTIDO
CON MARCADORES MOLECULARES, EN EL CENTRO DE
INVESTIGACIONES ACUÍCOLAS DE PAPALLACTA – MINISTERIO DE
ACUICULTURA”.**

AUTOR: VALDIVIESO PINZÓN, PAOLA ESTEFANÍA

DIRECTOR: DR. RUEDA ORTIZ, DARWIN ARTURO

SANGOLQUÍ

2018



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, *“SELECCIÓN DE FAMILIAS F1 DE TRUCHA ARCO IRIS, COMO BASE DEL PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA ASISTIDO CON MARCADORES MOLECULARES, EN EL CENTRO DE INVESTIGACIONES ACUÍCOLAS DE PAPALLACTA – MINISTERIO DE ACUICULTURA”* fue realizado por la señorita *Valdivieso Pinzón, Paola Estefanía* el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 06 de Agosto del 2018

Dr. Darwin Arturo Rueda Ortiz

C.I: 040068872-7



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Valdivieso Pinzón, Paola Estefanía*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *“Selección de Familias F1 De Trucha Arco Iris, como base del Programa de Mejora Genética asistido con marcadores moleculares, en el Centro De Investigaciones Acuícolas de Papallacta – Ministerio de Acuicultura”* es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 06 de Agosto del 2018

Paola Valdivieso

Valdivieso Pinzón Paola Estefanía

C.I: 172294794-0



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

AUTORIZACIÓN

Yo, *Valdivieso Pinzón, Paola Estefanía* autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: *“Selección de Familias F1 De Trucha Arco Iris, como base del Programa de Mejora Genética asistido con marcadores moleculares, en el Centro De Investigaciones Acuícolas de Papallacta – Ministerio de Acuicultura”* en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 06 de Agosto del 2018

Paola Valdivieso

.....
Valdivieso Pinzón Paola Estefanía

C.I: 172294794-0

DEDICATORIA

A mi padre, Luis Alfonso, quien con su gran amor, dedicación y apoyo incondicional ha sabido guiarme y aconsejarme en cada paso de mi vida.

A mi hermano, Christian Alexander, quien a más de ser mí guía y ejemplo a seguir me ha brindado su apoyo e impulso necesario para cumplir mis metas.

A mi madre, Emérita Felicita, quien aunque ya no esté conmigo sé que se sentirá muy orgullosa de la mujer en la que me he convertido.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Darwin Rueda y al Dr. Juan Ortiz, les agradezco por todos los conocimientos impartidos, por no dudar de mis capacidades y por la confianza que depositaron en mí al brindarme la oportunidad de formar parte de este valioso proyecto.

Al Ing. Alejandro De la Roche, gracias por recibirme con las puertas abiertas en el Centro de Investigaciones Acuícolas – CENIAC y por brindarme su apoyo y conocimientos claves para la ejecución de la presente investigación.

Al Dr. José Gallardo, gracias por la orientación oportuna en puntos clave para la exitosa ejecución del proyecto de mejora genética.

Al grupo de mejora genética, conformado por los ingenieros Gustavo Naranjo y Margarita Rivera y los tesistas Silvana Morales y José Tusa, agradezco tanto por su compromiso y responsabilidad con el proyecto y por siempre haber buscado la forma de salir adelante pese a las dificultades.

A mi familia, ustedes son mi motor, realmente gracias por estar conmigo cuando más los necesité, sin duda son lo más valioso que poseo y siempre buscaré la forma de hacerlos sentir orgullosos de mí.

A mis amigos, por compartir conmigo tantas aventuras que jamás olvidaré, gracias por cada consejo, por siempre estar ahí y por cada gesto de cariño sincero.

Paola Estefanía

ÍNDICE DE CONTENIDO

CARÁTULA

CERTIFICACIÓN	i
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	ii
AUTORIZACIÓN.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT	xvii

CAPÍTULO I

PROBLEMA

1.1	Antecedentes.....	1
1.2	Justificación	3
1.3	Planteamientos del problema	4
1.3.1	Los Efectos	4
1.3.2	Las Causas	5
1.4	Objetivos.....	5
1.4.1	Objetivo general.....	5
1.4.2	Objetivos específicos	5
1.5	Hipótesis	5

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1	Trucha Arco Iris.....	7
2.1.1	Origen y distribución	7
2.1.2	Morfología	7
2.1.3	Clasificación taxonómica.....	9
2.1.4	Hábitat y comportamiento	9
2.1.5	Alimentación.....	10
2.1.6	Parámetros físico – químicos del agua para el cultivo de Trucha Arco Iris	10
2.1.7	Biología de reproducción de Trucha Arco Iris	11
2.1.7.1	Diferenciación sexual	12
2.1.7.2	Desove	12
2.1.7.3	Fecundación artificial	13
2.1.7.4	Incubación.....	13
2.1.7.5	Eclosión del huevo.....	15
2.1.7.6	Alevinaje.....	15
2.2	Cultivo de Trucha Arco Iris en Ecuador.....	16
2.3	Programas de mejoramiento genético en peces	17
2.3.1	Evaluación de la condición genética de reproductores.....	19
2.3.1.1	Uso de marcadores moleculares para estimar variabilidad genética	22
2.3.1.1.1	SSR	24
2.3.1.2	Índices para estimar variabilidad genética.....	25
2.3.2	Estrategias de mejoramiento genético en peces.....	26
2.3.2.1	Selección.....	26
2.3.2.1.1	Selección masal.....	28
2.3.2.1.2	Selección familiar	29
2.3.2.2	Cruzamientos	31

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Lugar de investigación.....	33
3.2	Determinación de la variabilidad - Fase de Laboratorio.....	35
3.2.1	Cálculo del tamaño de muestra.....	35
3.2.2	Extracción de ADN genómico.....	36
3.2.3	Genotipaje.....	40
3.2.3.1	Selección de microsatélites.....	41
3.2.3.2	Ensayo de PCR.....	42
3.2.3.2.1	Materiales y Equipos.....	42
3.2.3.2.2	Reactivos.....	42
3.2.3.2.3	Procedimiento.....	42
3.2.3.3	Análisis de los productos PCR.....	44
3.3	Selección de reproductores de Trucha Arco Iris y sistemas de cruzamiento.....	45
3.3.1	Número de familias.....	45
3.3.2	Selección e identificación de parentales.....	45
3.3.2.1	Índice de condición corporal (ICC).....	46
3.3.2.2	Estadio de madurez sexual.....	47
3.3.2.3	Identificación de reproductores.....	48
3.3.3	Desove y fecundación artificial.....	48
3.3.4	Incubación.....	50
3.3.5	Seguimiento de la eclosión y desarrollo de alevines.....	51
3.3.6	Raciones alimenticias para alevinaje.....	52
3.3.7	Alevinaje.....	52
3.4	Análisis de datos.....	55
3.4.1	Determinación de la variabilidad genética (Fase de laboratorio).....	55
3.4.1.1	Número de alelos.....	55
3.4.1.2	Frecuencias alélicas.....	55

3.4.1.3	Heterocigosidad	55
3.4.1.4	Contenido de Información Polimórfica	56
3.4.1.5	Equilibrio Hardy-Weimberg	56
3.4.2	Selección de familias F1 de Trucha Arco Iris (Fase de campo)	56
3.4.2.1	Peso y longitud.....	57
3.4.2.2	Índice de condición corporal o índice de Fulton K.....	57
3.4.2.3	Tasa de crecimiento específico	57
3.4.2.4	Tasa de mortalidad.....	57
3.4.2.5	Tasa de malformaciones	58

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Determinación de la variabilidad genética – Fase de laboratorio.....	59
4.1.1	Extracción y evaluación de ADN	59
4.1.2	Validación de primers y PCR	60
4.1.3	Genotipaje.....	61
4.1.3.1	Frecuencias alélicas	62
4.1.3.2	Variabilidad genética	63
4.2	Selección de reproductores de Trucha Arco Iris y sistemas de cruzamiento.....	66
4.2.1	Selección de reproductores y sistemas de cruzamientos	66
4.2.2	Registro de datos de las familias F1 de Trucha Arco Iris.....	72
4.2.3	Selección de familias F1 de Trucha Arco Iris.....	72
4.2.3.1	Análisis de los parámetros morfométricos y productivos.....	72
4.2.3.1.1	Peso.....	73
4.2.3.1.2	Longitud.....	76
4.2.3.1.3	Índice de condición corporal (ICC)	79
4.2.3.1.4	Tasa de crecimiento específico (TCE).....	81
4.2.3.1.5	Tasa de malformaciones	83
4.2.3.1.6	Tasa de mortalidad.....	85

4.2.3.2	Análisis estadístico para la selección de familias F1 de Trucha Arco Iris	86
4.2.3.2.1	Índice de condición corporal.....	87
4.2.3.2.2	Peso.....	89
4.2.3.2.3	Longitud.....	91

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1	Conclusiones.....	94
5.2	Recomendaciones	95
5.3	Bibliografía	96

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Parámetros físico-químicos de agua para el cultivo de Trucha Arco Iris</i>	11
Tabla 2	<i>Diferenciación sexual en Trucha Arco Iris</i>	12
Tabla 3	<i>Duración de la incubación según la temperatura media del agua</i>	14
Tabla 4	<i>Principales diferencias entre marcadores moleculares tipo microsatélites y SNPs</i>	23
Tabla 5	<i>Índices de heredabilidad de la ganancia de peso en diferentes especies de peces comerciales</i>	27
Tabla 6	<i>Posibles sistemas de cruzamiento con sus respectivos resultados</i>	32
Tabla 7	<i>Detalles de los marcadores tipo microsatélites empleados para la identificación de la variabilidad genética en Trucha Arco Iris.</i>	41
Tabla 8	<i>Concentraciones por reacción usados para la PCR de los microsatélites seleccionados</i>	43
Tabla 9	<i>Condiciones para la amplificación por PCR de los microsatélites seleccionados.</i>	43
Tabla 10	<i>Parámetros de variabilidad genética para la población de reproductores de Trucha Arco Iris</i>	63
Tabla 11	<i>Medidas de dispersión para el ICC de los reproductores de Trucha Arco Iris</i>	66
Tabla 12	<i>Estándares del ICC para Trucha Arco Iris</i>	67
Tabla 13	<i>Respuesta a la aplicación de hormona GnRH para la sincronización de desoves en hembras de Trucha Arco Iris</i>	67
Tabla 14	<i>Sistemas de cruzamientos para la obtención de familias.</i>	69
Tabla 15	<i>Variables de tipo cualitativo y cuantitativo tomadas durante toda la ejecución del programa de mejoramiento genético en Trucha Arco Iris</i>	72

Tabla 16 <i>Media \pm desviación estándar del peso a los 0, 20, 50, 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días de las familias de Trucha Arco Iris.....</i>	73
Tabla 17 <i>Peso promedio esperado y real de las Familias de Trucha Arco Iris durante la fase de alevinaje</i>	74
Tabla 18 <i>Media \pm desviación estándar de la longitud tomada a los 0, 20, 50, 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris</i>	76
Tabla 19 <i>Longitudes promedio esperadas y reales de las Familias de Trucha Arco Iris durante la fase de alevinaje</i>	77
Tabla 20 <i>Media \pm desviación estándar del ICC calculado a los 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris</i>	79
Tabla 21 <i>Media \pm error estándar del calculado TCE del día 120 al 130, del 140 al 150 y del 170 al 180 de las familias F1 de Trucha Arco Iris</i>	81
Tabla 22 <i>Tasa de Crecimiento Específico promedio esperado y real de las Familias de Trucha Arco Iris durante la fase de alevinaje.....</i>	82
Tabla 23 <i>Análisis de la varianza multivariada para el Índice de Condición Corporal a los 120, 150 y 180 de las familias F1 de Trucha Arco Iris bajo el efecto de 4 conglomerados (Análisis Cluster).....</i>	88
Tabla 24 <i>Análisis de la varianza multivariada para el peso a los 120, 150 y 180 de las familias F1 de Trucha Arco Iris días bajo el efecto de 4 conglomerados (Análisis Cluster).....</i>	90
Tabla 25 <i>Análisis de la varianza multivariada para la longitud a los 120, 150 y 180 de las familias F1 de Trucha Arco Iris días bajo el efecto de 4 conglomerados (Análisis Cluster).....</i>	91
Tabla 26 <i>Selección inter-familiar de Trucha Arco Iris durante la fase de alevinaje.....</i>	92

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1</i> Esquema de un programa de selección masal.....	29
<i>Figura 2</i> Esquema de un programa de selección familiar	30
<i>Figura 3</i> Laboratorio de Biotecnología, IASA 1	33
<i>Figura 4</i> Proyecto Acuícola Pailones, IASA 1	34
<i>Figura 5</i> Centro de Investigaciones Acuícolas - CENAC, Papallacta	34
<i>Figura 6</i> Selección al azar de reproductores de Trucha Arco Iris	37
<i>Figura 7</i> Toma de muestras de la aleta dorsal de reproductores de Trucha Arco Iris	37
<i>Figura 8</i> Toma de parámetros morfométricos para el cálculo del Índice de Condición Corporal	46
<i>Figura 9</i> Inyección de GnRH a reproductores de Trucha Arco Iris	47
<i>Figura 10</i> Identificación de reproductores de Trucha Arco Iris	48
<i>Figura 11</i> Extracción artificial de gametos femeninos y masculinos.....	49
<i>Figura 12</i> Fecundación artificial	50
<i>Figura 13</i> Incubadoras de flujo vertical.....	50
<i>Figura 14</i> Desarrollo embrionario "punto de ojo".....	51
<i>Figura 15</i> Tinas para la eclosión y alevinaje de las Familias F1 de Trucha Arco Iris	51
<i>Figura 16</i> Eclosión de Familias F1 de Trucha Arco Iris	52
<i>Figura 17</i> Transporte y aclimatización de Familias F1 de Trucha Arco Iris en el Núcleo Pailones.....	54
<i>Figura 18</i> Familias F1 de Trucha Arco Iris en las instalaciones del Núcleo Pailones y en el Núcleo Papallacta	54

Figura 19 Electroforesis en agarosa 1% de muestras con ADN genómico extraído a partir de muestras de aleta caudal.....	59
Figura 20 Electroforesis en agarosa 1,2% de productos de PCR con el marcador ITS a partir de DNA genómico.....	60
Figura 21 Electroforesis horizontal al 1.2% para ensayos PCR (Marcador: OmyRGT8TUF, ESPE-NCBI 42815192 y PuPuPy).....	60
Figura 22 Electroforesis vertical en geles de poliacrilamida 6% para validar los microsátélites ESPE-NCBI 42815192, Pupupy y OmyRGT8TUF.....	61
Figura 23 Frecuencia de alelos para los Microsátélites ESPE-NCBI 42815192, OmyRGT8TUF y PuPuPy	62
Figura 24 Curvas de crecimiento para el peso promedio real y esperado de las familias F1 de Trucha Arco Iris	75
Figura 25 Incremento de la longitud promedio real y teórica de las familias F1 de Trucha Arco Iris.....	78
Figura 26 Índice de Condición Corporal de las Familias F1 de Trucha Arco Iris durante la etapa de alevinaje	80
Figura 27 Comparación entre la TCE real y esperada durante la etapa de alevinaje de las Familias de Trucha Arco Iris.....	82
Figura 28 Tasa de malformaciones (%) de las Familias F1 de Trucha Arco Iris.....	83
Figura 29 Alevín de Trucha Arco Iris bicéfalo y con ciclopía.....	84
Figura 30 Alevín con ondulación anormal en la Región Tronco Caudal.....	84
Figura 31 Alevines de Trucha Arco Iris con alteraciones en la espina dorsal, Lordosis	84
Figura 32 Alevines de Trucha Arco Iris con alteraciones en la espina dorsal, Curvatura ascendente región dorso lumbar.....	84
Figura 33 Alevines de Trucha Arco Iris con alteraciones en la espina dorsal, Sifosis	85

Figura 34 Tasa de mortalidad (%) de las Familias F1 de Trucha Arco Iris	86
Figura 35 Dendrograma (Análisis Cluster) a partir de la distancia Euclidea para el Índice de Condición Corporal calculado a los 120, 150 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris	87
Figura 36 Incremento del ICC calculado a los 120, 150 y 180 días de los 4 conglomerados (Análisis Cluster).....	88
Figura 37 Dendrograma (Análisis Cluster) a partir de la distancia Euclidea para el peso a los 120, 150 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris	89
Figura 38 Incremento del peso a los 120, 150 y 180 días de los 4 conglomerados (Análisis Cluster).....	90
Figura 39 Dendrograma (Análisis Cluster) a partir de la distancia Euclidea para la longitud a los 120, 150 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris	91
Figura 40 Incremento de la longitud a los 120, 150 y 180 días de los 4 conglomerados (Análisis Cluster).....	92

RESUMEN

El Centro de Investigaciones Acuícolas CENIAC – Papallacta busca implementar un programa de mejoramiento genético para aumentar la eficiencia de los sistemas productivos, beneficiando directamente a los pequeños y medianos piscicultores de la región andina. El objetivo de este estudio fue evaluar la variabilidad genética de la población actual de reproductores mediante el uso de marcadores microsatélites y seleccionar familias F1 de Trucha Arco Iris con parámetros morfométricos y productivos superiores. En base al número promedio de alelos efectivos por loci (13), a la heterocigosidad esperada (0.877) y al contenido de información polimórfica (0.866) se determinó que la población actual de reproductores del CENIAC tiene variabilidad genética. Se encontraron desviaciones significativas del Equilibrio de Hardy – Weinberg que indicaron una disminución de heterocigotos ($F_{is}=0.051$) debido a altas intensidades de selección. La presencia de variabilidad genética de la población permitió la selección de un grupo de reproductores en base al índice de condición corporal (ICC: 1.01 a 1.45) y al estado óptimo de maduración sexual, estableciéndose 17 grupos de cruzamiento para la obtención de 50 familias F1. Las familias fueron evaluadas mediante registros de genealogía desde la incubación hasta la finalización de la fase de alevinaje (180 días) y se seleccionaron a 18 familias F1 que mostraron valores promedio superiores para el ICC (1.29), peso (12.56 g) y longitud (9.89 cm). En conclusión, la selección de familias debe ser complementada mediante el uso de marcadores de polimorfismo de nucleótidos simples (SNPs) y morfometría digital para el rastreo de características de interés comercial.

PALABRAS CLAVE

- **TRUCHA ARCO IRIS**
- **MEJORAMIENTO GENÉTICO**
- **MARCADORES MOLECULARES**
- **VARIABILIDAD GENÉTICA**
- **SELECCIÓN FAMILIAR**

ABSTRACT

The Center for Aquaculture Research CENIAC - Papallacta seeks to implement a breeding program to increase the efficiency of production systems, directly benefiting small and medium-sized fish farmers in Ecuador. The objective of this study was to evaluate the genetic variability of the breeding population by using microsatellite markers and select F1 families of rainbow trout with superior morphometric and productive parameters. Based on the average number of effective alleles per loci (13), the expected heterozygosity (0.877) and the polymorphic information content (0.866), it was determined that the breeding population of CENIAC has genetic variability. Significant deviations from the Hardy - Weinberg equilibrium were found that indicated a decrease in heterozygotes ($F_{is} = 0.051$), caused by high intensities of selection. The presence of genetic variability of the population allowed the selection of a group of breeders based on the Index Body Condition (ICC: 1.01 to 1.45) and the optimal state of sexual maturation, establishing 17 crossing groups to obtain 50 F1 families. The families were evaluated through genealogy records from incubation until the end of the nursery phase (180 days) and 18 families of rainbow trout were selected that showed higher average values for the ICC (1.29%), weight (12.56). g) and length (9.89 cm). In conclusion, the selection of families should be complemented by the use of simple nucleotide polymorphism markers (SNPs) and digital morphometry for tracing characteristics of commercial interest.

KEYWORDS

- **RAINBOW TROUT**
- **GENETIC IMPROVEMENT**
- **MOLECULAR MARKERS**
- **GENETIC VARIABILITY**
- **FAMILYSELECTION**

CAPÍTULO I

PROBLEMA

1.1 Antecedentes

En las últimas décadas se ha generado una escasez de tierras productivas debido al crecimiento exponencial de la población humana, lo que ha provocado una demanda insatisfecha de alimentos de alta calidad nutricional, obligando al sector agropecuario a intensificar sus sistemas productivos y buscar alternativas factibles para dar respuesta a esta situación (FAO, 2009).

Según la FAO (2017), la acuicultura es una de las ciencias que ha mostrado un rápido crecimiento de contribución a la seguridad alimentaria al ofertar productos de alta calidad proteica, demostrando así ser una de las alternativas viables para abastecer la alta demanda alimenticia.

El sector acuícola ecuatoriano exhibe un crecimiento acelerado en los últimos años, que además de representar una alternativa en la nutrición humana, genera fuentes de trabajo con un incremento a los ingresos en la economía nacional, representando el 7% del Producto Interno Bruto Agropecuario (Monteros & Salvador, 2015).

La Trucha Arco Iris es una de las principales especies introducidas en la sierra ecuatoriana, que económicamente representó 27, 6 millones de USD en el 2015, con una producción de 4 500 Tm (FAO, 2017). La producción nacional de ovas de Trucha Arco Iris entre el 2010 y 2014 fue de 10 millones, mientras que se registró una importación de 45 millones de ovas para el mismo periodo, principalmente traídos de Estados Unidos, España, Francia, Dinamarca, Canadá, Chile y Australia (MAGAP, 2016).

El Centro Nacional de Investigaciones Acuícolas – CENIAC ubicado en Papallacta, provincia del Napo, junto a la Estación Piscícola Arco Iris – EPAI en el Cajas, Azuay, se dedican a la

producción de alevines de Trucha Arco Iris (MAGAP, 2015). Ambas instituciones gubernamentales tienen como propósito impulsar la actividad acuícola dulce de la región andina y generar nuevas fuentes de ingreso, mediante la distribución de alevines de Trucha Arco Iris (MAGAP, 2016).

En el 2014, el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca (MAGAP) a través de la Subsecretaría de Acuicultura desarrolló el proyecto Maricultura y Piscicultura para el fomento acuícola en el Ecuador. A través de este proyecto se buscó mejorar las líneas genéticas de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*), mediante la adquisición de ovas importados de Estados Unidos, Dinamarca y España, con el propósito de evitar la endogamia (reproducción entre individuos de la misma familia) y aumentar la producción de alevines de buena calidad (MAGAP, 2014). Para el mismo año, el MAGAP impulso programas de fomento y asistencia técnica para incrementar la producción de Trucha Arco Iris sobre todo a nivel rural (MAGAP, 2014).

El Centro Nacional de Investigaciones Acuícolas – CENIAC contaba con cuatro líneas de Trucha Arco Iris (nacional, chilena, española y americana) que aseguraban la calidad y la diversidad genética de la población de reproductores y de los alevines distribuidos en la zona andina del Ecuador (De La Roche , 2012). Hace 8 años un fenómeno natural provocó una disminución en el suministro de agua del CENIAC y los técnicos se vieron obligados a mezclar las líneas de Trucha Arco Iris para lograr una alta supervivencia. Con el pasar de los años este fenómeno ha producido consecuencias negativas sobre la calidad genética de los reproductores y producción de alevines. En este sentido, parámetros técnicos relacionados a crecimiento y ciclos de producción en períodos de alevinaje y crecimiento se ven afectados, generando pérdida de

competitividad con alevines importados, poniendo en riesgo los estados sanitarios de la producción local con producto importado (De La Roche , 2012).

La consanguinidad afecta los caracteres productivos en Trucha Arco Iris provocando depresión consanguínea y pérdida de variabilidad genética de la población usada como reproductores. Según Gallego (2010), realizar cruzamientos entre hermanos provoca un incremento en el porcentaje de deformidades y disminución en la tasa de conversión alimenticia y peso. En salmónidos valores de consanguinidad del 25% generan disminución en la tasa de crecimiento (26,2%), la conversión alimenticia (14,6%) y supervivencia (10,3%) (Gjerde & Shaeffer, 1999).

1.2 Justificación

Los sistemas de reproducción implementados en el Centro Nacional de Investigaciones Acuícolas – CENIAC carecen de un manejo eficaz debido a que las líneas de Trucha Arco Iris (nacionales e importadas) no se encuentran separadas e identificadas genéticamente y no existen lotes de apareamiento que permitan registrar el nivel de cruzamiento que muestran los individuos. Esto causa pérdidas en la variabilidad genética de la población y alta consanguinidad con repercusiones sobre los caracteres productivos y reproductivos de interés comercial.

Esta situación afecta directamente a los pequeños y medianos piscicultores del Ecuador ya que los alevines adquiridos en el CENIAC satisfacen parcialmente sus expectativas en términos productivos.

Por tal motivo el Centro de Investigaciones Acuícolas - CENIAC necesita desarrollar un programa de mejoramiento asistido con marcadores moleculares que permita establecer una línea base de reproductores identificados genética y fenotípicamente para intensificar la producción y la calidad de los alevines. Para impulsar la ejecución del proyecto se generó una alianza

estratégica entre la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE – IASA 1, CENIAC y Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

El programa de mejoramiento asistido con marcadores moleculares evaluará la condición genética (variabilidad genética) de la población actual de reproductores y permitirá el establecimiento de una línea base a partir de la obtención y selección de familias F1 de Trucha Arco Iris que presenten características morfológicas y productivas superiores.

1.3 Planteamientos del problema

Los alevines producidos por los centros de investigación acuícola del país no cumplen con las características genético - productivas necesarias para ser competitivos con los alevines importados de diferentes países del mundo. Cabe destacar que en la actualidad no existen programas de mejoramiento genético en Trucha Arco Iris desarrollados e implementados en el país y tampoco existe una línea base específica de reproductores caracterizados fenotípica y molecularmente en el CENIAC – Papallacta.

1.3.1 Los Efectos

- Déficit en la producción nacional y alta importación de ovas de Trucha Arco Iris, , poniendo en riesgo la seguridad sanitaria de las producciones dulce acuícolas de la región andina del Ecuador
- Pérdida de variabilidad genética en poblaciones locales de Truchas Arco Iris
- Consanguinidad evidenciada en altas tasas de deformación y reducidas tasas de crecimiento en alevines de Trucha Arco Iris
- Baja resistencia de las líneas de Trucha Arco Iris a condiciones ambientales distintas

1.3.2 Las Causas

- Ausencia de programas de mejoramiento genético en Trucha Arco Iris a nivel nacional
- Líneas nacionales e importadas sin identificación genética ni morfológica (líneas mezcladas)
- Reproductores de Trucha Arco Iris sometidos a altas intensidades de selección
- Líneas nacionales o importadas desarrolladas en un solo núcleo de producción

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Seleccionar familias F1 de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) como base del programa de mejoramiento genético asistido con marcadores moleculares tipo SSR, en el centro piscícola CENIAC – PAPALLACTA del Ministerio de Acuicultura del Ecuador.

1.4.2 Objetivos específicos

Determinar el nivel de variabilidad genética de la población de reproductores de Trucha Arco Iris del CENIAC - Papallacta con el uso de marcadores moleculares tipo microsatélites (SSR).

Establecer grupos de cruzamiento en base al índice de condición corporal y al estado de madurez sexual de los reproductores de Trucha Arco Iris para la obtención de familias (F1).

Evaluar y seleccionar las familias (F1) de Trucha Arco Iris en base a parámetros morfométricos y productivos superiores durante la etapa de alevinaje.

1.5 Hipótesis

H₀: “El uso de marcadores moleculares tipo microsatélites (SSR) tiene un efecto negativo para la detección de variabilidad genética y la obtención y selección de familias (F1) de Trucha Arco Iris”.

H₁: "El uso de marcadores moleculares tipo microsatélites (SSR) tiene un efecto positivo para la detección de variabilidad genética y la obtención y selección de familias (F1) de trucha Arco Iris".

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Trucha Arco Iris

2.1.1 Origen y distribución

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), es una especie íctica perteneciente a la familia *Salmonidae*, originaria de las cuencas que drenan al Pacífico en América del Norte, desde el sur de Alaska hasta el norte de México. Debido a su fácil adaptación al cautiverio, a finales del siglo XIX, su crianza ha sido ampliamente difundida casi en todo el mundo (Phillips, 2010) con propósitos recreacionales para pesca deportiva y acuicultura. En 1950, con el desarrollo de los alimentos peletizados que cumplían con los requerimientos nutricionales para la especie, su producción entró en un proceso de expansión mundial (FAO, 2016).

Con el pasar de los años y como consecuencia de la expansión del cultivo de Trucha Arco Iris se han desarrollado varias líneas o cepas locales domesticadas y otras han surgido como resultado de la selección y cruzamientos con el fin de mejorar la calidad del producto final (FAO, 2016).

Actualmente la Trucha Arco Iris se encuentra distribuida en todos los países del mundo, excepto en la Antártida. En América del Sur, se encuentra distribuida en Argentina, Brasil, Bolivia Chile, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. Según la FAO (2016), los sistemas de producción más grandes son Europa, Norte América, Chile, Japón y Australia.

2.1.2 Morfología

La denominación de Trucha Arco Iris se debe a la presencia de una franja longitudinal de color rosado hasta el violeta claro que va desde la región cefálica hasta la región caudal que varía

con el hábitat, el tamaño y la condición sexual del animal (FAO, 2016). El dorso posee una tonalidad de azul a verde oliva, los flancos son plateados y el abdomen es claro.

El cuerpo de la Trucha Arco Iris es alargado, fusiforme, con simetría bilateral, comprimido lateralmente y aplanado en el sentido dorso-ventral ideal para la natación (De La Roche , 2012). Posee una complexión aerodinámica que le permite habitar regiones montañosas y elevadas donde hay aguas frías y claras, con cauces que presentan marcados desniveles topografías que originan rápidos, saltos y cascadas (Muñoz & Ortiz , 2008).

Las aletas constituyen los miembros de propulsión, dirección y equilibrio, y están conformados por pliegues de piel sostenida por radios óseos articulados. La piel está lubricada por una sustancia gelatinosa (mucus) que defiende al cuerpo de sustancias tóxicas, impide la fijación e parásitos, facilita la natación al disminuir la resistencia al agua y lo protege de la descamación.

A lo largo de ambos flancos y por debajo de la piel se encuentran unas hileras conocidas como líneas laterales, las mismas que están rellenas de mucus con cuerpos glandulares (neuromásteos), cuyos cilios sensoriales captan los mensajes del exterior mediante vibraciones (presión, salinidad, temperatura, etc).

En cuanto a su crecimiento, la media está en los 51-76 centímetros de longitud y unos 3,6 kilogramos, pero pueden incluso llegar a medir 1,2 metros y pesar hasta 24 kilogramos en condiciones (NatGeo, 2010). En cautiverio pueden alcanzar un tamaño promedio de 40 a 60 cm., con un peso que va desde los 300 a 400 gr., o incluso las hay hasta los 2 kg., con un promedio de vida entre 1 a 5 años.

2.1.3 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de la Trucha Arco Iris se indica a continuación:

Reino:	Animalia
Phylum:	Chordata
Subphylum:	Vertebrata
Superclase:	Pisces
Clase:	Osteichthyes
Subclase:	Actinopterygii
Orden:	Salmoniformes
Familia:	Salmonidae
Género:	Oncorhynchus
Especie:	Oncorhynchus mykiss

Nombre común: Trucha arco iris

Fuente: (Walbaum, 1792)

2.1.4 Hábitat y comportamiento

La trucha Arco Iris es un pez altamente resistente, de crecimiento rápido y tolerante a una amplia gama de ambientes y manipulaciones. Habita de forma natural y permanente en ríos y lagos de aguas frías y limpias con suficiente cantidad de oxígeno disuelto (Muñoz & Ortiz , 2008). Aunque ciertas variedades de trucha poseen vida anádroma (JACUMAR & Secretaría Nacional del Mar, 2015).

Soporta rangos de temperatura que oscilan entre los 0 a los 27°C, pero el desove y crecimiento ocurre entre los 9-14°C (JACUMAR & Secretaría Nacional del Mar, 2015). En condiciones de

cautiverio la temperatura óptima es por debajo de los 21°C. Esta especie tiene un amplio margen de adaptación a diferentes temperaturas y condiciones ambientales, acudiendo con gran avidez a la distribución del alimento” (Muñoz & Ortiz , 2008)

En condiciones naturales, las hembras desovan una vez al año (enero-mayo) y producen hasta 2000 ovas/ kg de peso vivo (FAO, 2016) pero bajo condiciones de cautiverio, las hembras no desovan por sí solas, de modo que los juveniles deben ser obtenidos por desove artificial o por recolección de huevos de poblaciones silvestres.

2.1.5 Alimentación

La trucha arco iris es un pez de hábito carnívoro que subsiste capturando y devorando invertebrados (insectos, moluscos, crustáceos, renacuajos), huevos y peces pequeños. El alimentos más importante son los camarones de agua dulce, que contienen los pigmentos carotenoides responsables del color rosado-naranja en la carne (FAO, 2016).

Bajo condiciones de cautiverio la trucha arco iris es alimentada con balanceado formulado que suple las necesidades nutricionales del individuo de acuerdo a la edad y el peso. Según Orna (2010), el mejor pienso para trucha arco iris es aquel que contiene la mayor cantidad de proteína de origen animal (45-50%), la misma que es aprovechada en su totalidad en comparación a la proteína vegetal.

2.1.6 Parámetros físico – químicos del agua para el cultivo de Trucha Arco Iris

El cultivo de Trucha Arco Iris se desarrolla bajo condiciones de agua específicas que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1*Parámetros físico-químicos de agua para el cultivo de Trucha Arco Iris*

Parámetro	Rango	Óptimo
Temperatura de desove y cultivo	6-12°C / 2-20°C	9 a 12°C / 12 a 16°C
Oxígeno	5,5 – 9 ppm (mgO ₂ /Lt)	8,0 ppp (mg O ₂ /Lt)
Porcentaje de saturación de oxígeno	80-112%	100%
Ph	6,5-9	7,5
Sólidos suspendidos	30-120 mg/Lt	<30 mg/Lt
Dureza CO ₃ CA	<10 mg/Lt	50 mg/Lt
Amonio total	Hasta 2,0 ppm (mg/Lt)	0,08 mg/Lt

Fuente: (FAO, 2016)

2.1.7 Biología de reproducción de Trucha Arco Iris

Bajo sistemas controlados de producción, las truchas no desovan naturalmente y es necesario realizar una extracción artificial de los gametos sexuales para proceder a la reproducción asistida.

El objetivo de un programa de reproducción, desde el punto de vista genético, es generar heterocigosis a partir del cruce de una hembra o macho homocigoto o heterocigoto, mas no endogámico (De La Roche , 2012). Esto se logra al llevar un registro de la línea genética a la cual pertenecen los reproductores. Mientras que desde el punto de vista fenotípico, es necesario tomar en cuenta el registro del crecimiento, la sobrevivencia y el historial de enfermedades a lo largo de todo el periodo de vida del reproductor.

La biología reproductiva de machos y hembras de trucha difiere en algunos aspectos, principalmente en la edad a la cual maduran sus gametos. Aunque las truchas comienzan a desovar a los 2 años de edad, es necesario que tengan de 3 a 4 años para dar inicio al programa de reproducción. Según De La Roche (2012), la edad óptima para reproducción en hembras es a los 3 años (aproximadamente 55 cm) y en machos es a los 2 a 2.5 años (aproximadamente 45), no siendo esta una regla fija, ya que la madurez depende también de factores ambientales. También

se debe considerar que las hembras maduran una sola vez por año y los machos lo hacen varias veces, por lo que se debe realizar un chequeo permanente en campo del estado de madurez de los reproductores (Muñoz & Ortiz , 2008).

La proporción sexual para la reproducción suele ser de un macho por cada tres hembras y antes de los períodos de fresa es necesario mantener a las hembras y a los machos en estanques separados (JACUMAR & Secretaría Nacional del Mar, 2015).

2.1.7.1 Diferenciación sexual

El dimorfismo sexual en la Trucha Arco Iris se evidencia cuando ha entrado en la etapa reproductiva, esto significa que tanto machos como hembras poseen marcadas diferencias morfológicas (Tabla 2).

Tabla 2
Diferenciación sexual en Trucha Arco Iris

Característica	Macho	Hembra
Boca y mandíbula	Grande y Puntiguda	Pequeña y redondeada
Dientes	Agudos	No muy agudos
Musculatura	Dura	Suave
Abdomen	Duro	Blando
Poro genital	No prominente	Prominente
Color	Muy negruzco	Normal
Ancho del Cuerpo	Angosta	Ancha
Forma del cuerpo	Delgada	Redondeada

Fuente: (FAO, 2016)

2.1.7.2 Desove

El desove es una técnica usada para la obtención de gametos sexuales (masculinos y femeninos) de manera artificial mediante masajes abdominales (striping) desde las aletas pélvicas hasta el área ventral o mediante la inyección de aire en su abdomen (García , Ávila , Dominguez , & Ávila, 2014).

El desove puede ser unipersonal o bipersonal, tomando en cuenta que lo primordial debe ser cuidar la integridad del individuo, evitando presionar con excesiva fuerza ya que en la zona ventral se encuentran otros órganos importantes y mucho menos presionar cerca del corazón, caso contrario se corre el riesgo de la muerte del animal (Muñoz & Ortiz , 2008).

2.1.7.3 Fecundación artificial

El método más empleado es la fertilización en seco, sin adición de agua (JACUMAR & Secretaría Nacional del Mar, 2015). Se recomienda mezclar el semen de tres o cuatro machos antes de la fertilización, para reducir la endogamia. A medida que pasa el tiempo, las ovas van perdiendo fecundidad, y después de 5 a 15 minutos las ovas se vuelven infecundas completamente (De La Roche , 2012).

Según De La Roche (2012), se debe colocar 1cc de semen por cada 1500 gr de huevos en recipientes plástico limpio para evitar contaminación. Y después de cinco minutos se realiza un lavado a las ovas, para retirar el resto de semen, ovas muertas y no fecundas. El agua también permite activar a los espermatozoides y causar un aumento de tamaño de los huevos (20%) al llenarse el espacio peri vitelino entre cáscara y yema, este proceso se conoce como 'endurecimiento del huevo' (FAO, 2016).

Después de la fertilización los huevos pueden ser transportados después de 20 minutos y antes de 48 horas, pero luego no se pueden mover hasta la etapa de oculación. La exposición directa a la luz debe ser evitada durante todas las etapas de desarrollo, pues matará los embriones.

2.1.7.4 Incubación

Este proceso consiste en mantener a las ovas fecundadas hasta que se produzca la eclosión de las mismas (García , Ávila , Dominguez , & Ávila, 2014). Se pueden usar bateas de incubación, incubadoras de flujo vertical o jarros de incubación, pero lo más importante es considerar todos

los aspectos críticos que podrían afectar el normal desarrollo de las ovas, como la temperatura del agua, la buena circulación de agua a través de las ovas, ña suficiente cantidad de oxígeno disuelto, oscuridad, evitar movimientos bruscos sobre las ovas (antes de la oculación) y un estricto control de la mortalidad para evitar la proliferación de hongos (*Saprolegnia*) (FAO, 2016).

La confirmación del periodo embrionario se da cuando las ovas llegan a la oculación, momento en el cual se ven los ojos en el interior de la ova a manera de dos puntos negruzcos, en esta etapa las ovas adquieren mayor resistencia contra choques y vibraciones. En esta etapa es recomendable dejar caer las ovas 40 cm (golpe de ovas) para eliminar las débiles y no desarrolladas (FAO, 2016).

La duración del periodo de incubación es inversamente proporcional a la temperatura media del agua (Tabla 3). Y se usa el termino Acumulación de Temperatura que significa la cantidad de temperatura que requiere un ser viviente para su desarrollo en un tiempo determinado (Imaki, 2003).

Tabla 3
Duración de la incubación según la temperatura media del agua

Temperatura °C	Días	Acumulación de temperatura °C (Ovas en estado embrionario)	Días	Acumulación de temperatura °C (Eclósión)
6	30	180	60	360
7	25	175	50	350
8	21	168	42	336
9	18	162	36	324
10	16	160	32	320
11	14	154	28	319
12	13	156	26	312
13	12	156	24	312

Fuente: (Imaki, 2003)

2.1.7.5 Eclosión del huevo

Al término de la incubación se produce la eclosión o rompimiento natural de la membrana del huevo producido por los movimientos del alevín. Alrededor de un 95% de las ovas eclosionan y tiene a la vista aún el saco vitelino, por lo que toman el nombre de larvas con saco (FAO, 2016). La eclosión del lote completo tarde entre 2 a 3 días, durante este tiempo se deben retirar las cascaras de huevos y las larvas muertas o deformes.

Estas larvas aún son muy delicadas, reposan en el fondo y carecen de movimiento, tienen de 14 a 16 mm de longitud total y un peso que varía desde los 0,08 a los 0,12 gramos de peso. El saco o vesícula vitelina posee un alto contenido nutricional, necesario para el crecimiento de los alevines hasta llegar al estado de “libre nadador” (De La Roche , 2012).

2.1.7.6 Alevinaje

Los alevines crecen en relación a la absorción de su saco vitelino (2-4 semanas) y durante este periodo deben mantenerse aun en condiciones de oscuridad, dado que aún no tienen resistencia a la luz (De La Roche , 2012). Cuando el 80% de las larvas con saco han empezado a flotar, pueden ser transportadas a las bandejas o estanques de crianza con bajas profundidades de agua (15-25 cm) (FAO, 2016). Cuando toman la primera bocanada de aire, llenan su vejiga natatoria y se convierten en alevines (primer alevinaje) dado que empiezan a nadar libremente y es necesario alimentarlos en forma inmediata, en pocas cantidades y a altas frecuencias frecuencia (8 -10 veces / día) (Muñoz & Ortiz , 2008).

El segundo alevinaje comprende peces de 0,2 a 1 gramos y los factores que influyen en el crecimiento y desarrollo normal de los alevines son la cantidad y calidad del alimento, temperatura del agua y radiación solar. En esta etapa deben ser trasladados a los estanques externos para que se adapten a condiciones de cultivo externas, con agua de río y luz solar.

2.2 Cultivo de Trucha Arco Iris en Ecuador

La siembra de trucha en Ecuador inició en 1928 mediante un acuerdo entre el gobierno y una empresa canadiense con el objetivo de seleccionar ríos, riachuelos y lagos de la región interandina para el cultivo de dicha especie (Mora, Uyaguari , & Osorio, 2009). En 1992, en la estación piscícola “Arco Iris” del Ministerio de Industrias, Comercio, Integración y Pesca – MICIP se concreta la reproducción artificial de trucha para abastecer de alevines a pequeños y medianos piscicultores (Mora, Uyaguari , & Osorio, 2009).

En 1993, se construyó el Centro de Investigaciones Acuícolas CENIAC gracias a un préstamo financiero no reembolsable del gobierno de Japón, constituyendo para 1998 un soporte significativo para difusión del cultivo de trucha en el país (Muñoz & Ortiz , 2008). Durante 1998, alrededor de siete empresas produjeron 500 Tm, de trucha viva y sus derivados. Y en el 2006, el CENIAC-P realizó el Primer Censo Piscícola de Producción de Trucha en las Zonas: Norte, Centro y Sur de la Región Interandina, mediante visitas, entrevistas y aplicación de cuestionarios a los propietarios y empleados de los criaderos por parte de los técnicos del centro (Muñoz & Ortiz , 2008). Desde el 2008, el CENIAC es una dirección perteneciente al Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca – MAGAP.

Desde los últimos años, el cultivo, procesamiento y comercialización de trucha arcoíris se ha convertido en una alternativa de producción de la acuicultura del país, al diversificar especies, generar fuentes de trabajo e incrementar los ingresos de la economía nacional (Mora, Uyaguari , & Osorio, 2009).

La mayor producción nacional de trucha arco Iris se registró en el 2005 con 9 279 Tm., mientras que para el 2010 la producción disminuyó a 1 930 Tm (MAGAP, 2016). Esta disminución en la producción se debió a que la mayoría de criaderos son pequeños y artesanales

con falta de asistencia técnica, capacitación, líneas de crédito y mercado. Por otra parte, las distancias geográficas entre criaderos son alejadas, con caminos vecinales en mal estado que dificultan las visitas técnicas y otro factor causante de la disminución en la producción es el alto costo del alimento balanceado (MAGAP, 2016).

Para el 2005, gracias a programas de fomento y asistencia técnica la producción de trucha arcoíris se ha incrementado sobre todo a nivel rural, con un total de 4 500 Tm, (2015, última actualización del programa DATASET Global Aquaculture Production 1950-2014 de la FAO) (FAO, 2017).

Según el MAGAP (2016), el registro de importaciones de huevos de trucha arco iris desde 1928 hasta 1969 fue de 1,98 millones de huevos, siendo los principales países de importación Estados Unidos (952204), Chile (285000), Colombia (150000), Perú (100000), Canadá (50000), Argentina (20000) y otros. Entre el 2010 y el 2014 se ha registrado una importación de 45 millones de ovas desde Estados Unidos, España, Francia, Dinamarca, Canadá, Chile y Australia. Mientras que la producción nacional de ovas no supera los 10 millones de huevos /anuales (MAGAP, 2016). Actualmente el 90% de la producción de trucha es destinada al consumo nacional y el restante 10% es exportado a Colombia, Perú y Venezuela (Mora, Uyaguari , & Osorio, 2009).

2.3 Programas de mejoramiento genético en peces

El mejoramiento genético involucra “técnicas y procedimientos de genética que permiten modificar caracteres biológicos (cualitativos o cuantitativos), de importancia económica, para mejorar la eficiencia de los sistemas productivos en la empresa” (Gallardo, 2015).

En acuicultura, la contribución del mejoramiento genético ha sido muy escasa (Gallego , 2010) dado que el suministro de pescado se basa principalmente en la recolección de especies

silvestres. Desde el punto de vista genético, las especies acuáticas, están más cerca de estado silvestre que los animales terrestres y los cultivos de interés comercial, estimaciones recientes muestran que menos del 1% de la producción acuícola total del mundo se basa en stocks genéticamente mejorados (Gjerde & Rye, 1998).

Únicamente se han realizado estudios en sanidad, gestión de piscifactorías y nutrición, más no a la cría de individuos mejorados genéticamente que puedan aprovechar al máximo estas mejoras en beneficio del productor primario. El potencial acuícola debe explotarse a través de programas de mejora genética a largo plazo con el objetivo de desarrollar razas o líneas con características superiores. Según Gallego (2010), al menos el 30% del incremento total de la tasa y la eficiencia de la producción animal es atribuible al mejoramiento genético.

Los caracteres de interés comercial en peces, tales como la tasa de crecimiento, conversión alimenticia, mortalidad, calidad de la canal, fecundidad y tolerancia a otros ambientes, están bajo el control de un elevado número de genes que se distribuyen como caracteres cuantitativos y continuos, producto de la segregación de varios loci (Gallego , 2010).

Desarrollar un programa de mejoramiento genético en especies acuícolas cuenta con algunas ventajas que en especies domésticas no se tiene, por ejemplo:

- La variabilidad genética tiende a ser mayor en animales poiquiloterms (peces) facilitando la implementación de programas de selección y cruzamientos.
- La alta fecundidad en peces permite mayores intensidades de selección.
- En algunas especies el intervalo generacional es mucho menor que en los mamíferos, lo cual permite observar los resultados de la mejora genética en menor tiempo.

Tomando en cuenta las ventajas mencionadas anteriormente, el diseño de un programa de mejoramiento genético parte de la selección de la población base de acuerdo al sistema de producción y comercialización a implementarse. Según Yanez *et al.* (2012), se debe evaluar la condición genética de la población base como prerrequisito para obtener ganancia genética y desarrollar sistemas de mejoramiento genético en especies de importancia regional.

Según Gjerde & Rye (1998), la importancia de considerar la condición genética de la población base al momento de iniciar programas de mejoramiento genético en peces se ha demostrado en experimentos que no mostraron respuesta favorable después de su ejecución. Niveles altos de endogamia y presencia de cuellos de botella genéticos pueden limitar significativamente la variación genética al inicio de los experimentos.

2.3.1 Evaluación de la condición genética de reproductores.

Al momento de implementar un programa de mejoramiento genético en peces es importante conocer la condición genética de la población actual de reproductores para tomar decisiones acertadas en relación a los apareamientos a realizar. Mantener un adecuado nivel de variabilidad genética en una población de reproductores permite asegurar la variación de los rasgos de interés comercial, siendo fundamental en el progreso genético alcanzable en cada generación (Kawakami, Pereira, Puchnik, & Benites, 2008).

Los cruzamientos deben apuntar a mantener un mínimo nivel de consanguinidad en las siguientes generaciones y así evitar efectos indeseables ocasionados por la acumulación de genes recesivos. Evitar el apareamiento entre individuos con un bajo nivel de parentesco permitirá minimizar la consanguinidad y mantener la variabilidad genética en las siguientes generaciones (Yáñez, Martínez, Aro, & Cabrejos, 2012).

En los centros de reproducción de Trucha Arco Iris, es importante tener en cuenta criterios como la tendencia numérica de la población y el grado de pureza o nivel de cruzamiento que muestren los reproductores, esto para evitar riesgos de licuación genética o extinción de líneas (Gallego , 2010). Cuando se lleva a cabo cruzamientos indiscriminados y no planificados se crea una gran dificultad a la hora de clasificarlos o agruparlos de acuerdo a sus características genéticas.

Debido a la alta fecundidad en peces, desde hace algunos años se ha trabajado con un número reducido de reproductores, lo que ha ocasionado pérdidas en la variabilidad genética poblacional y presencia de consanguinidad.

La variabilidad genética hace referencia a la variación de los genes dentro y entre especies, y se puede comparar entre individuos de una población, entre poblaciones dentro de la misma especie y entre las diferentes especies. Según Curaso *et al.* (2015), la diversidad genética tienen una organización multidimensional y compleja, su comprensión se basa en el grado de similitud (o diferencia) entre pares de unidades, valorada a través de caracteres genéticos que son compartidos.

En la diversidad genética se pueden reconocer tres atributos:

- Composición.- es la identidad y variedad de los elementos constitutivos (genes).
- Estructura.- refleja la cantidad y distribución de la variación genética dentro y entre las poblaciones de una especie.
- Función.- corresponde a los procesos evolutivos responsables de la dinámica de los genes en las poblaciones y que configuran la estructura genética de la diversidad.

Tanto la generación de diversidad genética como su erosión o pérdida, son fenómenos propios de la evolución (Caruso, Brogilia, & Pocovi, 2015). La variabilidad genética es la base de la evolución (bajo condiciones naturales, por la domesticación o por mejoramiento de especies) y a su vez, los factores que producen el cambio evolutivo moldean el genoma.

Ante las condiciones cambiantes del medio, la diversidad genética determina el potencial de respuestas que permitan la supervivencia y la adaptabilidad de las especies, evitando la extinción y pérdida del genoma (Caruso, Brogilia, & Pocovi, 2015).

Otro efecto paralelo a la pérdida de variabilidad genética es la consanguinidad (inbreeding), definida como el apareamiento entre animales que tienen uno o más antepasados en común. Cuanto más cercano sea el parentesco, mayor será la consanguinidad en la progenie resultante.

Los efectos de la consanguinidad o endogamia sobre los caracteres de interés comercial para el productor son conocidos como depresión consanguínea. Gallego (2010) menciona que en Trucha Arco Iris se incrementó el % de deformidades y disminuyó la conversión alimenticia y el peso al realizar cruzamientos entre hermanos. En salmónidos, valores de consanguinidad del 25% generan disminución en la tasa de crecimiento (26,2%), en la conversión alimenticia (14,6%) y en la sobrevivencia (10,3%) (Gjerde & Shaeffer, Estimates of phenotypical and Genetic correlations in Rainbow trout, 1999).

Según Kuase *et al.* (2003), la endogamia puede provocar depresión endogámica, aumento de trastornos hereditarios recesivos, reducción de la varianza genética aditiva y deriva genética aleatoria. Por ejemplo en programas de cría de trucha arco iris, un 10% de aumento en los coeficientes de endogamia resultó en una reducción del 2-5% en la tasa de crecimiento, una

reducción del 6% en el número de huevos y un aumento del 0.5% en la edad de maduración (Kause, Ritola , Paananen , Wahlroos, & Mantysaari, 2005).

Una estrategia común para evitar un aumento a corto plazo en la tasa de consanguinidad es evitar el apareamiento entre parientes cercanos. Pero existe una desventaja al usar esta estrategia, dado que se pueden mantener bajos coeficientes de endogamia, pero a la vez las relaciones genéticas aditivas entre individuos pueden aumentar a gran velocidad (Kause, Ritola , Paananen , Wahlroos, & Mantysaari, 2005). Según Wright (1997), la disminución en el vigor al comenzar la endogamia en una población previamente criada al azar es inversamente proporcional al porcentaje de homocigosis.

2.3.1.1 Uso de marcadores moleculares para estimar variabilidad genética

En las últimas décadas ha habido innumerables esfuerzos para desarrollar técnicas que permitan conocer más directamente la variación genética y no a través del fenotipo, lográndose avances significativos en estudios relacionados al uso de marcadores genéticos (químicos o moleculares).

Tanto los marcadores bioquímicos como los marcadores moleculares son considerados genéticos ya que tienen escasa o nula influencia ambiental y su determinación está dada por uno o pocos genes. El uso de los marcadores bioquímicos (proteínas, enzimas, hormonas) ha sido limitado por tres razones: no cubre toda la extensión del genoma debido a su reducido número, posee modificaciones pos-transcripcionales y su expresión depende del tejido (Caruso, Brogilia, & Pocovi, 2015).

El uso de marcadores moleculares posee ciertas ventajas en comparación con los bioquímicos, enlistadas a continuación:

- Proveen gran cantidad de información, dado que cubren todo el genoma.

- Son altamente polimórficos.
- Se pueden evaluar en estadios muy tempranos de desarrollo, con apenas una pequeña muestra de material biológico.
- No presentan interacciones inter-genéticas.
- Tienen mayor reproducibilidad.
- Presentan herencia simple y co-dominancia.

El argumento más relevante para el uso de marcadores moleculares es que son universales, abundantemente informativos y trabajan directamente con la base genética de la variación, pero es posible encontrar diferencias porque cada tipo de marcador posee una medición y resolución distinta.

Según Yáñez *et al.* (2005), al momento de reconstruir genealogías y evaluar condición genética de una población, la utilización de un determinado número de microsatélites entrega una mejor resolución que marcadores tipo SNPs, debido a su naturaleza multialélica. En la Tabla 4 se indican las diferencias entre los marcadores moleculares tipo microsatélites y SNPs.

Tabla 4
Principales diferencias entre marcadores moleculares tipo microsatélites y SNPs

Característica	Microsatélites	SNPs
Número de alelos	>2	2
Alto rendimiento	+	+++
Error genotipado	+++	+
Abundancia	+	+++

Fuente: (Yáñez, Martínez, Aro, & Cabrejos, 2012)

El uso de marcadores moleculares para analizar los niveles de variabilidad genética, consanguinidad y parentesco de las poblaciones, entregan valiosa información sobre la condición genética de la población base de reproductores. Esta información permitirá tomar decisiones

acertadas de selección al momento de realizar apareamientos que darán origen a las siguientes generaciones y complementada con datos morfológicos y productivos permitirá el desarrollo de una población mejorada. Según Caruso *et al.* (2015), los estudios que incorporen descriptores morfológicos y moleculares generan un conocimiento más amplio para la interpretación genética de la población.

Las diferencias entre los datos agro-morfológicos y moleculares se sustentan en que los cambios del fenotipo no siempre están asociados a variaciones moleculares, ya que responden a reglas y presiones evolutivas diferentes. Los estudios que incluyen únicamente caracteres morfológicos no permiten establecer diferencias en fases tempranas de desarrollo, son poco informativos y su codificación está influenciada por la habilidad o experiencia de la persona que toma los datos. Sin embargo, los caracteres morfológicos y productivos tienen un valor económico directo indudable.

2.3.1.1.1SSR

Los microsatélites, también conocidos como repeticiones de secuencias simples (Simple Sequence Repeats, SSRs), son pequeños motivos de 1-8 pb repetidos en tándem un número variable de veces. Están presentes en todos los genomas estudiados, tanto procariotas como eucariotas, y localizados en cualquier región, tanto codificante como no codificante, si bien son más abundantes en estas últimas (Freire , Fernadez , López, & Méndez, 2009).

El análisis de los microsatélites consiste en la amplificación de la región microsatélite empleando cebadores que se anclan en las regiones flanqueantes. El producto de la amplificación se visualiza en un gel de poliacrilamida o en un secuenciador automático, y se analiza la variación en el tamaño de los alelos amplificados.

2.3.1.2 Índices para estimar variabilidad genética

Existen algunos métodos para estimar la diferenciación y estructura genética de poblaciones, para conocer la contribución de los individuos y de los grupos a la diversidad total (Caruso, Brogilia, & Pocovi, 2015). Algunos de estos métodos permiten comparar la diferencia entre las frecuencias alélicas, mediante pruebas estadísticas equivalentes, la más usada es la prueba de heterogeneidad en las frecuencias alélicas de Workman y Niswander. Otros métodos permiten estimar la proporción de variación genética que se encuentra dentro y entre las poblaciones, como son los Estadísticos F de Wright que específicamente comparan de manera clara y cuantitativa la diferenciación entre poblaciones de distintas especies. Estos estimadores también nos puede dar a conocer el número efectivo de migrantes por generación o Nm (deriva y flujo genético).

Hay otros métodos que, basados en la distribución de frecuencias génicas y genotípicas, nos permiten evaluar: la Proporción de Loci Polimórficos, el Número de Alelos por Locus, la Heterocigosis Media, el Contenido de Información Polimórfica, el Índice de Shannon y el Equilibrio de Hardy - Weimberg (Caruso, Brogilia, & Pocovi, 2015). Y las técnicas de AMOVA permiten generar información equivalente cuando solo se cuenta con datos de frecuencias génicas.

El equilibrio de Hardy-Weinberg es un modelo teórico para genética de poblaciones. El concepto de equilibrio en el modelo de Hardy-Weinberg se basa en las siguientes hipótesis y solo bajo estas condiciones las poblaciones genéticas se mantienen en equilibrio:

- La población es panmíctica (todos los individuos tienen la misma probabilidad de aparearse y el apareamiento es al azar).
- La población es suficientemente grande (para minimizar las diferencias existentes entre los individuos).

- La población no está sometida a migración, mutación o selección (no hay pérdida ni ganancia de alelos).
- Las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes de generación en generación.

2.3.2 Estrategias de mejoramiento genético en peces

Las herramientas básicas para lograr la expresión de estos genes, responsables de características productivas, son la selección y los cruzamientos (UNNE, 2011). Pero el nivel o expresión de este carácter (fenotipo) se obtiene de la relación entre el genotipo y las condiciones bajo las cuales se desarrolla la población (paratipo) (medio ambiente, nutrición, condiciones del cultivo, etc).

2.3.2.1 Selección

Según UNNE (2011), la selección es el acto mediante el cual, ciertos individuos en una población son preferidos sobre otros para la producción de la generación siguiente. La selección permite que ciertos animales se reproduzcan más que otros, para provocar cambios genéticos a largo plazo.

El genotipo está constituido por genes que tienen acción aditiva y no aditiva. Los genes que tiene acción aditiva se transmiten de padres a hijos independientemente de la combinación en que se encuentren, de estos efectos genéticos hacen uso los programas de selección. Los genes que tienen acción aditiva son los encargados de expresar caracteres o rasgos cuantitativos (tasa de crecimiento, conformación, etc.) (UNNE, 2011). Pero debido a la cantidad de genes involucrados en la expresión y al efecto del medio ambiente exista una alta tasa de variabilidad a los posibles valores del carácter de interés. Por otra parte en los genes que tienen acción no aditiva, los miembros de un par de alelos o dos pares de genes separados pueden interactuar para producir un efecto fenotípico particular.

Antes de elegir un método de selección fue importante conocer el valor de heredabilidad de las características de interés comercial. La heredabilidad es “la proporción de variación fenotípica debida a la varianza genética aditiva sobre la cual se fundamenta la selección” (Gallego , 2010). El valor de la heredabilidad, como estimativo del % con que se transmite una característica deseable, es un buen indicador de los sistemas de apareamiento más aconsejables a seguir dentro de un programa de mejora genética. En la Tabla 5 se muestran algunos valores de heredabilidad estudiados en especies acuícolas de interés económico.

Tabla 5

Índices de heredabilidad de la ganancia de peso en diferentes especies de peces comerciales

Especie - rango	Índice de herencia
Tilapia áuurea. Ganancia de peso 40 semanas	0,38 +/- 0,08
Tilapia roja. Peso 40 semanas (hembras)	0,43 +/- 0,08
Salmón coho. Peso 141 días	0,22
Trucha. Peso 243 días	0,60
Bagre del canal. Peso 48 semanas	0,27

Fuente: (Gallego , 2010)

La heredabilidad depende de la característica y de la población en la que se evalúa, su valor no es en principio extensible a otras poblaciones de la misma especie, pero entrega un valor de referencia. López & Toro (2007) mencionan que la heredabilidad para el peso en Trucha Arco Iris es de 0,20 y 0,50 estimada a partir de datos de medios hermanos y hermanos, respectivamente. Otros autores mencionan heredabilidades en Trucha Arco Iris del 0.73, 0.58, 1.06, 0.09 y 0.74 para el peso a los 68, 120, 125, 150 y 184 días, respectivamente (Gall & Huang, 1998). Según CAICYT (1987), la heredabilidad para el peso y la longitud ofrecen a priori ciertas garantías de poder ser seleccionados con éxito.

El principal efecto genético de la selección es modificar la frecuencia de los genes, para lograr un cambio en la media poblacional en rasgos de interés productivo (Gallego , 2010). Este proceso es gradual y acumulativo, el resultado esperado de una selección exitosa es mejorar genéticamente generaciones futuras de una población, aumentando con el tiempo la proporción de genes deseables en la misma. La respuesta continua a la selección depende del mantenimiento de la variación genética a través de programas de mejoramiento diseñados y administrados adecuadamente.

2.3.2.1.1 Selección masal

La selección masal consiste en escoger, a partir de un grupo grande de peces, los mejores individuos de acuerdo al carácter en estudio, constituyéndose en los nuevos reproductores. Para esto es importante que el carácter de interés tenga una heredabilidad media (0,20 - 0,60). La metodología descrita por Gallego (2010), para realizar selección masal se describe a continuación:

Para iniciar el programa de reproducción de parentales y garantizar la mayor representación de todos los reproductores, estos deben ser separados y reproducidos en diferentes estanques considerando la relación Macho: Hembra que se maneje en la piscícola. De cada estanque se obtendrá la F1 (larvas) y el desarrollo debe realizarse bajo condiciones comerciales.

La primera selección se realizará en base al sexo y la segunda en base al carácter en estudio dentro del programa de mejoramiento. Los mejores machos y mejores hembras serán seleccionados y se convertirán en los futuros reproductores.

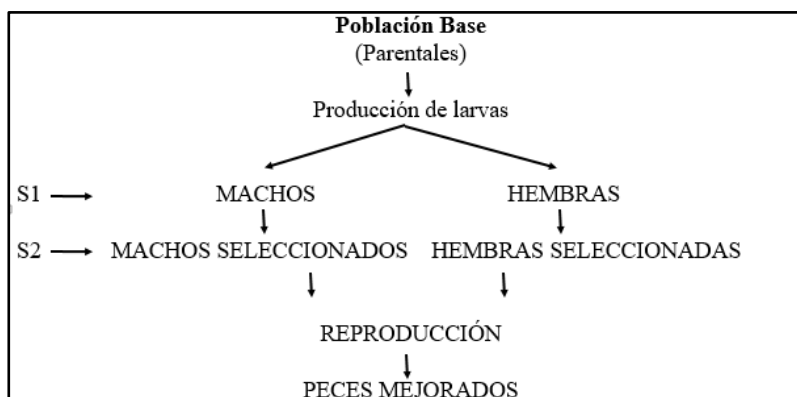


Figura 1 Esquema de un programa de selección masal
Fuente: (Gallego , 2010)

2.3.2.1.2 Selección familiar

Este método de selección se divide en dos tipos en selección inter-familiar y selección intra-familiar. Bajo el método de selección inter-familiar se escogen las mejores familias de varias que constituyen un grupo de comparaciones (no deben ser menos de 45 familias) y bajo el método intrafamiliar se seleccionan los mejores individuos de las familias.

La selección familiar evita la consanguinidad al utilizar posteriormente apareamientos rotacionales, además es útil para mejorar la conversión alimenticia pues es más fácil medir los promedios familiares que los individuales (Gallego , 2010; Phillips, 2010). Por otra parte, en la selección individual puede incidir la consanguinidad al cruzar los mejores con los mejores, donde existe la probabilidad de parentesco entre algunos de ellos.

La selección familiar se da cuando el carácter de interés presenta baja heredabilidad y existen fuentes de variación difíciles de controlar (fecha de eclosión, tiempo de incubación, edad, tamaño de la madre, diferentes estanques). Según López & Toro (2007), la selección familiar es el método más óptimo dentro de los programas de mejora genética en peces, pese a su complejidad y alto costo de ejecución en comparación a la selección individual.

Lo recomendable es probar por lo menos 45 parejas de un macho y dos hembras (F0), los descendientes (F1) de cada pareja son consideradas como una familia (Gallego , 2010). Se debe evaluar el carácter de interés de cada familia en tres estanques separados para disminuir los efectos ambientales. El efecto ambiental común en trucha arco Iris esta entre un 2 a 6% para el peso corporal (Villanueva, 2016).

Cuando se escojan las familias con mayor promedio en base al carácter de interés (5-15%), las hembras de una familia se aparean con los machos de otra, siguiendo la técnica de troncos de apareamiento. Si se desea mayor genética se deben seleccionar los mejores hijos de las mejores familias (intrafamiliar).

Al conservar como reproductores F0 se estarían realizando pruebas de progenie que son valiosas cuando la vida útil de los reproductores es prolongada como en el caso de salmónidos y cachamas.

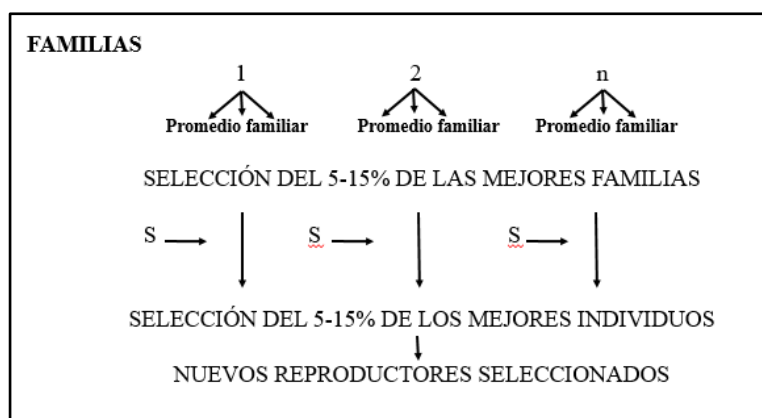


Figura 2 Esquema de un programa de selección familiar
Fuente: (Gallego , 2010)

Por otra parte, Gallego (2010) menciona que la selección familiar evita la consanguinidad ya que posteriormente permite realizar apareamientos rotacionales entre las familias (selección inter-familias) o los individuos (selección intra-familiar) seleccionados con características superiores

para las variables de importancia económica. Sin embargo, la selección inter-familiar por sí sola da lugar a la acumulación rápida de endogamia porque se seleccionan familias enteras, reduciendo así el rendimiento.

Gall & Huang (1998) mencionan que al realizar una selección inter-familiar y posteriormente una selección intra-familiar aumenta la respuesta esperada por generación para el peso en un 0,74, 1.07 y 1.35% a una intensidad de selección del 40, 20 y 10%, respectivamente. La selección combinada da como resultado respuestas genéticas más altas porque se da el peso apropiado a las diferencias entre y dentro de las familias. Para ejecutar la selección combinada es necesario tener estimaciones confiables de los parámetros genéticos, la relación genética entre los miembros de las familias, el tamaño de la familia, contar con un registro completo de genealogía y las instalaciones adecuadas de cría (Gall & Huang, 1998).

2.3.2.2 Cruzamientos

Según UNNE (2010), el apareamiento es el proceso que determina que machos (seleccionados) son apareados con que hembras (seleccionadas). Mientras que en la selección se selecciona el grupo de animales que se quiere que sean padres, en el apareamiento se escoge que machos y hembras del grupo seleccionado se aparearan entre sí. En organismos acuáticos es técnicamente posible obtener cruzamientos entre especies que están alejadas del filum genéticamente y que incluso difieren en su número cromosómico.

Pillay (1997), recomienda probar todos los cruces posibles entre líneas para evaluar los caracteres de interés económico y seleccionar los cruzamientos más favorables u obtener líneas endogámicas y probar los cruces entre ellas en condiciones comerciales. La heterosis o el vigor híbrido permiten a la descendencia superar a los progenitores en uno o varios caracteres mientras que la depresión endogámica tiene efectos perjudiciales. El vigor híbrido es causado no por la

presencia de determinados genes en individuos, sino por la presencia de combinaciones de genes particulares.

Existen diferentes métodos para aparear animales, el sistema de apareamiento que se elija depende del tipo de resultados que se quiera (Tabla 6).

Tabla 6

Posibles sistemas de cruzamiento con sus respectivos resultados

Regla de apareamiento	Resultado esperado
Lo mejor con lo mejor	Produce un extremo
Grande por pequeño	Produce un intermedio
Media hermana por medio hermano	Produce un consanguíneo

Fuente: (UNNE, 2011)

Según UNNE (2010), una diferencia fundamental a nivel de genes entre selección y apareamiento, es que mientras que el propósito de la selección es aumentar la proporción de genes favorables en las generaciones futuras, el propósito del apareamiento es aumentar la proporción de combinaciones de genes favorables en una población (vigor híbrido).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente proyecto de investigación se desarrolló en dos fases, una primera denominada Fase de Laboratorio que tuvo como fin la determinación del nivel de variabilidad genética de la población actual de reproductores del CENIAC mediante el uso de técnicas moleculares. Esta primera fase se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, IASA 1.

La segunda denominada de Campo tuvo como fin la implementación del programa de mejoramiento genético, a través de la selección e identificación de reproductores para la obtención de familias F1 de Trucha Arco Iris. Esta fase se desarrolló en las instalaciones del Centro de Investigaciones Acuícolas – CENIAC y culminó en las instalaciones del proyecto de acuicultura Pailones de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, IASA 1.

3.1 Lugar de investigación

El laboratorio de Biotecnología y el proyecto de acuicultura Pailones se encuentran ubicados en el campus IASA 1 de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, el campus se encuentra ubicado en la Provincia de Pichincha, Cantón Rumiñahui, Sector San Fernando.



Figura 3 Laboratorio de Biotecnología, IASA 1



Figura 4 Proyecto Acuicola Pailones, IASA 1

Datos:

- Ubicación geográfica: 0°23'20" S 78°24'44"
- Altitud: 2748 msnm
- Temperatura: 13-14°C
- Precipitación anual: 1200 mm

El Centro de Investigaciones Acuícolas – CENIAC se encuentra ubicado en la parroquia Papallacta, cantón Quijos, provincia del Napo.



Figura 5 Centro de Investigaciones Acuícolas - CENIAC, Papallacta

Datos:

- Ubicación geográfica: 0°22'01'' S 78°07'58''
- Altitud: 3000 msnm
- Temperatura: 8-12°C
- Precipitación anual: 1560 mm
- Humedad relativa: 86%

3.2 Determinación de la variabilidad - Fase de Laboratorio

El nivel de variabilidad genética de la población de reproductores de Trucha Arco Iris del Núcleo Papallacta se determinó mediante el uso de marcadores moleculares tipo microsatélites cuya metodología se describe a continuación:

3.2.1 Cálculo del tamaño de muestra

El CENIAC cuenta con una población de 3000 ejemplares de Trucha Arco Iris que se encuentran en edad óptima para la reproducción. Del total de reproductores, 1100 son hembras de 3 años de edad y aproximadamente 70 cm de longitud y 1900 son machos de entre 2 a 2.5 años de edad y aproximadamente 55 cm de longitud.

Para que la determinación del nivel de variabilidad genética sea estadísticamente significativa se calculó un tamaño de muestra mínimo. Para el cálculo del tamaño de la muestra se usó la siguiente fórmula (Fórmula para poblaciones finitas):

$$n = \frac{(t \frac{\alpha}{2} * gl)^2 * (CVp\%)^2}{(E\%)^2 + \frac{(t \frac{\alpha}{2} * gl)^2 * (CVp\%)^2}{N}}$$

Donde:

- n = muestra que se pretende calcular.

- $t_{\frac{\alpha}{2}} * gl$ = valor del estadístico de estudio en función del nivel de confiabilidad (tablas T de Student) y el número de grados de libertad (n-1).
- CVp% = coeficiente de variación ponderado (hembras y machos). * *Para el coeficiente de variación se calculó el índice de condición corporal (peso, longitud total) de 100 hembras y 100 machos de Trucha Arco Iris tomadas al azar.*
- E% = error experimental 4%.
- N = población total.

$$n = \frac{(4,182)^2 * (13,308)^2}{(4\%)^2 + \frac{(4,182)^2 * (13,308)^2}{3000}} = 48,984$$

$$n_{hembras} = 48,984 * 0,367 = 17,961 \sim 18$$

$$n_{machos} = 48,984 * 0,633 = 31,023 \sim 31$$

Para que la determinación del nivel de variabilidad genética sea estadísticamente significativo fue necesario evaluar 40 hembras y 40 machos.

3.2.2 Extracción de ADN genómico

3.2.2.1 Toma de muestras biológicas

La extracción de ADN se realizó a partir de muestras aleta dorsal de reproductores de Trucha Arco Iris y se usó este método poco invasivo con el objeto de evitar cualquier problema de salud o daño posterior que cause la muerte del reproductor en estudio. Para la toma de la muestra biológica se ingresó a los estanques de los reproductores del CENIAC y se capturaron al azar 40 hembras y 40 machos con ayuda de una red (Figura 6).



Figura 6 Selección al azar de reproductores de Trucha Arco Iris

Los reproductores seleccionados fueron sedados por inmersión temporal en una solución con Eugenol (1ml / 10 l de agua) para facilitar la manipulación del ejemplar al momento de tomar la muestra. Cuando el reproductor perdió el equilibrio fue sacado de la solución con Eugenol y se cortó aproximadamente 1 cm² de aleta dorsal con ayuda de una pinza y tijeras de disección (Figura 7).



Figura 7 Toma de muestras de la aleta dorsal de reproductores de Trucha Arco Iris

Las muestras de aleta dorsal fueron sumergidas en alcohol absoluto dentro de tubos eppendorf (1,5 ml) previamente identificados con: el sexo del individuo, número del ejemplar y fecha de

toma de la muestra. Las muestras fueron transportadas en un cooler al Laboratorio de Biotecnología - IASA y almacenadas a -20°C hasta el momento de su uso.

3.2.2.2 Metodología de extracción de ADN

Para la extracción de ADN se usó un método con alta concentración de sal, el cual permite que las proteínas de las células se precipiten dejando libre al ADN. Para la extracción de ADN de aleta dorsal en Trucha Arco Iris se tomó el protocolo de Taggaari *et al.* (1992), mismo que fue estandarizado en el Laboratorio de Biotecnología del IASA.

Protocolo de Extracción de ADN estandarizado:

- Cortar aproximadamente 9mm^2 de aleta dorsal de Trucha Arco Iris previamente conservada en alcohol absoluto a -20°C con ayuda de tijeras y pinzas de disección.
- Secar la muestra para que el alcohol se evapore en su totalidad y cortarla finamente.
- En un tubo eppendorf previamente identificado con el código del reproductor colocar los trozos cortados de la muestra.
- Añadir al tubo $500\ \mu\text{l}$ de Buffer de Lisis ($0,7\text{M NaCl}$; 10mM TrisHCl ; 100mM EDTA ; 2% CTAB) y $10\ \mu\text{l}$ de Proteinasa K ($20\ \text{mg/mL}$).
- Mediante Vortex homogenizar la muestra durante dos minutos.
- Colocar las muestras en el termo bloque a 55°C durante 12 horas, se puede acelerar el proceso con agitaciones periódicas mediante Vortex,
- Subir la temperatura del termo bloque a 90°C para desactivar la Proteinasa K durante 10 minutos.
- Añadir $500\ \mu\text{l}$ de NaCl, mezclar por inversión e incubar la muestra a temperatura ambiente durante 15 minutos.

- Centrifugar la muestra durante 10 minutos a 11000 rpm y extraer el sobrenadante a nuevos tubos eppendorf previamente identificados. Repetir este procedimiento.
- Añadir 500 µl de alcohol absoluto previamente enfriado a -20°C.
- Mantener los tubos a temperatura ambiente durante 10 minutos y mezclar por inversión para posteriormente incubar a -20°C por 30 minutos a dos horas.
- En una centrifuga refrigerada a 4°C colocar el tubo durante 10 minutos a 11000 rpm
- Eliminar todo el sobrenadante (alcohol) evitando que el pellet se despegue del fondo.
- El pellet debe ser lavado de dos a tres veces (según el tamaño) con alcohol al 70% previamente enfriado.
- En el termo bloque dejar que se evapore el alcohol del pellet evitando que se deshidrate por completo.
- Para disolver el pellet añadir de 50 a 200 µl (según el tamaño del pellet) de agua ultra pura.
- Colocar las muestras en el termo bloque a 36°C por 30 minutos para promover la degradación del ARN.
- Finalmente, almacenar a -20°C hasta el momento de su uso.

3.2.2.3 Evaluación del ADN extraído

Para evaluar la calidad y presencia de ADN extraído se realizó una electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1% con 10 µl de SYBR® Safe añadidos al momento de la preparación del gel. Las muestras de ADN fueron cargadas con 6X Blue Juice™, Gel Loading Buffer (1 µl / 5 µl ADN) (Invitrogen, USA). También se cargó un marcador de peso molecular AxygenR 1Kb ladder AND (Corning, USA) y un control negativo que contiene solo buffer de elución. El gel se corrió a 100 V durante 30 minutos en TBE 1X (0,1M Tris, 0,09M ácido bórico y 0,001M EDTA).

Los geles fueron revelados y fotografiados con el transiluminador UPV^R 3UVTM a una longitud de onda de 302 nm. Las imágenes fueron procesadas en el software ImageJ 1,4 R para mejorar la calidad de las mismas.

También se evaluó la capacidad del ADN para ser molde de la PCR realizando ampliaciones de los marcadores universales ITS (Internal untranscripter spacer). Los ITSs son secciones de ADN que están presentes en todas las especies eucariotas, su amplificación permitió evaluar si la calidad y cantidad de ADN extraído es aceptable para reacciones PCR. Las condiciones para este marcador fueron tomadas de los ensayos realizados por White *et al.* 1990.

Para validar el producto PCR se realizó una electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1,2% con 20 µl de Bromuro de Etidio añadidos al momento de la preparación del gel. Los productos PCR fueron cargados con 10X Blue JuiceTM, Gel Loading Buffer (0,56 µl / 5 µl ADN) (Invitrogen, USA). También se cargó un marcador de peso molecular AxygenR 1Kb ladder AND (Corning, USA) y un control negativo que contiene solo buffer de elución. El gel se corrió a 100 V durante 30 minutos en TBE 1X.

Los geles fueron revelados y fotografiados con el transiluminador UPV^R 3UVTM a una longitud de onda de 302 nm. Las imágenes fueron procesadas en el software ImageJ 1,4 R para mejorar la calidad de las mismas.

3.2.3 Genotipaje

La técnica de genotipaje que se usó en el presente estudio fue para marcadores moleculares tipo microsatélites, también llamados “secuencias de repeticiones simples” (SSRs, por sus siglas en inglés) (Sharma, 2008). Para técnica incluyó la selección de microsatélites y primers, la

amplificación del ADN por reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), el análisis de los fragmentos amplificados y la obtención e identificación de genotipos.

3.2.3.1 Selección de microsatélites

Se seleccionaron 5 marcadores moleculares tipo SSRs (microsatélites) que presentaron altos niveles de polimorfismo en bibliografía relacionada con Trucha Arco Iris. En la Tabla 7 se muestra el nombre, la secuenciación y la referencia bibliográfica de los marcadores moleculares seleccionados.

Tabla 7

Detalles de los marcadores tipo microsatélites empleados para la identificación de la variabilidad genética en Trucha Arco Iris

Marcador	Extremo	Secuencia	Referencia bibliográfica
ESPE-NCBI 42815192	Primer izq.	AATAGCACAGCCTTTAGC	Ortiz <i>et al.</i> , 2015
	Primer der.	ATGTCTTGGCATAGTGAA	
PuPuPy	Primer izq.	AGGGGGAGCATGCAGCG	Estoup <i>et al.</i> , 1998
	Primer der.	CATTTAAGTGAAAAGACGTAACCTACC	
OmyRGT8TUF	Primer izq.	AGAAGAGAATGAGAGGGAGGG	Ozaki <i>et al.</i> , 1999
	Primer der.	CCACCCAGCAGATGTTAGCT	
Str2IRNA	Primer izq.	GGTGGCCTGGGTATAGCC	Ozaki <i>et al.</i> , 1999
	Primer der.	GGTGTCGTTTCAGCTGTAGCG	
OmyRGT7TUF	Primer izq.	CCATCCTTGACTGATACAGAGG	Ozaki <i>et al.</i> , 1999
	Primer der.	GCCGAAAACACAGAACCTTC	

Los primers fueron sintetizados por la empresa biotecnológica INVITROGEN, USA, enviados liofilizados (100 μ M) y reconstruidos con agua ultra pura libre de nucleasas, a una concentración final de 10 μ M.

3.2.3.2 Ensayo de PCR

3.2.3.2.1 Materiales y Equipos

- Microtubos de 50 μ l para PCR
- Puntas con filtro de 10, 20, 200 y 1000 μ l
- Pipetas de 10, 20, 200 y 1000 μ l
- Gradillas para microtubos
- Guantes de nitrilo
- Cámara de flujo laminar
- Alcohol 70%
- Termociclador y Mastercycler

3.2.3.2.2 Reactivos

- Buffer 10X para PCR sin MgCl₂
- Taq Polimerasa (Invitrogen USA)
- Cloruro de Magnesio MgCl₂ 50 mM
- Mix dNTPs 10 mM
- Agua ultra pura libre de nucleasas
- Primers
- Muestras ADN

3.2.3.2.3 Procedimiento

Las concentraciones de los reactivos (Tabla 8) y las condiciones (Tabla 9) para la reacción PCR fueron adaptadas de los protocolos establecidos por Ortiz *et al.* (2005), Ozaki *et al.* (1999) y Estoup *et al.* (1998), para cada marcador seleccionado.

Tabla 8

Concentraciones por reacción usados para la PCR de los microsatélites seleccionados

Microsaltélites	OmyRGT8TUF	Pupupy	ESPE-NCBI 42815192
Buffer (X)	1	1	1
Forward (μ M)	0,5	0,5	0,5
Reverse (μ M)	0,5	0,5	0,5
dNTPSs (mM)	0,2	0,4	0,2
TaqPol (U/ μ l)	0,05	0,05	0,05
MgCl ₂ (mM)	2	2,5	2,5
DNA genómico (ng/ μ l)	2	2	2

Fuente: Ortiz (2005), Ozaki (1999) y Estoup (1998)

Tabla 9

Condiciones para la amplificación por PCR de los microsatélites seleccionados

Microsatélites	Ciclos de temperatura		
OmyRGT8TUF	95°C 5 min	35 ciclos: 95°C 30s, 56°C 1min, 72°C 1 min	72°C 5 min
Pupupy	94°C 5 min	5 ciclos: 94°C 30s, 58°C 1 min, 72°C 1 min 15s	3 ciclos: 95°C 30s, 55°C 30s, 72°C 1min 15s
ESPE-NCBI 42815192	95°C 5 min	35 ciclos: 95°C 30s, 51°C 30s, 72°C 30s	72°C 5 min

Fuente: Ortiz (2005), Ozaki (1999) y Estoup (1998)

Las reacciones para PCR se prepararon en una solución madre con todos los reactivos, excepto el ADN, el volumen de cada reactivo se calculó en base al número de reacciones a realizarse más un control negativo, con el fin de evitar errores en el pipeteo. La solución madre fue repartida de acuerdo al número de reacciones (cada reacción de 14 μ l) y al final se colocó el ADN (1 μ l) de cada muestra, obteniendo un volumen final de 15 μ l.

Para validar el producto PCR se realizó una electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1,2% con Bromuro de Etidio (0,05 μ l/mL) añadidos al momento de la preparación del gel. Los productos PCR fueron cargados con 10X Blue Juice™, Gel Loading Buffer (0,56 μ l / 5 μ l reacción PCR) (Invitrogen, USA). También se cargó un marcador de peso molecular AxygenR

100 pb ladder AND (Corning, USA) y un control negativo que contiene solo buffer de elución. El gel se corrió a 100 V durante 40 minutos en TBE 1X.

Los geles fueron revelados y fotografiados usando el transiluminador UPV^R 3UVTM a una longitud de onda de 302 nm. Las imágenes fueron editadas con en el software ImageJ 1,4 R para mejorar la calidad de las mismas y constatar si existió amplificación y ausencia de contaminación.

3.2.3.3 Análisis de los productos PCR

Para detectar el número y tamaño de los alelos por muestra, se adoptaron protocolos para el análisis de pequeños fragmentos de ADN en geles de poliacrilamida con alta resolución y detectar variaciones en el tamaño de los alelos. Para cada marcador se realizó una electroforesis vertical en geles no desnaturalantes de poliacrilamida al 6% (6% de Acrilamida:Bisacrilamida 29:1, TBE 1X).

Las muestras fueron cargadas con 10X Blue JuiceTM, Gel Loading Buffer (0,56 µl / 5 µl ADN) (Invitrogen, USA). También se cargó un marcador de peso molecular AxygenR 50 pb ladder AND (Corning, USA) a ambos extremos del gel. El gel se corrió a 70 V durante 10 horas en TBE 1X (0,1M Tris, 0,09M ácido bórico y 0,001M EDTA), en el equipo de geles duales de C.B.S. Scientifics, USA, evitando la exposición del gel a la luz durante la corrida.

El gel fue teñido por inmersión en una solución de agua destilada con Bromuro de Etidio (0,5 µl/ml) durante 10 minutos y posteriormente se lavó el gel con agua destilada durante 20 minutos. Los geles fueron revelados y fotografiados con el transiluminador UPV^R 3UVTM a una longitud de onda de 302 nm.

Las imágenes fueron convertidas a una resolución de 8 bits (blanco y negro), editadas (contraste y brillo) en el software ImageJ 1,4 R para mejorar la definición de las mismas y

exportadas en formato Tiff. La detección de las bandas, la determinación del tamaño de los alelos y el genotipo de cada una de las muestras se analizó en el Software Bioinformático Quantity One™ (BioRad, USA), con una tolerancia del 3% de diferencia de tamaño de alelos, por lo que el tamaño de los alelos identificados en el presente proyecto puede tener una variación de ± 5 pb.

Los valores de los alelos fueron aproximados a un número entero para su mayor comprensión y tabulados para su posterior análisis en los Softwares bioinformáticos Cervus 3.0 y GenALEX 6,5.

3.3 Selección de reproductores de Trucha Arco Iris y sistemas de cruzamiento – Fase de campo

Se usó la metodología de selección inter-familiar para programas de mejoramiento genético en peces (Gallego , 2010). Bajo este método de selección se realizaron cruzamientos familiares y se escogieron las mejores familias en base a parámetros productivos.

3.3.1 Número de familias

En base a Gallego (2010) y considerando un 10% adicional por mortalidad, la primera fase del proyecto contó con un total de 50 familias. Las parejas de parentales se conformaron de un macho y de dos o tres hembras.

3.3.2 Selección e identificación de parentales

Se realizó una clasificación previa de la población total de reproductores de Trucha Arco Iris que se encontraban en edad óptima para la reproducción. Estos individuos fueron clasificados en tres grupos de acuerdo a su tamaño (grande, mediano y pequeño) con la finalidad de obtener grupos homogéneos de reproductores y separar una muestra representativa para el estudio. De esta clasificación se seleccionaron en base al índice de condición corporal y al estado de madurez

sexual hembras del grupo de tamaño mediano (1725 g de peso promedio y 62 cm de longitud) y machos del grupo de tamaño grande (1579 g de peso promedio y 53 cm de longitud), debido a sus características reproductivas.

3.3.2.1 Índice de condición corporal (ICC).

El ICC (índice de condición corporal) es la relación entre el peso y la longitud del pez. La fórmula para calcular el ICC es:

$$ICC = \frac{\text{peso (g)}}{\text{longitud total}^3 \text{ (cm)}} * 100$$

Se calculó el ICC de las hembras de tamaño mediano y de los machos de tamaño grande, mismos individuos que se encontraban separados del resto en el estanque J4 y J5. Los individuos fueron sacados de los estanques con ayuda de una red y anestesiados por inmersión temporal en una solución con Eugenol (1 ml / 10 litros de agua). Cuando los individuos mostraron pérdida del equilibrio fueron sacados de la solución, pesados y medidos. Una vez concluida la actividad, los reproductores con un óptimo ICC fueron separados del resto para evaluar el estadio de madurez sexual en el que se encontraban.

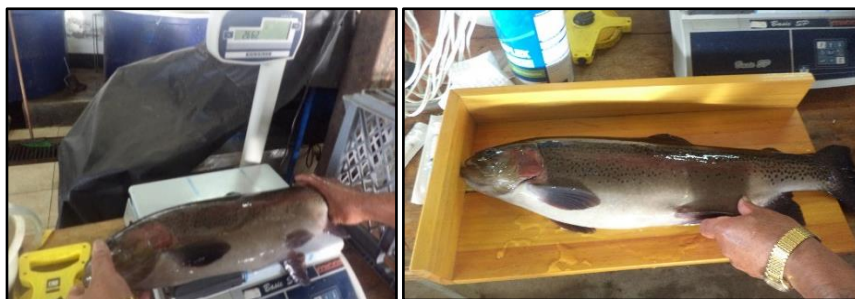


Figura 8 Toma de parámetros morfométricos para el cálculo del Índice de Condición Corporal

3.3.2.2 Estadio de madurez sexual.

El grado de madurez sexual en las hembras se identificó mediante palpación y se establecieron tres estadios: Grado 1: abdomen rígido, Grado 2: abdomen semi-flácido y Grado 3: abdomen flácido (óptimo para desove).

Los hembras reproductoras que se encontraron en Grado 1 y Grado 2 de madurez sexual fueron excluidos del programa de mejoramiento genético y llevados al estanque R6 junto con el lote total de reproductores del CENIAC.

Las hembras reproductoras que mostraron un Grado 3 de madurez sexual fueron llevadas a la sala de desove del CENIAC donde se les inyectó GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas) a una dosis de 0,5ml/kg peso vivo (Rivera, 2017), con la finalidad de sincronizar los desoves y obtener la mayor cantidad de ovas en el menor tiempo posible. La hormona fue inyectada intraperitonealmente a lo largo de la línea central a $\frac{1}{2}$ cm de la longitud delante de la aleta pélvica basal (Figura 9).



Figura 9 Inyección de GnRH a reproductores de Trucha Arco Iris

La GnRH es sintetizada por las neuronas del hipotálamo y controla la secreción de las gonadotropinas (LH y FSH), siendo el principal factor estimulante para la inducción hormonal a la madurez (Carrillo, 2009).

3.3.2.3 Identificación de reproductores

Los reproductores seleccionados por ICC y estadio óptimo de madurez sexual que formaron parte del programa de mejoramiento fueron identificados con amarras de plástico que tenían un código único de cuatro dígitos numerales y una letra, las amarras fueron colocadas en la aleta dorsal realizando previamente dos orificios con una ajuga hipodérmica (Figura 10).

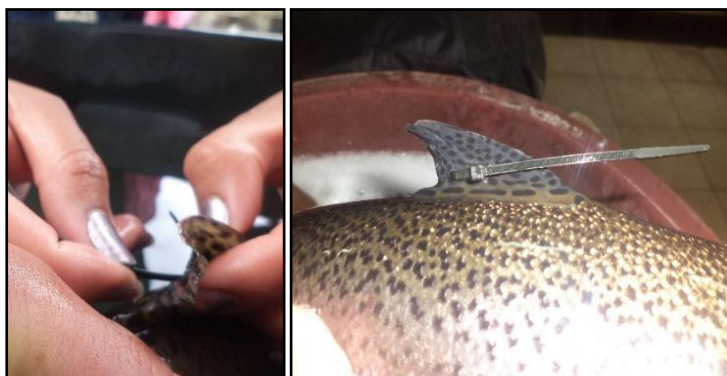


Figura 10 Identificación de reproductores de Trucha Arco Iris

Con la finalidad de evitar el maltrato de los reproductores y no exceder los tiempos límite, los reproductores fueron seleccionados e identificados en el mismo día.

3.3.3 Desove y fecundación artificial

Se realizaron controles constantes para evaluar el desarrollo gonadal de las hembras y para verificar la presencia de semen en los machos, cuando los reproductores alcanzaron un grado de madurez total fueron trasladados al Área de Reproducción del CENIAC, donde se dejaron en ayuno por 24 horas para evitar que las células sexuales (ovas y líquido seminal) se contaminen con heces fecales.

Para la extracción artificial de los gametos masculinos y femeninos se usó el método unipersonal, anestesiando a los reproductores por inmersión temporal en una solución con Eugenol (1 ml / 10 litros de agua) hasta que queden sedadas.

Los gametos femeninos y masculinos fueron extraídos realizando masajes abdominales (striping) desde las aletas pélvicas hacia el área ventral sin aplicar demasiada presión (Figura 11). Se pesó el total de ovas (gametos femeninos) de cada hembra y se colocó 150 gr en recipientes identificados con el código de la hembra. El resto de ovas fueron entregadas al CENIAC. El semen extraído (gametos masculinos) fue colocado en cajas Petri secas e identificadas con el código del macho (Figura 11).



Figura 11 Extracción artificial de gametos femeninos y masculinos

Posteriormente el semen de un macho se repartió sobre las ovas de dos, tres o cuatro hembras, de acuerdo a la cantidad de líquido seminal. Los recipientes donde se realizó la fecundación artificial fueron identificados con el código de la hembra, el código del macho y el número de la familia (Figura 12). Después de 5 minutos, las ovas fecundas fueron lavadas con precaución hasta tres veces con agua limpia para activar a los espermatozoides.



Figura 12 Fecundación artificial

3.3.4 Incubación

Las ovas fecundadas fueron llevadas al Área de Incubación del CENIAC y colocadas en canastas de flujo vertical (Figura 13). Durante este periodo las ovas pasaron en total oscuridad y reposo, a diario se limpió la mortalidad para evitar la propagación de enfermedades. En cada canasta se incluyó una etiqueta en la que constaba el número de familia, número de madre, número de padre, fecha de fecundación, fecha de posible punto de ojo y fecha de posible eclosión.



Figura 13 Incubadoras de flujo vertical

Cuando las ovas alcanzaron el desarrollo embrionario conocido como punto de ojo (30 días después de la fecundación; Figura 14) fueron sometidas a un procedimiento denominado “golpe de ovas”, con la finalidad de eliminar a las más débiles y no fecundas (cristalinas).

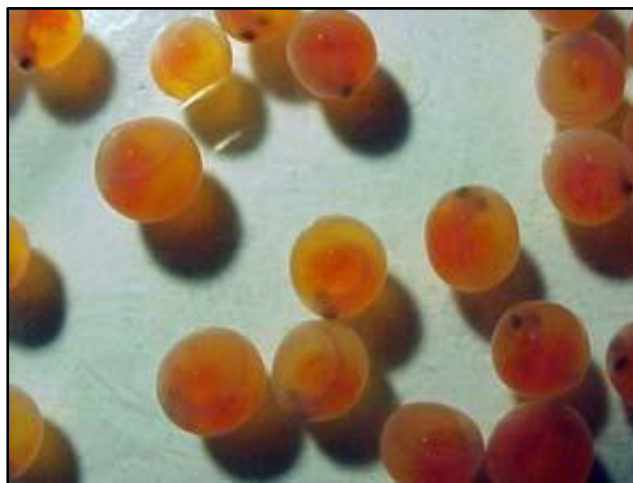


Figura 14 Desarrollo embrionario "punto de ojo"

Las ovas en punto de ojo fueron trasladadas a las tinas de alevinaje donde terminaron su desarrollo embrionario y eclosionaron (Figura 15). En cada tina de alevinaje se incluyó una etiqueta con el número de familia, número de madre y número de padre.



Figura 15 Tinas para la eclosión y alevinaje de las Familias F1 de Trucha Arco Iris

3.3.5 Seguimiento de la eclosión y desarrollo de alevines

Las ovas en punto de ojo eclosionaron 42 días después de la fecundación (Figura 16) y posterior a ello se esperó un periodo de 15 días hasta que las larvas consuman totalmente las reservas (absorción del saco vitelino), se trasformen en alevines, asciendan a la superficie, naden

y empiecen a alimentarse. Durante este periodo se limpió y registró a diario la mortalidad en larvas y alevines.



Figura 16 Eclosión de Familias F1 de Trucha Arco Iris

Del total de alevines por familia, se seleccionaron 100 al azar y el resto fueron entregados al CENIAC. Se realizó esta selección para mantener una adecuada densidad poblacional en las tinas de alevinaje.

3.3.6 Raciones alimenticias para alevinaje

Las raciones alimenticias se calcularon en base a la biomasa de cada familia y se suministró alimento (Pellet 1, <0.06 m) seis veces al día durante la etapa de alevinaje. El balanceado suministrado fue de la marca Pisis y Biomix.

Los requerimientos nutricionales durante esta etapa son de 50% de proteína, 5% de carbohidratos, 17% de grasa, de 0,1 -0,5 de minerales (Ca, P, Mg) y de 0.1 a 0.5 de vitaminas (A, K, C, B₆ y B₁₂)

3.3.7 Alevinaje

La fase de alevinaje se desarrolló en dos estaciones: la primera dominada Núcleo Papallacta con familias F1 para la selección y la segunda denominada Núcleo Pailones con familias F1 para la evaluación. Tener algunos núcleos asegura una mayor protección frente a catástrofes naturales,

cubre un rango más amplio de sistemas de producción y permite realizar una selección con diferentes objetivos. Villanueva (2016) menciona la importancia de cultivar peces en condiciones ambientales similares a las encontradas en la industria.

En el Núcleo Papallacta que se desarrolló en las mismas instalaciones del CENIAC se desinfectó y adecuó un estanque con divisiones de madera y malla para alojar de forma independiente a cada familia (Figura 18). En cada espacio se colocó una etiqueta con número de familia, número de madre y número de padre. El CENIAC realizó un análisis previo y seleccionó a 20 familias que presentaron menor tasa de mortalidad y mayor ganancia de peso. Del total de individuos, se seleccionaron 40 alevines por familia para el Núcleo Papallacta y 40 para ser transportados al Núcleo Pailones. El registro de datos morfométricos en esta estación se realizó conjuntamente con el personal del CENIAC.

En el Núcleo Pailones que se desarrolló en el proyecto de Acuicultura del IASA se adecuó y desinfectó cinco estanques, cada estanque fue dividido en 8 espacios con alambre en los cuales se colocó una canasta para alojar de forma independiente a las familias (Figura 18). Las canastas fueron etiquetadas con el número de familia, número de madre y número de padre.

Para el transporte, los alevines de las 39 Familias fueron colocados en fundas de polietileno llenadas a 1/3 de su capacidad con agua y a 2/3 con oxígeno a presión, selladas y etiquetadas con el número de la familia. En el Núcleo Pailones, los alevines fueron aclimatados durante diez minutos y depositados dentro de la canasta correspondiente (Figura 17). Previo al transporte se descartaron a las familias que presentaron mayor mortalidad y menor ganancia de peso.



Figura 17 Transporte y aclimatización de Familias F1 de Trucha Arco Iris en el Núcleo Pailones

La fase de alevinaje terminó cuando los individuos de cada familia alcanzaron un peso promedio de 10 g. Durante esta etapa se llevó un registro del peso y longitud de los individuos de las familias cada diez días. Una vez alcanzado el peso deseado se escogieron a las familias F1 de Trucha Arco Iris que mostraron valores promedio superiores para variables comerciales y bio-productivas.



Figura 18 Familias F1 de Trucha Arco Iris en las instalaciones del Núcleo Pailones y en el Núcleo Papallacta

3.4 Análisis de datos

3.4.1 Determinación de la variabilidad genética (Fase de laboratorio)

Los datos obtenidos a partir del software Bioinformático Quantity One™ (BioRad, USA), fueron tabulados y analizados en los Softwares bioinformáticos Cervus 3.0 y GenALEx 6.5. Las variables evaluadas para estimar la variabilidad genética fueron las siguientes:

3.4.1.1 Número de alelos

El número de alelos se obtuvo a partir del número de observaciones o genotipos presentes en la población para cada locus. El número de alelos efectivos hace referencia a los alelos con capacidad de pasar a la siguiente generación.

3.4.1.2 Frecuencias alélicas

Las frecuencias alélicas se obtuvieron de la división entre el número de veces que se presentó un alelo para el número total de alelos en la población.

3.4.1.3 Heterocigosidad

La heterocigosidad total u observada se calculó a partir de la frecuencia de individuos heterocigotos en la población, usando la siguiente ecuación:

$$H_o = \frac{N^o \text{ de genotipos heterocigotos}}{N^o \text{ total de genotipos}}$$

La heterocigosis esperada o diversidad genética se calculó a partir de la probabilidad de que dos alelos escogidos al azar sean diferentes, usando la siguiente ecuación:

$$H_{exp} = 1 - \sum q_i^2 = 1 - (qa^2 + qb^2 + qc^2 + \dots + qk^2)$$

Donde:

- q = Frecuencia alélica de cada alelo en un loci.

3.4.1.4 Contenido de Información Polimórfica

El contenido de información polimórfica (PIC) se usó para evaluar la capacidad de discriminación y la calidad (polimorfismo) de los microsatelites. Su valor fluctuó entre 0 y 1, indicando un mayor nivel de polimorfismo cuando el valor fue más cercano a 1. PIC es una medida de la informatividad de un marcador genético, que depende del número de alelos para ese locus y de sus frecuencias relativas.

3.4.1.5 Equilibrio Hardy-Weimberg

El equilibrio poblacional de Hardy-Weinberg se calculó a partir de la relación entre la heterocigosis esperada y la observada (coeficiente de endogamia F_{IS}) a partir de la siguiente formula:

$$F_{IS} = \frac{H_E - H_O}{H_E}$$

El coeficiente de endogamia mide la reducción en la heterocigosidad individual debido a las desviaciones de los cruzamientos al azar. El valor del coeficiente de endogamia F_{IS} fluctúa entre 1 y -1, el valor 0 indica que la población se encuentra en equilibrio de H-W para ese locus y que no hay consanguinidad, un valor positivo indica que hay un exceso de homocigotos y un valor negativo un exceso de heterocigotos.

3.4.2 Selección de familias F1 de Trucha Arco Iris (Fase de campo)

Se realizó un análisis de varianza (estadística descriptiva) para identificar si las familias tenían un efecto significativo para cada una de las variables evaluadas durante la etapa de alevinaje. Dado que las variables no cumplieron con los parámetros de homocedasticidad y normalidad se usó un análisis de la varianza no paramétrica denominada Kruskal-Wallis al 0,05%, calculando promedios y desviaciones estándar.

La selección inter-familiar se realizó a través de análisis de conglomerados de Cluster (Average linkage; Distancia: *Euclidea*) con la finalidad de agrupar a las familias de acuerdo a valores promedio homogéneos para las variables comerciales y productivas evaluadas. La interpretación de este análisis se realizó por medio de dendogramas y análisis de la varianza multivariada (Hotelling 0.05%), usando el programa InfoStat.

Las variables o parámetros evaluados fueron los siguientes:

3.4.2.1 Peso y longitud

Se seleccionaron al azar 20 alevines por familia, los mismos que fueron anestesiados por inmersión temporal en una solución con Eugenol, primero se midieron y pesaron 10 y posteriormente los otros 10 para obtener dos repeticiones por familias. El peso y la longitud fueron variables que se tomaron a los 0, 20, 50, 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días.

3.4.2.2 Índice de condición corporal o índice de Fulton K

La fórmula para calcular el Índice de Condición Corporal (ICC) se utilizó la siguiente forma:

$$ICC = \frac{\textit{peso}}{\textit{longitud}^3} * 100$$

3.4.2.3 Tasa de crecimiento específico

La fórmula para calcular la Tasa de Crecimiento Específico (TCE) se utilizó la siguiente forma:

$$TCE \% = \frac{\ln(\textit{peso final}) - \ln(\textit{peso inicial})}{t(\textit{días})} * 100\%$$

3.4.2.4 Tasa de mortalidad

Para calcular la tasa de malformaciones se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \textit{mortalidad} = \frac{\# \textit{alevines muertos}}{\# \textit{total de alevines por familia}} * 100\%$$

La mortalidad se registró en el Proyecto Pailones cada diez días.

3.4.2.5 Tasa de malformaciones

Para calcular el porcentaje de malformaciones se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ malformidad} = \frac{\# \text{ alevines deformes}}{\# \text{ total de alevines por familia}} * 100\%$$

El número de individuos deformes se contabilizó una vez que todos los alevines empezaron a comer.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinación de la variabilidad genética – Fase de laboratorio

3.1.1 Extracción y evaluación de ADN

La extracción de ADN genómico se realizó a partir de muestras biológicas tomadas de la aleta caudal (1 cm²) de 80 reproductores de Trucha Arco Iris y su producto fue validado mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1%. En la Figura 19 se muestra el ADN genómico de 12 reproductores seleccionados de Trucha Arco Iris.

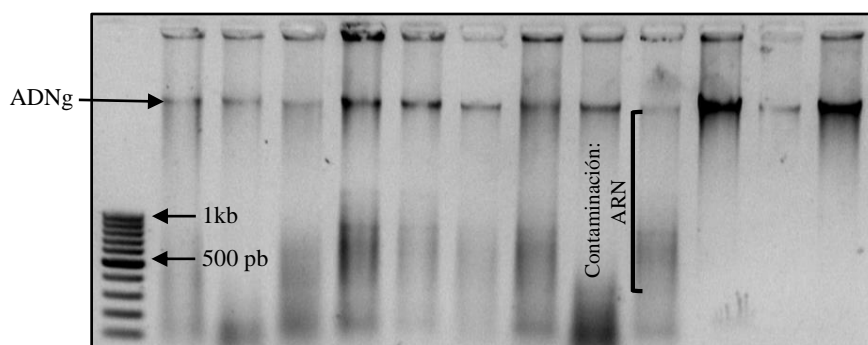


Figura 19 Electroforesis en agarosa 1% de muestras con ADN genómico extraído a partir de muestras de aleta caudal

Como se indica en la Figura anterior, el ADN extraído fue superior a 1kb y de alta calidad. De igual forma las bandas presentaron una intensidad adecuada, dado que la cantidad de muestra usada fue diferente para cada reproductor (Peso seco: 0.25 g±0.04).

Con la finalidad de evaluar la calidad y cantidad de ADN extraído se realizaron amplificaciones de los marcadores universales ITS y su producto fue validado mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1.2 %.

En la Figura 20 se evidencia que el ADN extraído amplificó para el marcador universal ITS, en donde el fragmento obtenido se encontró en un tamaño entre 1400 a 1500 pb. Este resultado

concuera con White *et al* (1990), quien obtuvo un tamaño de banda de 1400 pb en individuos de Trucha Arco Iris.

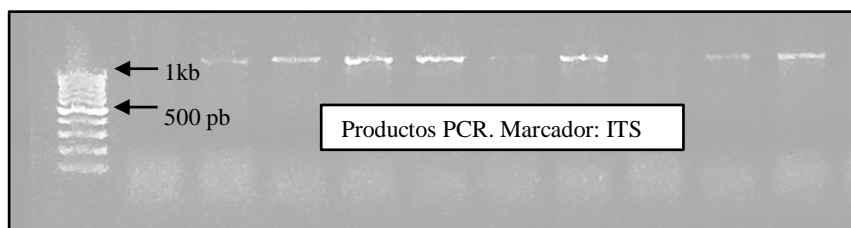


Figura 20 Electroforesis en agarosa 1,2% de productos de PCR con el marcador ITS a partir de DNA genómico

Según se observa en la Figura anterior, la amplificación de los marcadores ITS demostró que el ADN extraído fue de buena calidad y que la cantidad usada (1µl) fue suficiente para la técnica PCR. Coincidiendo con Estoup *et al.* (1998), este autor usó 1 µl de ADN para amplificaciones de marcadores microsatélites.

3.1.2 Validación de primers y PCR

En la Figura 21 se muestran las amplificaciones de los primers seleccionados y validados mediante electroforesis horizontal al 1.2%.

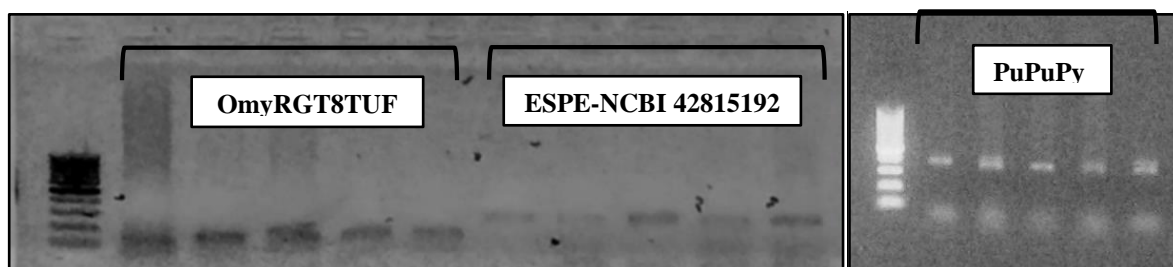


Figura 21 Electroforesis horizontal al 1.2% para ensayos PCR (Marcador: OmyRGT8TUF, ESPE-NCBI 42815192 y PuPuPy)

En la Figura anterior se observa una correcta amplificación de los microsatélites ESPE-NCBI 42815192, OmyRGT8TUF y Pupupy, con las condiciones y concentraciones de PCR estandarizadas en el Laboratorio de Biotecnología, IASA. También se evidenció la ausencia de productos inespecíficos y de contaminación.

No se evidenció amplificación de los productos PCR para los microsatélites Str2IRNA y OmyRGT7TUF siendo la causa más probable errores en las condiciones y concentraciones propuestas, estos marcadores fueron descartados.

3.1.3 Genotipaje

Esta técnica fue validada usando electroforesis vertical en geles no denaturantes de poliacrilamida al 6%, cuyo resultado mostró la presencia de bandas de diferente peso molecular. Los tamaños de banda fueron calculados en el Software Bioinformático Quantity One, a una tolerancia del 3% (± 5 pb) de diferencia de tamaño entre alelos (Anexo 1). En la Figura 22 se indica el tamaño de los alelos para los microsatélites ESPE-NCBI 42815192, OmyRGT8TUF y PuPuPy.

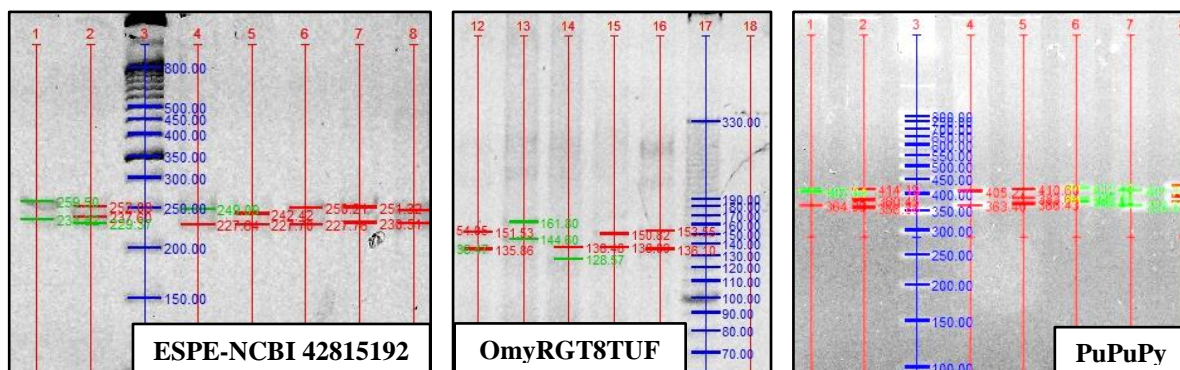


Figura 22 Electroforesis vertical en geles de poliacrilamida 6% para validar los microsatélites ESPE-NCBI 42815192, Pupupy y OmyRGT8TUF

Según la Figura anterior, para el Microsatélite ESPE-NCBI 42815192 los tamaños de banda se encontraron en un rango de 216 a 283 pb, para el *OmyRGT8TUF* entre 126 a 189 pb y para el Pupupy entre 355 y 541 pb. Estos resultados indican que la técnica de genotipaje usada en la presente investigación es adecuada, evidenciándose que los tamaños de banda calculados fueron similares a los descritos por Ortiz *et al.* (2008), Ozaki *et al.* (1999), Morris *et al.* (1996) y Ward *et al.* (2003) en estudios relacionados a los microsatélites seleccionados.

3.1.3.1 Frecuencias alélicas

Los resultados del tamaño y las frecuencias de alelos para los tres microsatélites se indican en la Figura 23.

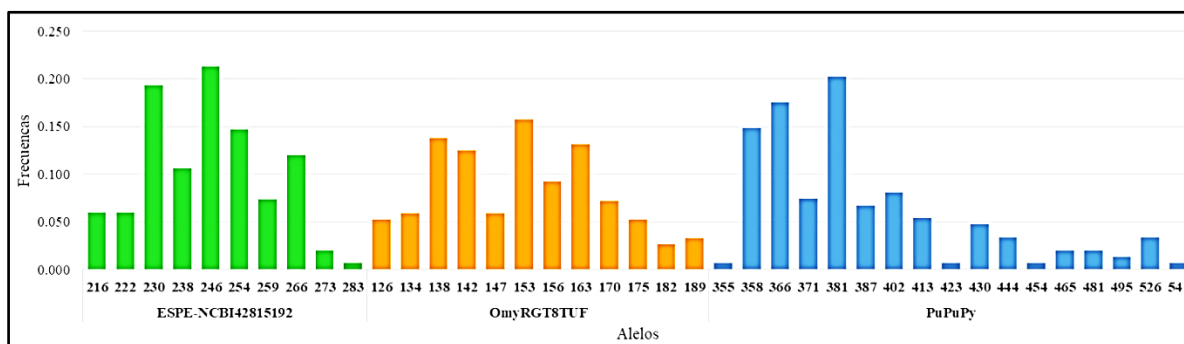


Figura 23 Frecuencia de alelos para los Microsatélites ESPE-NCBI 42815192, OmyRGT8TUF y PuPuPy

Para el marcador ESPE-NCBI 42815192 se encontraron 10 alelos con tamaños de banda entre 216 y 283 pb. Estos tamaños de banda fueron similares a los descritos por Ortiz *et al.* (2008), quien encontró 4 alelos en un rango entre 139 y 267 pb. Los alelos 246 y 230 fueron los más abundantes dentro de la población de Trucha Arco Iris, con una frecuencia alélica de 0.213 y 0.193, respectivamente. Mientras que los alelos 273 y 283 se encontraron en menor cantidad con una frecuencia alélica de 0.020 y 0.007, respectivamente.

En el marcador OmyRGT8TUF se encontraron 12 alelos con tamaños de banda entre 126 y 189 pb. Estos tamaños de banda fueron similares a los descritos por Ozaki *et al.* (1999), en la misma especie, quien obtuvo 8 alelos con tamaños de banda entre 104 y 145 pb. Los alelos 153 y 138 fueron los más abundantes dentro de esta población, con una frecuencia alélica de 0.158 y 0.138, respectivamente. Mientras que los alelos 189 y 182 se encontraron en menor cantidad con una frecuencia alélica de 0.033 y 0.026 para cada uno.

Para el marcador PuPuPy se encontraron 17 alelos con tamaños de banda entre 335 y 541 pb. Estos tamaños de banda de los alelos encontrados fueron similares a los descritos por Morris *et al.* (1996) y Ward *et al.* (2003), quienes encontraron ocho alelos con tamaños de banda entre 358 y 394 pb y seis alelos con tamaños de banda entre 359 y 389 pb. Los alelos 381 y 366 fueron los más abundantes dentro de esta población, con una frecuencia alélica de 0.203 y 0.176, respectivamente. Mientras que los alelos 355, 423, 454 y 541 se encontraron en menor cantidad con una frecuencia alélica de 0.07 para cada uno. El número de alelos registrados en la presente investigación fue mayor al número de alelos encontrados para los tres loci, debido a que la variabilidad genética entre individuos y poblaciones es diferente.

3.1.3.2 Variabilidad genética

Los parámetros evaluados para determinar el nivel de variabilidad genética de la población de reproductores de Trucha Arco iris fueron obtenidos a partir del uso de los Software bioinformáticos Cervus 3.0 y GenALEx 6.5. En la Tabla 10 se indican los parámetros evaluados para cada microsatélite (ESPE-NCBI 42815192, OmyRGT8TUF y PuPuPy) y una media para los tres marcadores.

Tabla 10

Parámetros de variabilidad genética para la población de reproductores de Trucha Arco Iris

Microsatélite	N	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis	HWE
ESPE-NCBI 42815192	75	10	6.983	0.667	0.857	0.841	0.222	***
OmyRGT8TUF	76	12	9.523	1.000	0.895	0.886	-0.117	**
Pupupy	74	17	8.379	0.838	0.881	0.870	0.049	*
Media	75	13	8.295	0.835	0.877	0.866	0.051	

N: número de muestras; Na: número de alelos; Ne: número de alelos efectivo; Ho: heterocigosidad esperada; He: heterocigosidad observada; PIC: contenido de información polimórfica; Fis: índice de consanguinidad; H-W: Equilibrio Hardy – Weinberg

Como se indica en la Tabla anterior, al genotipar el 93.75% de la población se obtuvo un total de 39 alelos, con un promedio de 13 alelos por locus. El microsatelite PuPuPy presentó el mayor

número de alelos (17 alelos), seguido por el OmyRGT8TUF (12 alelos) y el ESPE-NCBI 42815192 (10 alelos). Estos resultados indican que la población de reproductores del CENIAC es polimórfica con respecto a los 3 loci. Mientras que el número efectivo de alelos para los microsatélites ESPE-NCBI 42815192, OmyRGT8TUF y PuPuPy fue de 7, 9 y 8 alelos, respectivamente, con un promedio de 8 alelos por locus.

El alto número de alelos registrado coincidió con heterocigosidades altas, según la Tabla 10 la heterocigosidad fue superior para el microsatélite OmyRGT8TUF (0.985), seguido por ESPE-NCBI 42815192 (0.857) y por el PuPuPy (0.881). La heterocigosidad media fue de 0.877, indicando que la población de reproductores del CENIAC tiene una variabilidad genética alta. La heterocigosidad registrada en la presente investigación fue superior a la encontrada por Ozaki *et al.* (1999) y por Estoup *et al.* (1998), quienes determinaron una heterocigosidad de 0.795 y 0.81 en poblaciones de Trucha Arco Iris bajo condiciones de cautiverio.

En la Tabla 10 se indica que el valor del PIC fue de 0.841 para el marcador ESPE-NCBI 42815192, de 0.886 para OmyRGT8TUF y de 0.870 para PuPuPy. El PIC medio fue de 0.866, evidenciando que los microsatélites usados en la presente investigación fueron altamente polimórficos e informativos ($PIC > 0,5$) con un alto poder de discriminación. El PIC registrado fue mayor al encontrado por Ozaki *et al.* (1999) y Estoup *et al.* (1998), quienes señalan un PIC de 0.79 (OmyRGT8TUF) y de 0.83 (PuPuPy) en poblaciones de Trucha Arco Iris bajo condiciones de cautiverio.

El Coeficiente de endogamia (Fis) fue calculado a partir de las heterocigosidades esperadas y observadas considerando que valores cercanos a -1 indican un exceso de heterocigotos y valores cercanos a 1 un déficit de heterocigotos. El Coeficiente de endogamia fue de -0.117 para el microsatélite OmyRGT8TUF, de 0.222 para el ESPE-NCBI 42815192 y de 0.049 para el PuPuPy.

El valor medio fue de 0.051, este valor indicó una ligera reducción de heterocigotos (bajo nivel de endogamia) en la población actual de reproductores de Trucha Arco Iris.

En base al Coeficiente de endogamia se calcularon las probabilidades para el Equilibrio de Hardy – Weinberg encontrándose desviaciones significativas ($p < 0.05$) para los tres microsatélites. Esto evidenció que la población de reproductores de Trucha Arco Iris del CENIAC presenta ligeras pérdidas en la variabilidad genética. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Estoup *et al.* (1998), quien al analizar poblaciones en cautiverio de Trucha Arco Iris determinó que de los 8 microsatélites usados para determinar variabilidad genética, 7 determinaron que la población no se encuentra dentro del Equilibrio Hardy – Weinberg.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la población de reproductores del CENIAC no se encuentra en Equilibrio de Hardy – Weinberg mostrando que los sistemas de cruzamiento implementados están dentro del límite máximo permisible de endogamia, lo que evidencia un aumento en el nivel de parentesco entre los individuos debido a altas intensidades de selección. La Allendorf & Phelps (2011), señalan que los cruzamientos entre individuos emparentados provocan reducciones en el tamaño efectivo de la población, ocasionando a largo plazo reducción en la variabilidad genética (efectos fundadores) y deriva genética (cuellos de botella).

Según Ward (2003), las desviaciones del Equilibrio Hardy – Weinberg pueden ser atribuibles a factores como la endogamia, la mezcla de poblaciones (efecto Wahlund), la presencia de alelos no expresados o nulos por errores en el genotipado o el reducido número de muestras evaluadas. Uvigo (2004) menciona que el Equilibrio Hardy – Weinberg es un modelo útil, pero es importante considerar que incluso en la naturaleza muchas poblaciones no se encuentran bajo este equilibrio.

Estos resultados contribuyen a la información básica para el establecimiento del programa de mejora genética en el CENIAC, Papallacta dado que la población actual de reproductores de Trucha Arco Iris tiene un componente importante de variabilidad genética.

3.2 Selección de reproductores de Trucha Arco Iris y sistemas de cruzamiento - Fase de campo

3.2.1 Selección de reproductores y sistemas de cruzamientos

El índice de condición corporal (ICC) y el estado de madurez sexual fueron los parámetros evaluados para la selección de los reproductores usados en el programa de mejora genética en Trucha Arco Iris.

En la Tabla 11, se encuentran los valores para el ICC analizado en 19 machos y 50 hembras de Trucha Arco Iris. El ICC para las hembras se mantuvo en el rango de 1.02 a 1.45, con un promedio de 1.19 y desviación estándar de 0.10; mientras que para los machos los valores se mantuvieron en el rango de 1,09 a 1.27 con un promedio de 1.12 y desviación estándar de 0.08.

Tabla 11

Medidas de dispersión para el ICC de los reproductores de Trucha Arco Iris

Medidas de dispersión	ICC Machos	ICC Hembras
N	19	50
Promedio	1.12	1.19
Desviación estándar	0.08	0.10
CV (%)	7.26	8.07
Rango de variación (Min - Máx)	1.01 – 1.27	1.02 -1.45

El ICC está influenciado por la edad de los peces, el sexo, la estación del año, la etapa de maduración, el tipo de alimento, la cantidad de alimento ingerido, la cantidad de reserva de grasa y el grado de desarrollo muscular. En la Tabla 12 se encuentran enlistados los estándares o puntos de referencia para valorar el ICC en Trucha Arco Iris.

Tabla 12
Estándares del ICC para Trucha Arco Iris

Estándar	Valor K	Apariencia física
1	1.6	Excelente condición, pez clase trofeo.
2	1.4	Un buen pez bien proporcionado.
3	1.2	Un pez justo, de condición aceptable para muchos pescadores.
4	1.0	Un pez pobre, largo y delgado.
5	0.8	Pez extremadamente pobre, parecido a una barracouta; cabeza grande y cuerpo estrecho y delgado.

Fuente: (Barnham & Baxter, 2003)

Según los estándares propuestos por Barnham & Baxter (2003), en la presente investigación el ICC promedio de los reproductores seleccionados se ajustó al estándar 3 que agrupa a “peces justos, aceptables para muchos pescadores”

De igual manera se seleccionaron hembras en estadio de madurez sexual 3, de las cuales 9 se desovaron el mismo día de la selección y al resto se les inyectó 0,5 ml de GnRH por kilogramo de peso vivo vía intraperitoneal a lo largo de la línea central, con la finalidad de sincronizar desoves. En la Tabla 13 se observa el número de hembras desovadas a los 7 y 14 días después de la aplicación de GhRH, evidenciándose que se sincronizó el mayor número de desoves a los 14 días después de la aplicación de la hormona.

Tabla 13
Respuesta a la aplicación de hormona GnRH para la sincronización de desoves en hembras de Trucha Arco Iris

Fechas	Número de individuos
Inducción hormonal (GnRH 0,5 ml/kg de peso vivo)	50 Hembras inyectadas
7 días después de la aplicación	15 hembras desovadas
14 días después de la aplicación	26 hembras desovadas

El uso de la GnRH aplicada poco antes de la maduración final de los peces demostró ser de mucha utilidad para la sincronización de desoves, coincidiendo con la investigación realizada por Estay *et al.* (1996) y Rivera (2017), quienes comprobaron la respuesta hormonal en Truchas Arco

Iris inyectadas con GnRH análoga, midiendo la producción de GtH II y la respuesta ovulatoria, la que se anticipó en 15 días respecto a los peces control sin tratar.

Para llevar un registro adecuado de genealogía, los reproductores seleccionados fueron etiquetados con tags de plástico colocados en la aleta dorsal. Este tipo de marcaje externo fue de mucha utilidad para el registro de datos; sin embargo, algunas identificaciones se perdieron dado que el tamaño del tag hizo a los reproductores vulnerables a predación. Los inconvenientes principales que tienen este tipo de marcas son, por un lado, la tendencia a recubrirse de algas y, por otro, pueden limitar el crecimiento de la aleta, inconvenientes observados también en la presente investigación (Rodríguez, 2004).

Con los reproductores seleccionados y etiquetados se establecieron 17 grupos de cruzamiento para formar familias de hermanos completos y medios hermanos, en una relación macho hembra de 1:2, 1:3 o 1:4 y se obtuvieron 50 familias. En la Tabla 14 se muestra el total de alevines obtenidos por familias F1 de Trucha Arco Iris.

Tabla 14
Sistemas de cruzamientos para la obtención de familias

N° Familia	Macho	Hembra	Relación (M/H)	Cruzamiento	N° alevines
F1	M1	K9221		VIABLE	1626
F2	M1	K1721	1:3	VIABLE	875
F3	M1	K8021		VIABLE	450
F4	K3221	46	1:2	VIABLE	292
F5	K3221	K1021		VIABLE	249
F6	k4321	43		VIABLE	585
F7	k4321	K7421	1:4	VIABLE	1651
F8	k4321	H9		VIABLE	337
F9	k4321	k721		VIABLE	521
F10	k7521	k8621	1:1	VIABLE	1531
F11	k2921	30		VIABLE	1422
F12	k2921	H15	1:4	VIABLE	1099
F13	k2921	H16		VIABLE	1548
F14	k2921	K4821		VIABLE	1476
F15	M6	H18	1:2	VIABLE	910
F16	M6	H19		VIABLE	738
F17	M7	H22	1:4	VIABLE	186
F18	M7	H23		VIABLE	600
F19	M7	H24		VIABLE	500
F20	M7	H28		VIABLE	1176
F21	M8	H25	1:3	NO VIABLE	-
F22	M8	H26		VIABLE	309
F23	M8	H27		VIABLE	1536
F24	k2121	k2421	1:2	VIABLE	579
F25	k2121	26		VIABLE	865
F26	k7321	k8221	1:1	VIABLE	141
F27	k5221	k17521	1:3	VIABLE	251
F28	k5221	k18621		VIABLE	843
F29	k5221	k19021		VIABLE	579
F30	k15121	k17421	1:4	VIABLE	401
F31	k15121	k18821		VIABLE	769
F32	k15121	k10021		VIABLE	679

CONTINÚA ➡

F33	k15121	k9921		VIABLE	545
F17	M7	H22	1:4	VIABLE	186
F18	M7	H23		VIABLE	600
F19	M7	H24		VIABLE	500
F20	M7	H28		VIABLE	1176
F21	M8	H25	1:3	NO VIABLE	-
F22	M8	H26		VIABLE	309
F23	M8	H27		VIABLE	1536
F24	k2121	k2421	1:2	VIABLE	579
F25	k2121	26		VIABLE	865
F26	k7321	k8221	1:1	VIABLE	141
F27	k5221	k17521	1:3	VIABLE	251
F28	k5221	k18621		VIABLE	843
F29	k5221	k19021		VIABLE	579
F30	k15121	k17421	1:4	VIABLE	401
F31	k15121	k18821		VIABLE	769
F32	k15121	k10021		VIABLE	679
F33	k15121	k9921		VIABLE	545
F34	k15921	k8121		NO VIABLE	-
F35	k15921	k18321		VIABLE	150
F36	k16621	k7721	1:2	VIABLE	664
F37	k16621	k18521		NO VIABLE	-
F38	k5921	k7621	1:2	VIABLE	619
F39	k5921	k15821		VIABLE	685
F40	39	k6421	1:3	VIABLE	489
F41	39	k6221		VIABLE	390
F42	39	k17121		VIABLE	399
F43	k8621	k6121	1:3	VIABLE	609
F44	k8621	k17021		NO VIABLE	-
F45	k8621	k17821		VIABLE	220
F46	k7121	k8521	1:3	VIABLE	483
F47	k7121	k6321		VIABLE	583
F48	k7121	k5321		VIABLE	447
F49	25	k5721	1:2	VIABLE	395
F50	25	k6021		VIABLE	481

De los 50 cruzamientos realizados entre los reproductores de Trucha Arco Iris, 46 resultaron viables. Las familias F21 y F44 fueron descartadas por su bajo porcentaje de fertilidad, 10 y 14% respectivamente. La causa más común de infertilidad en ovas son las malas prácticas durante la extracción de los gametos, aplicar demasiada presión en la zona abdominal provoca un rompimiento en la ova y la yema contamina al huevo inhibiendo su fertilidad (Dueñas, 2006). Otra de las causas comunes es la edad de la hembras, mientras más longeva es se reduce el grado de fertilidad.

Las familias F34 y F37 fueron descartadas por su alto porcentaje de mortalidad durante la etapa de incubación, 95 y 98% respectivamente. Indica que las altas mortalidades durante la etapa de incubación pueden deberse a óvulos no fertilizadas, a la mala calidad de los huevos o sobre maduración de los mismos, al semen de pobre calidad, causas externas y otras.

En Trucha Arco Iris se han implementado alrededor de 13 programas de mejora genética con un número mínimo de 206 familias por generación, un programa de mejora desarrollado en Noruega incluyó 120 familias con el objetivo de mejorar la tasa de crecimiento específico, la edad a la maduración sexual, la resistencia a enfermedades y la calidad de la carne (Gjerde & Shaeffer, 1999). Debido a limitaciones de espacio físico e infraestructura, en la presente investigación se hizo necesario trabajar con un número reducido de familias pero estadísticamente representativo. Según Gallego (2010), resultó óptimo trabajar con mínimo 45 familias en programas de mejora genética desarrollados a pequeña escala.

Las familias F1, F7, F10, F11, F12, F13, F14, F20, y F23 mostraron mayor % de eclosión, pero del total de alevines eclosionados por familia se seleccionaron 200 y la etapa de alevinaje se desarrolló bajo dos condiciones ambientales tanto en el Núcleo Pailones como en el Núcleo Papallacta. Coincidiendo con un programa de mejora genética desarrollado en Noruega, en el

cuál las familias de Trucha Arco Iris fueron criadas bajo distintas condiciones ambientales de manejo (producción y reproducción) denominadas núcleos con la finalidad de asegurar una mayor protección frente a catástrofes, cubrir un rango más amplio de sistemas de producción y permitir realizar la selección con distintos objetivos (Gjerde & Shaeffer, 1999).

3.2.2 Registro de datos de las familias F1 de Trucha Arco Iris

Se creó una base de datos para tener un registro genealógico de las familias F1 de Trucha Arco Iris (Anexo 2). En la Tabla 15 se enlistan las variables de tipo cualitativo y cuantitativo evaluadas durante toda la ejecución del programa de mejora genética en el Núcleo Papallacta y en el Núcleo Pailones.

Tabla 15

Variables de tipo cualitativo y cuantitativo tomadas durante toda la ejecución del programa de mejoramiento genético en Trucha Arco Iris

Reproductores	Incubación	Alevinaje (por familia)
Cepa/Línea	Número de cruce y fecha de desove	Fecha primera alimentación
Lote	Peso ovas total e individual	Número de familia
Código de identificación	Diámetro de ovas / Tasa de fertilidad	Tasa de mortalidad
Peso y longitud	# ovas esperado	Tasa de malformaciones
ICC (machos y hembras)	Tasa de mortalidad ovas	Peso
Fecundidad absoluta	Fecha de siembra ovas (punto de ojo) y eclosión	Longitud
Fecundidad relativa	# alevines aproximado y real	Tasa de crecimiento específico
		Índice de condición corporal

3.2.3 Selección de familias F1 de Trucha Arco Iris

3.2.3.1 Análisis de los parámetros morfométricos y productivos.

Antes de seleccionar las familias F1 de Trucha Arco Iris se evaluaron de manera independiente los parámetros morfométricos y productivos tomados durante la etapa de alevinaje.

3.2.3.1.1 Peso

El peso de las familias F1 de Trucha Arco Iris fue tomado a los 0, 20, 50, 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días (Anexo 3). Según la prueba estadística de comparación de medias (Kruskal Wallis, 0.05%), en la Tabla 16 se indica que las familias de F1 de Trucha Arco Iris presentaron un efecto significativo sobre la ganancia de peso tomado durante la etapa de alevinaje ($p < 0,05$).

Tabla 16

Media \pm desviación estándar del peso a los 0, 20, 50, 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días de las familias de Trucha Arco Iris

Peso	Media \pm desviación estándar	<i>p</i>-valor
T ₀	0.14 \pm 0.03	0.0091**
T ₂₀	0.25 \pm 0.05	0.0013**
T ₅₀	0.49 \pm 0.09	0.0018**
T ₁₂₀	3.14 \pm 0.49	0.0012**
T ₁₃₀	3.75 \pm 0.41	0.0071**
T ₁₄₀	4.09 \pm 0.46	0.0023**
T ₁₅₀	5.4 \pm 0.62	0.0056**
T ₁₆₀	6.06 \pm 0.65	0.0117*
T ₁₇₀	7.33 \pm 0.79	0.011**
T ₁₈₀	11.23 \pm 1.3	0.0033*

* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0.001$ **** $p \leq 0,0001$ n.s. no significativo

De acuerdo a la Tabla anterior, a los 180 días las familias alcanzaron un peso promedio de 11,23 gramos, indicando la finalización de la etapa de alevinaje. Con la finalidad de evaluar los datos de peso obtenidos en la presente investigación, se calcularon los pesos esperados o teóricos de las familias de Trucha Arco Iris de acuerdo al número de alevines, la temperatura del agua y a las raciones alimenticias. En la Tabla 17 se muestra el peso esperado y el peso real de las familias durante la etapa de alevinaje.

Tabla 17

Peso promedio esperado y real de las Familias de Trucha Arco Iris durante la fase de alevinaje

Fecha	Ubicación	Días	Peso esperado (g)	Peso real (g)
13-ago	CENIAC	0	0.14	0.14
23-ago	CENIAC	10	0.20	0.18
02-sep	CENIAC	20	0.29	0.25
12-sep	CENIAC	30	0.43	0.32
22-sep	CENIAC	40	0.62	0.43
02-oct	CENIAC	50	0.90	0.49
12-oct	CENIAC	60	1.21	0.89
22-oct	CENIAC	70	1.64	1.09
01-nov	CENIAC	80	2.21	1.28
11-nov	CENIAC	90	2.80	1.59
21-nov	CENIAC	100	3.56	1.86
01-dic	Pailones	110	4.52	2.57
11-dic	Pailones	120	5.35	3.14
21-dic	Pailones	130	6.59	3.75
31-dic	Pailones	140	8.10	4.09
10-ene	Pailones	150	9.96	5.4
20-ene	Pailones	160	12.26	6.06
30-ene	Pailones	170	15.08	7.33
09-feb	Pailones	180	18.54	11.23

De acuerdo a la información de la Tabla 18, se esperó un peso de 18.54 gramos a los 180 días, pero el valor real fue de 11.23 gramos evidenciándose una diferencia representativa entre el peso esperado y el real. La forma de crecer de una especie como la Trucha Arco Iris no es igual o se ajusta a lo esperado, y varía según las condiciones de temperatura del agua, el tipo de alimentación, la infraestructura y el cuidado que se le dé al manejo del cultivo (FAO, 2014).

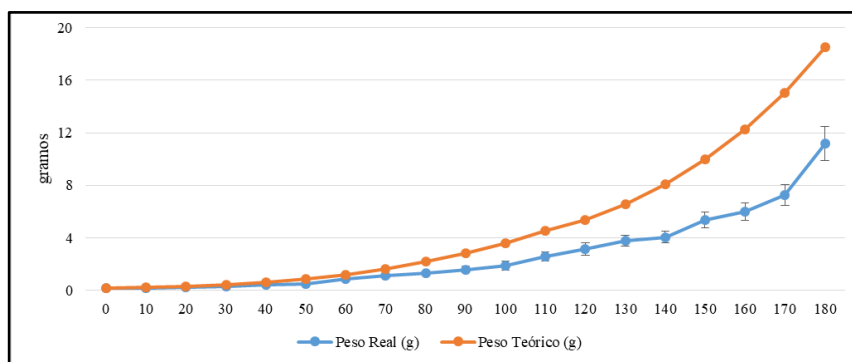


Figura 24 Curvas de crecimiento para el peso promedio real y esperado de las familias F1 de Trucha Arco Iris

Según la Figura 24, la curva de crecimiento obtenida a partir de los datos esperados mostró una tendencia logarítmica normal, mientras que la curva de crecimiento a partir de los datos reales no se ajustó a lo esperado en Trucha Arco Iris. Las diferencias entre el ritmo de crecimiento esperado y real fueron más notables a partir del traslado de las familias del Núcleo Papallacta al Núcleo Pailones, pero a partir del día 170 al 180 el crecimiento aumentó considerablemente.

Las diferencias ambientales, nutricionales y de manejo de ambos núcleos provocaron niveles de estrés elevados sobre los mecanismos homeostáticos o reguladores de la fisiología orgánica, situación que desencadenó diferentes reacciones compensatorias o de ajuste a las nuevas condiciones (periodo de aclimatización).

Los datos obtenidos en la presente investigación concuerdan con los estudios realizados por Jentoff *et al.* (2005), quienes mencionan que bajo condiciones de estrés (hacinamiento) se registró una diferencia de peso del 22.8% en comparación al grupo control. De igual forma Pickering *et al.* (1991), menciona que el estrés ocasionado por los bajos niveles de oxigenación provocó una reducción significativa en la concentración de la hormona de crecimiento circulante.

El cambio de temperatura también provocó efectos en el ritmo de crecimiento de los alevines, la temperatura del agua fue de 8°C en el Núcleo Papallacta y 12°C en el Núcleo Pailones. Según la FAO (2014), la temperatura del agua es muy importante porque regula el crecimiento de los peces, ya que estos no tienen la capacidad propia para regular su temperatura corporal (poiquiloterms).

3.2.3.1.2 Longitud

La longitud de las familias F1 de Trucha Arco Iris fue tomada a los 0, 20, 50, 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días (Anexo 4). Según la prueba estadística de comparación de medias (Kruskal Wallis, 0.05%), en la Tabla 18 se indica que las familias F1 de Trucha Arco Iris presentaron un efecto significativo sobre la longitud tomada durante la etapa de alevinaje ($p < 0.05$).

Tabla 18

Media \pm desviación estándar de la longitud tomada a los 0, 20, 50, 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris

Longitud	Media \pm desviación estándar	p-valor
T ₀	2.38 \pm 0.37	0.0536n.s
T ₂₀	2.98 \pm 0.50	0.0384*
T ₅₀	3.75 \pm 0.44	0.0193*
T ₁₂₀	6.20 \pm 0.37	0.0021**
T ₁₃₀	6.79 \pm 0.29	0.0067**
T ₁₄₀	7.13 \pm 0.30	0.0025**
T ₁₅₀	7.74 \pm 0.30	0.0190*
T ₁₆₀	8.24 \pm 0.33	0.0042**
T ₁₇₀	8.84 \pm 0.35	0.0148*
T ₁₈₀	9.86 \pm 0.40	0.0058**

* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$ **** $p \leq 0,0001$ n.s. no significativo

De acuerdo a la Tabla anterior, cuando finalizó la etapa de alevinaje las familias alcanzaron una longitud promedio de 9.86 cm. Con la finalidad de evaluar los datos de longitud obtenidos

en la presente investigación, se calcularon las longitudes esperadas o teóricas tomadas de la Tabla de relación entre la longitud y el peso en ejemplares de Trucha Arco Iris propuestos por la FAO (2016). En la Tabla 19 se evidenció que la longitud real no incrementó de acuerdo a la esperada durante la etapa de alevinaje.

Tabla 19

Longitudes promedio esperadas y reales de las Familias de Trucha Arco Iris durante la fase de alevinaje

Fecha	Ubicación	Días	Longitud real (cm)	Longitud esperada (cm)
13-ago	CENIAC	0	2.38	2.00
23-ago	CENIAC	10	2.72	2.25
02-sep	CENIAC	20	2.98	2.75
12-sep	CENIAC	30	3.12	3.00
22-sep	CENIAC	40	3.56	3.50
02-oct	CENIAC	50	3.75	4.00
12-oct	CENIAC	60	4.12	4.50
22-oct	CENIAC	70	4.37	4.75
01-nov	CENIAC	80	4.89	5.25
11-nov	CENIAC	90	5.23	5.75
21-nov	CENIAC	100	5.67	6.25
01-dic	Paylones	110	5.93	6.75
11-dic	Paylones	120	6.2	7.25
21-dic	Paylones	130	6.79	7.75
31-dic	Paylones	140	7.13	8.50
10-ene	Paylones	150	7.74	9.00
20-ene	Paylones	160	8.24	9.75
30-ene	Paylones	170	8.84	10.50
09-feb	Paylones	180	9.86	11.25

De acuerdo a la Tabla anterior, se esperó una longitud de 11.25 cm a los 180 días, pero el valor real fue de 9.86 cm, evidenciándose una diferencia representativa entre la longitud esperada y la real. La forma de crecer de una especie como la Trucha Arco Iris no es igual o se ajusta a lo

esperado, y varía según las condiciones de temperatura del agua, el tipo de alimentación, la infraestructura y el cuidado que se le dé al manejo del cultivo (FAO, 2014).

Como se observa en la Figura 25, las diferencias entre la longitud esperada y real fueron más notables a partir del traslado de las familias del Núcleo Papallacta al Núcleo Pailones.

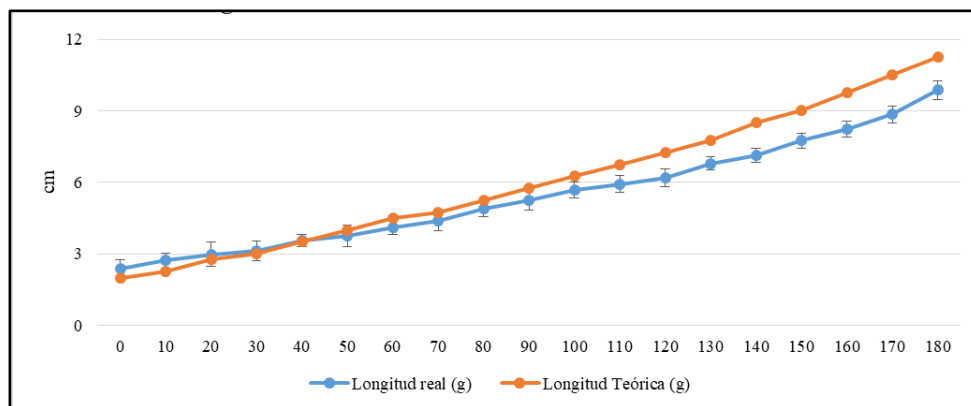


Figura 25 Incremento de la longitud promedio real y teórica de las familias F1 de Trucha Arco Iris

Las diferencias ambientales, nutricionales y de manejo de ambos núcleos provocaron niveles de estrés elevados sobre los mecanismos homeostáticos o reguladores de la fisiología corporal, situación que desencadenó diferentes reacciones compensatorias o de ajuste a las nuevas condiciones (periodo de aclimatización).

Los datos obtenidos en la presente investigación concuerdan con los estudios realizados por Jentoff *et al.* (2005), quienes mencionan que bajo condiciones de estrés (hacinamiento) se registró una diferencia de peso del 22.8% en comparación al grupo control. De igual forma Pickering *et al.* (1991), menciona que el estrés ocasionado por los bajos niveles de oxigenación provocó una reducción significativa en la concentración de la hormona de crecimiento circulante. El cambio de temperatura también provocó efectos en el ritmo de crecimiento (peso y longitud) de los alevines, la temperatura del agua fue de 8°C en el Núcleo Papallacta y 12°C en el Núcleo

Pailones. La temperatura del agua es muy importante porque regula el crecimiento de los peces, ya que estos no tienen la capacidad propia para regular su temperatura corporal (poiquiloterms) (FAO, 2016).

3.2.3.1.3 Índice de condición corporal (ICC)

El ICC de las familias F1 de Trucha Arco Iris fue calculado en el Núcleo Pailones a los 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días (Anexo 5). Según la prueba estadística de comparación de medias (Kruskal Wallis, 0.05%), en la Tabla 20 se indica que las familias F1 de Trucha Arco Iris presentaron un efecto significativo sobre el ICC calculado durante la etapa de alevinaje ($p < 0.05$).

Tabla 20

Media \pm desviación estándar del ICC calculado a los 120, 130, 140, 150, 160, 170 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris

ICC	Media \pm desviación estándar	p-valor
T ₁₂₀	1.32 \pm 0.17	0.0251*
T ₁₃₀	1.20 \pm 0.07	0.1133n.s
T ₁₄₀	1.12 \pm 0.05	0.0544n.s
T ₁₅₀	1.15 \pm 0.08	0.0278*
T ₁₆₀	1.07 \pm 0.06	0.0484*
T ₁₇₀	1.19 \pm 0.08	0.0148*
T ₁₈₀	1.23 \pm 0.08	0.0171*

* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0.001$ **** $p \leq 0,0001$ n.s. no significativo

En base a la Tabla anterior el ICC fue de 1.32, 1,15 y 1.23 a los 120, 150 y 180 días, respectivamente. Según los estándares propuestos por Barnham & Baxter (2003), el ICC promedio de los familias se ajustó al estándar 2 y 3 (Tabla 14) que agrupa a “peces bien proporcionados” y a “peces de condición justa, aceptables para muchos pescadores”.

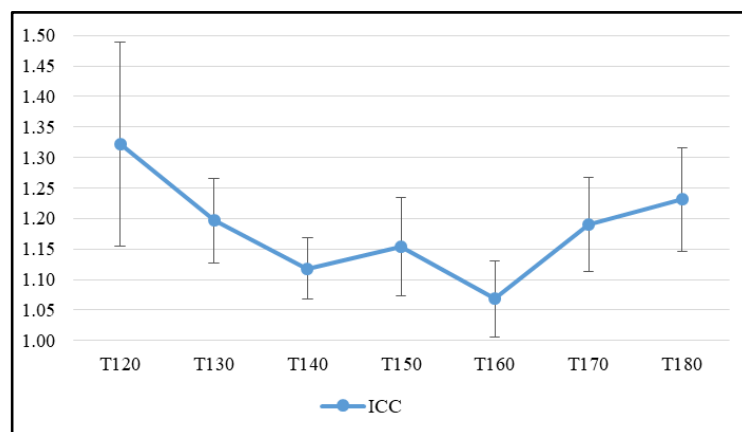


Figura 26 Índice de Condición Corporal de las Familias F1 de Trucha Arco Iris durante la etapa de alevinaje

Como se observa en la Figura 26, el valor más alto para el ICC se obtuvo a los 120 días, cuando los alevines llegaron al Núcleo Pailones. Posterior a ello, se evidenció un descenso del ICC, como consecuencia del estrés causado en los alevines por el transporte y por el cambio de alimentación, infraestructura, calidad de agua y condiciones de manejo. Morales & Quiroz (2004) señalan que los valores para el ICC dependen de la temperatura del ambiente y del agua, de la alimentación y de la eficiencia en el manejo del cultivo. Peters y Schwarzer (2008) informaron un crecimiento significativamente reducido e índices de condición corporal bajos en juveniles de Trucha Arco Iris sometidos a un estrés de manejo diario durante 4 semanas.

Las diferencias ambientales, nutricionales y de manejo de ambos núcleos provocaron niveles de estrés elevados sobre los mecanismos homeostáticos o reguladores de la fisiología corporal, situación que desencadenó diferentes reacciones compensatorias o de ajuste a las nuevas condiciones (periodo de aclimatización). Se evidenció que una vez concluido el periodo de ajuste a las nuevas condiciones el ICC aumentó a partir del día 160 (1.07), siendo mayor a los 180 días (1.23).

3.2.3.1.4 Tasa de crecimiento específico (TCE)

La TCE de las familias F1 de Trucha Arco Iris fue calculado cada diez días en el Núcleo Pailones (Anexo 6). Según la prueba estadística de comparación de medias (Kruskal Wallis, 0.05%), en la Tabla 21 se indica que las familias F1 de Trucha Arco Iris no presentaron un efecto significativo sobre sobre la TCE calculada durante la etapa de alevinaje ($p < 0.05$).

Tabla 21

Media \pm error estándar del calculado TCE del día 120 al 130, del 140 al 150 y del 170 al 180 de las familias F1 de Trucha Arco Iris

TCE	Media \pm error estándar	p-valor
T ₁₂₀₋₁₃₀	1.81 \pm 1.21	0.0144**
T ₁₃₀₋₁₄₀	0.79 \pm 0.84	0.2900n.s.
T ₁₄₀₋₁₅₀	2.79 \pm 0.87	0.1181n.s.
T ₁₅₀₋₁₆₀	1.12 \pm 0.92	0.6234n.s.
T ₁₆₀₋₁₇₀	1.92 \pm 0.82	0.6703n.s.
T ₁₇₀₋₁₈₀	4.33 \pm 0.85	0.3786n.s.

* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$ **** $p \leq 0,0001$ n.s. no significativo

Los resultados anteriores coinciden con los obtenidos por Alyshbaev (2013), este autor no encontró diferencias significativas para la tasa de crecimiento específico entre los grupos de alevines alimentados de manera mínima y óptima ($p = 0.100$, prueba U de Mann-Whitney).

La tasa de crecimiento de los peces depende principalmente de la edad, y de otros factores como la temperatura del agua, la calidad y la cantidad de alimentos. Austreng *et al.* (1986) estableció los estándares para la TCE de acuerdo a la temperatura y a la edad de los ejemplares de Trucha Arco Iris y se realizó una comparación con los valores de la TCE obtenidos en la presente investigación. En la Tabla 22 se indica que la TCE real y esperada no fue similar durante la etapa de alevinaje.

Tabla 22

Tasa de Crecimiento Específico promedio esperado y real de las Familias de Trucha Arco Iris durante la fase de alevinaje

Periodo	TCE real	TCE esperado (temperatura-peso)
T ₁₂₀₋₁₃₀	1.81	4.5
T ₁₃₀₋₁₄₀	0.79	4.5
T ₁₄₀₋₁₅₀	2.79	4.5
T ₁₅₀₋₁₆₀	1.12	4
T ₁₆₀₋₁₇₀	1.92	4
T ₁₇₀₋₁₈₀	4.33	4

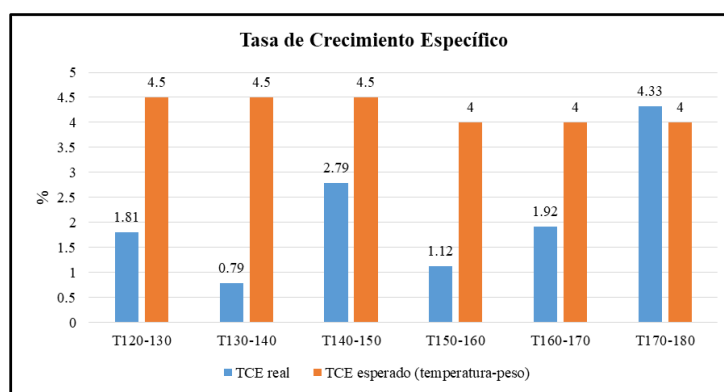


Figura 27 Comparación entre la TCE real y esperada durante la etapa de alevinaje de las Familias de Trucha Arco Iris

En la Figura 27 se evidenció que la TCE real fue menor en comparación a la esperada durante la etapa de alevinaje. Las diferencias ambientales, nutricionales y de manejo en el Núcleo Pailones provocaron niveles de estrés elevados sobre los mecanismos homeostáticos o reguladores de la fisiología corporal, situación que desencadenó diferentes reacciones compensatorias o de ajuste a las nuevas condiciones (período de aclimatización). Los datos obtenidos en la presente investigación coinciden con lo encontrado por Pickering *et al.* (1991), quien menciona que la tasa de crecimiento disminuyó en un 2% en individuos bajo condiciones de estrés.

Una vez concluido el periodo de ajuste a las nuevas condiciones, se registró un aumento en el último periodo ($T_{170-180} = 4.33$), sobrepasando a la TCE esperada (4.0) de acuerdo a los estándares sugeridos por Austreng *et al.* (1986).

3.2.3.1.5 Tasa de malformaciones

La tasa de malformaciones fue calculada 15 días después de la primera alimentación. En la Figura 28, se muestran las familias que presentaron malformaciones y su respectivo porcentaje.

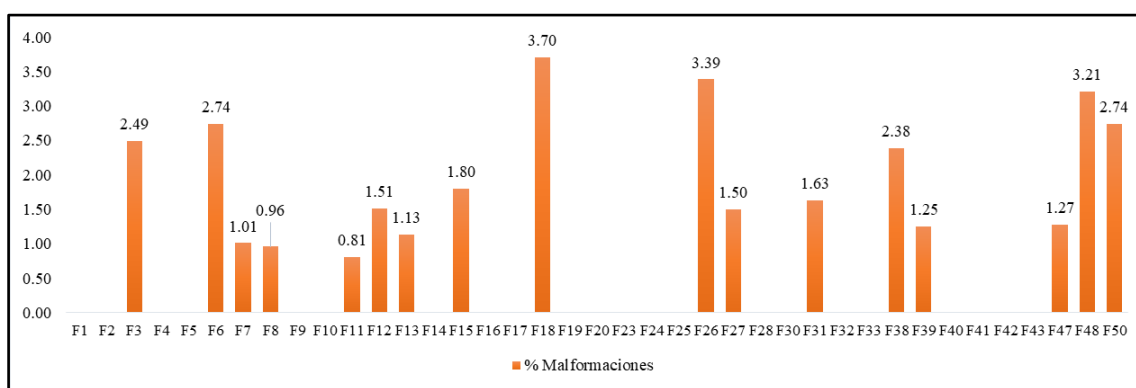


Figura 28 Tasa de malformaciones (%) de las Familias F1 de Trucha Arco Iris

Según la Figura anterior, la familia F18 fue la que presentó mayor tasa de malformaciones (3.70%), seguida por las familias F26 (3.39%) y F48 (3.21%). Las malformaciones registradas con mayor frecuencia se categorizaron como:

- Bicéfalo: presencia de dos cabezas parcialmente desarrolladas (Figura 29)
- Ciclopía: desarrollo de un solo ojo de tamaño grande y con estructuras no diferenciadas sobre el maxilar superior (Figura 29)
- Ondulación anormal tronco caudal (Figura 30)
- Lordosis: arco de la región lumbar (Figura 31)
- Curvatura ascendente en región dorso – lumbar (Figura 32)
- Sifosis: arco en la región cervical (Figura 33)



Figura 29 Alevín de Trucha Arco Iris bicéfalo y con ciclopía



Figura 30 Alevín con ondulación anormal en la Región Tronco Caudal



Figura 31 Alevines de Trucha Arco Iris con alteraciones en la espina dorsal, Lordosis



Figura 32 Alevines de Trucha Arco Iris con alteraciones en la espina dorsal, Curvatura ascendente región dorso lumbar



Figura 33 Alevines de Trucha Arco Iris con alteraciones en la espina dorsal, Sifosis

Las malformaciones descritas en las Figuras anteriores fueron de origen congénito, adquiridas durante el desarrollo embrionario y visible en el momento de la eclosión. Las alteraciones encontradas en la presente investigación fueron similares a las encontradas por Duijin (1973), quien señala que la sifosis, lordosis o escoliosis fueron malformaciones que se desarrollan por impulsos eléctricos, déficits nutricionales, parásitos y aumento en la temperatura del agua. Coincidiendo con Shaperclaus (1991), quien mencionó que las malformaciones descritas (alteraciones en la mandíbula, espina dorsal y ojos) fueron causadas por condiciones ambientales desfavorables durante el desarrollo embrionario.

Sin embargo, Bruno & Poppe (1996) mencionan que las malformaciones descritas en la presente investigación son de origen genético, causadas por presión de selección genética y consanguinidad. Lo indicado coincide con Wilddoog (1994), quien menciona que la presión de selección para ciertas características deseables fue la causa del incremento de algunas características indeseables (malformaciones).

3.2.3.1.6 Tasa de mortalidad

La mortalidad fue registrada en ambos núcleos durante el desarrollo de la etapa de alevinaje. En la Figura 34 se indica que la tasa de mortalidad fue superior en el Núcleo Papallacta en comparación al Núcleo Pailones.

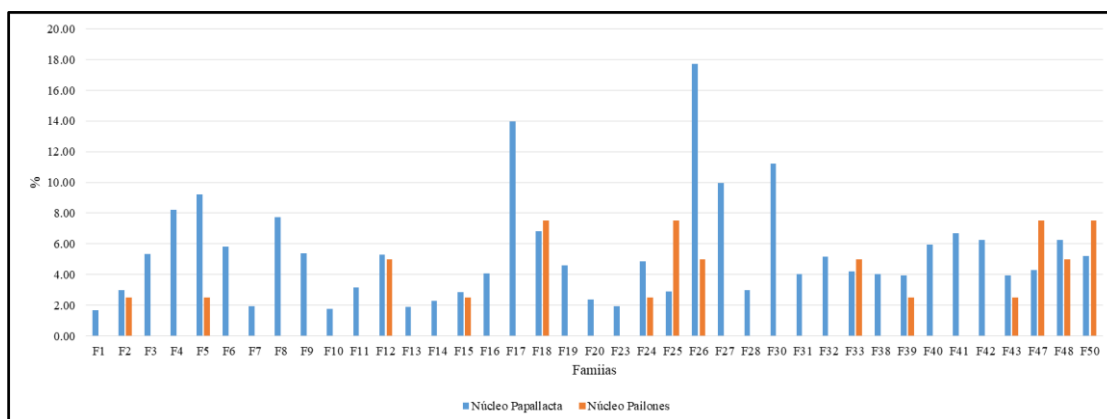


Figura 34 Tasa de mortalidad (%) de las Familias F1 de Trucha Arco Iris

Según la Figura anterior, en el Núcleo Papallacta las familias que mostraron mayor % de mortalidad fueron la F26 (17.73%), la F17 (13.98%) y la F30 (11.22%). Estos resultados sobrepasaron el 10% considerado como valor máximo aceptable de mortalidad durante la etapa de alevinaje (Ortiz, 2016). Las diferencias en la infraestructura, en el espacio físico y en la densidad animal de cada Familia fueron las causas principales de las elevadas tasas de mortalidad.

En el Núcleo Pailones las familias se encontraron bajo condiciones homogéneas de desarrollo por lo cual se registró una mortalidad máxima de 7.50% en las familias F18, F25, F47 y F50, valor aceptable durante la etapa de alevinaje.

3.2.3.2 Análisis estadístico para la selección de familias F1 de Trucha Arco Iris

La selección inter-familiar se realizó a través de análisis de Cluster con la finalidad de construir dendrogramas o grupos homogéneos de familias de Trucha Arco Iris para el ICC, el peso y la longitud. Con la finalidad de seleccionar las familias tomando en cuenta el efecto que tuvo el estrés sobre los parámetros evaluados en la presente investigación, este análisis se realizó

cuando las familias llegaron al Núcleo Pailones (120 días), cuando finalizó la etapa de alevinaje (180 días) y en un tiempo intermedio (150 días).

La selección no se realizó en base a la Tasa de Crecimiento Específico (TCE) por que no presentó un efecto significativo sobre las familias F1 de Trucha Arco Iris, la tasa de mortalidad porque se encontró dentro de los niveles aceptables durante de la etapa de alevinaje y la tasa de malformaciones porque esta puede estar asociada a consanguinidad o a factores ambientales, nutricionales y de manejo.

3.2.3.2.1 Índice de condición corporal

Para seleccionar las familias F1 de Trucha Arco Iris por ICC se realizó un análisis de Cluster del cual se obtuvieron 4 conglomerados o grupos homogéneos de familias (Figura 35).

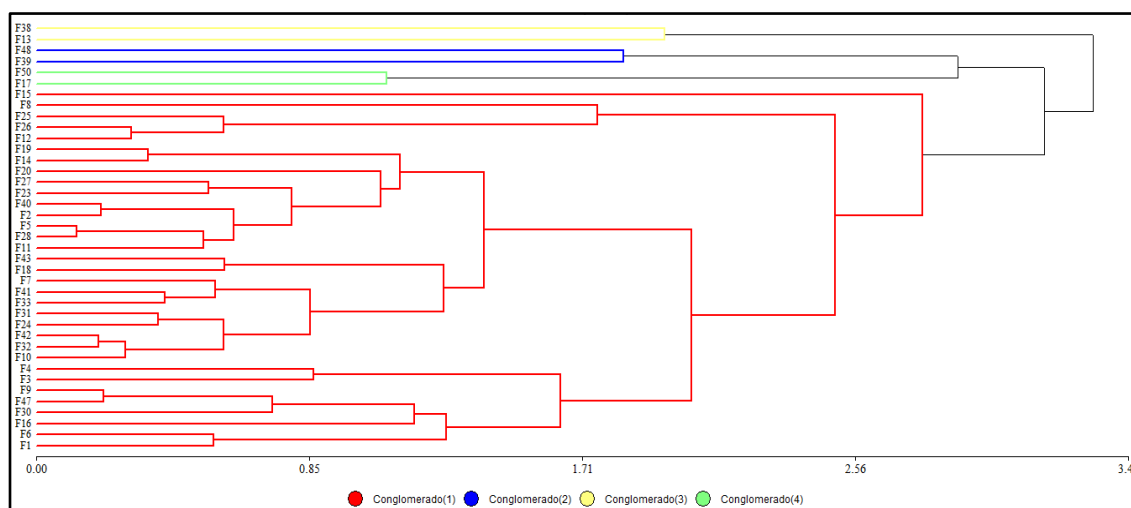


Figura 35 Dendrograma (Análisis Cluster) a partir de la distancia Euclidiana para el Índice de Condición Corporal calculado a los 120, 150 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris

Con los conglomerados se realizó una prueba estadística de comparación multivariada de medias (Hotelling 0.05%) indicando que tuvieron una diferencia significativa sobre el ICC de las familias F1 Trucha Arco Iris ($p < 0,05$; Tabla 23). Los conglomerados agruparon a familias con valores similares para el ICC, mismas familias que se encuentran enlistadas en la Tabla 23.

Tabla 23

Análisis de la varianza multivariada para el Índice de Condición Corporal a los 120, 150 y 180 de las familias F1 de Trucha Arco Iris bajo el efecto de 4 conglomerados (Análisis Cluster)

Conglomerado	ICC ₁₂₀	ICC ₁₅₀	ICC ₁₈₀	Familias
C1	1.35	1.16	1.22	F15, F8, F25, F26, F12, F19, F14, F20, F27, F23, F40, F2, F5, F28, F11, F43, F18, F7, F41, F33, F31, F24, F42, F32, F10, F4, F3, F9, F47, F30, F16, F6, F1 (a)
C2	0.97	1.09	1.25	F48, F39 (b)
C3	1.25	1.22	1.41	F38, F13 (c)
C4	1.24	0.99	1.15	F50, F17 (d)
Media	1.32	1.15	1.23	

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Según la Tabla anterior, el conglomerado C1 tuvo el ICC más alto a los 120 días con 1.35. Mientras que a los 150 y 180 días el conglomerado que tuvo el mejor ICC fue el C3 con 1.22 y 1.41, respectivamente. A diferencia del C4 que mostró los valores más bajos para el ICC a los 150 (0,99) y 180 días (1,15).

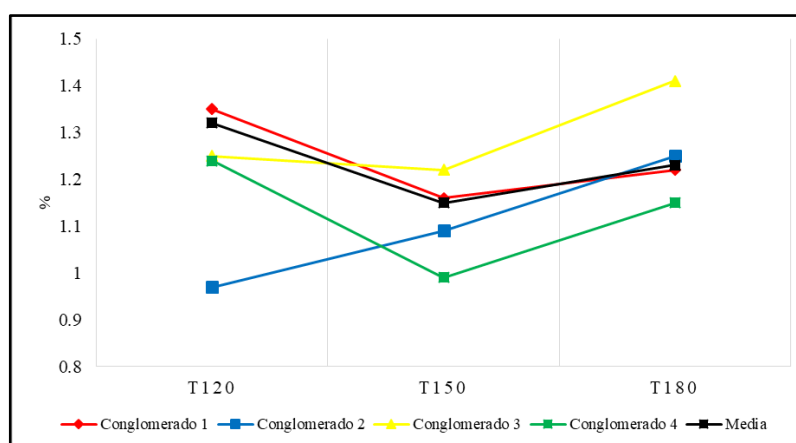


Figura 36 Incremento del ICC calculado a los 120, 150 y 180 días de los 4 conglomerados (Análisis Cluster)

También se realizó una comparación entre el ICC de los conglomerados y el promedio a los 120, 150 y 180 días. Según la Figura 36, los ICC del C4 estuvieron bajo el promedio poblacional y se descartaron las familias pertenecientes a este conglomerado. Las familias con ICC inferiores

al promedio no tuvieron una buena relación peso/longitud y su condición corporal no es la adecuada para el mercado.

3.2.3.2.2 Peso

Para seleccionar las familias F1 de Trucha Arco Iris por peso se realizó un análisis de Cluster del cual se obtuvieron 4 conglomerados o grupos homogéneos de familias (Figura 37).

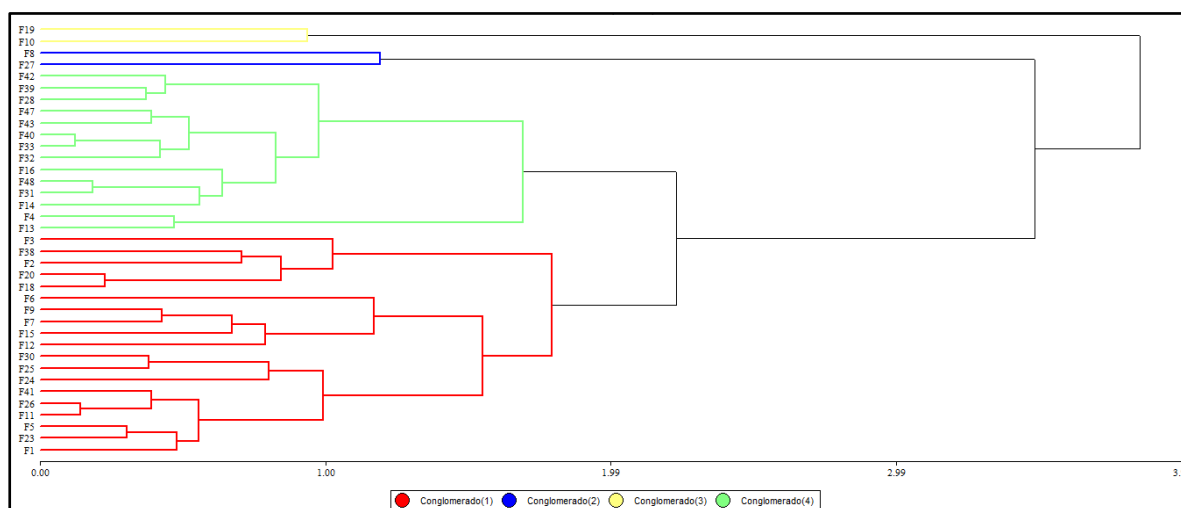


Figura 37 Dendrograma (Análisis Cluster) a partir de la distancia Euclídea para el peso a los 120, 150 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris

Con los conglomerados se realizó una prueba estadística de comparación multivariada de medias (Hotelling 0.05%) indicando que tuvieron una diferencia significativa sobre el peso de las familias F1 de Trucha Arco Iris ($p < 0,05$; Tabla 24). Los conglomerados agruparon a familias con valores similares para el peso, mismas familias que se encuentran enlistadas en la Tabla 24.

Tabla 24

Análisis de la varianza multivariada para el peso a los 120, 150 y 180 de las familias F1 de Trucha Arco Iris días bajo el efecto de 4 conglomerados (Análisis Cluster)

Conglomerado	PT ₁₂₀	PT ₁₅₀	PT ₁₈₀	Familias
C1	3.41	5.68	11.59	F3, F38, F2, F20, F18, F6, F9, F7, F15, F12, F30, F25, F24, F41, F26, F11, F5, F23, F1 (a)
C2	2.56	4.33	8.15	F8, F27 (b)
C3	4.11	6.68	13.53	F19, F10 (c)
C4	2.76	4.97	10.83	F42, F39, F28, F47, F43, F40, F33, F32, F16, F48, F31, F14, F4, F13 (d)
Media	3.14	5.40	11.23	

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Según la Tabla anterior, el conglomerado C3 alcanzó los pesos más altos a los 120, 150 y 180 días con 4.11 g, 6.68 g y 13.53 g, respectivamente. Mientras que el C2 fue el que alcanzó los pesos más bajos a los 120 (2.56 g), 150 (4.33 g) y 180 días (8.15 g).

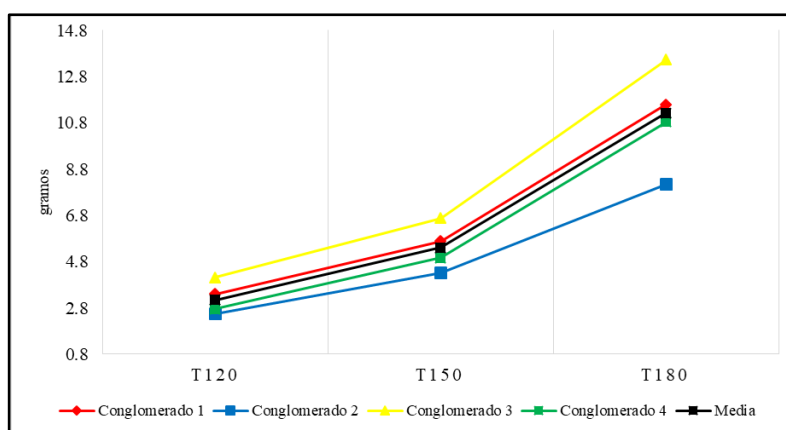


Figura 38 Incremento del peso a los 120, 150 y 180 días de los 4 conglomerados (Análisis Cluster)

También se realizó una comparación entre el peso de los conglomerados y el promedio general a los 120, 150 y 180 días. Según la Figura 38, los pesos del C4 y C2 estuvieron bajo el promedio y se descartaron las familias pertenecientes a ambos conglomerados.

3.2.3.2.3 Longitud

Para seleccionar las familias F1 de Trucha Arco Iris por longitud se realizó un análisis de Cluster del cual se obtuvieron 4 conglomerados o grupos homogéneos de familias (Figura 39).

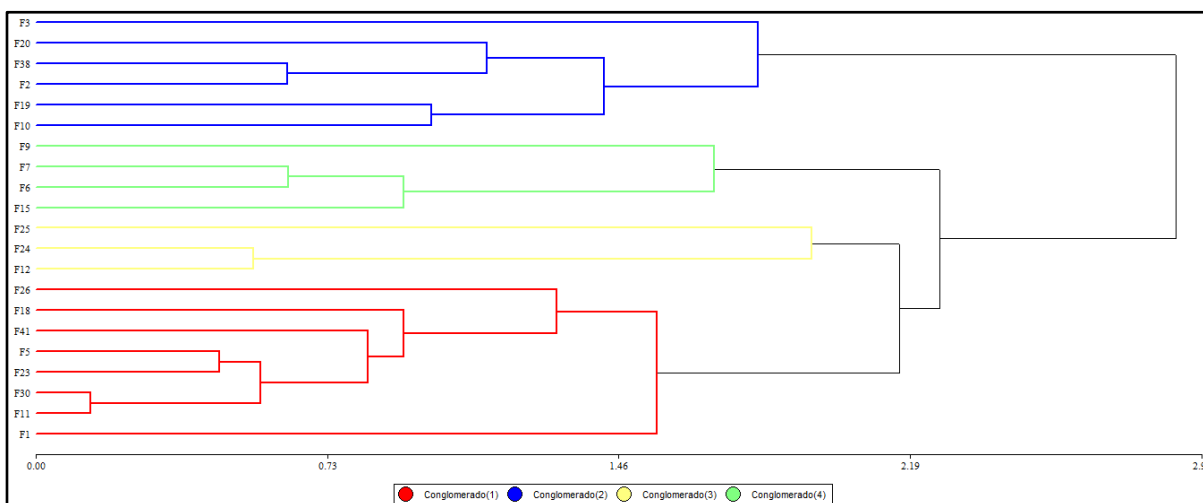


Figura 39 Dendrograma (Análisis Cluster) a partir de la distancia Euclídea para la longitud a los 120, 150 y 180 días de las familias F1 de Trucha Arco Iris

Con los conglomerados se realizó una prueba estadística de comparación multivariada de medias (Hotelling 0.05%) indicando que tuvieron una diferencia significativa sobre la longitud de las familias F1 Trucha Arco Iris ($p < 0,05$; Tabla 25). Los conglomerados agruparon a familias con valores similares para la longitud, mismas familias que se encuentran enlistadas en la Tabla 25.

Tabla 25

Análisis de la varianza multivariada para la longitud a los 120, 150 y 180 de las familias F1 de Trucha Arco Iris días bajo el efecto de 4 conglomerados (Análisis Cluster)

Conglomerados	LT₁₂₀	LT₁₅₀	LT₁₈₀	Familias
1	6,20	7.78	9.90	F26, F18, F41, F5, F23, F30, F11, F1 (a)
2	6.57	8.16	10.13	F3, F20, F38, F2, F19, F10 (b)
3	6.01	7.73	9.49	F25, F24, F12 (c)
4	6.63	7.70	9.64	F9, F7, F6, F15 (d)
Media	6.20	7.74	9.86	

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Según la Tabla anterior, el conglomerado C4 alcanzó las longitudes más altas a los 120 días con 6.63 cm. Mientras que a los 150 y 180 días el conglomerado que alcanzó las longitudes más altas fue el C2 con 8.16 y 10.13 cm, respectivamente. A diferencia del C3 que alcanzó las longitudes más bajas a los 120 (6.01 cm) y 180 días (9.49 cm).

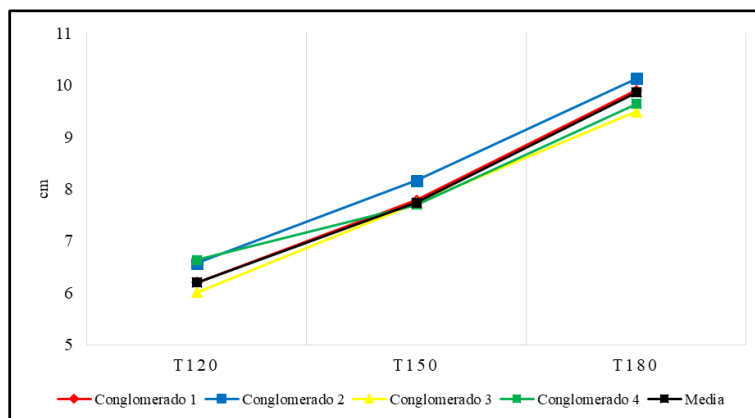


Figura 40 Incremento de la longitud a los 120, 150 y 180 días de los 4 conglomerados (Análisis Cluster)

También se realizó una comparación entre la longitud de los conglomerados y el promedio a los 120, 150 y 180 días. Según la Figura 40, las longitudes del C3 estuvieron bajo la media poblacional y se descartaron las familias pertenecientes a este conglomerado.

En la Tabla 26 se muestra en resumen las 18 familias seleccionadas por ICC (%), peso (g) y longitud (cm) durante la fase de alevinaje.

Tabla 26

Selección inter-familiar de Trucha Arco Iris durante la fase de alevinaje

Tipo de Variables	Variables	Familias seleccionadas
Variables morfométricas	Peso (g)	F26, F18, F41, F5, F23, F30, F11, F1, F3, F20, F38, F2, F19, F10, F9, F7, F6, F15
	Longitud (cm)	
Variables productivas	ICC	

Según la Tabla anterior las familias F26, F18, F41, F5, F23, F30, F11, F1, F3, F20, F38, F2, F19, F10, F9, F7, F6 y F15 fueron escogidas bajo el método de selección inter-familiar. El tipo de

selección empleada en la presente investigación coincide con Gall & Huang (1998), quienes al realizar una selección inter-familiar y posteriormente una selección intra-familiar la respuesta esperada por generación aumentó en un 0,74, 1.07 y 1.35% para el peso, a una intensidad de selección del 40, 20 y 10%, respectivamente.

La selección combinada dio como resultado respuestas genéticas más altas porque se da la importancia apropiada a las diferencias entre y dentro familias. Gallego (2010) menciona que la selección familiar evitó la consanguinidad al permitir realizar apareamientos rotacionales entre las familias o los individuos con características superiores para las variables de importancia económica. Según López & Toro (2007), la selección familiar es el método más óptimo dentro de los programas de mejora genética en comparación a la selección individual, pese la complejidad y alto costo de ejecución.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.3 Conclusiones

Con el uso de marcadores moleculares tipo microsatélites se detectó que la población de reproductores tiene variabilidad genética y permitieron seleccionar 18 familias F1 de Trucha Arco Iris como base para el establecimiento del programa de mejoramiento CENIAC, Papallacta.

Se determinó que la población de reproductores del CENIAC tiene variabilidad genética a pesar de las desviaciones significativas del Equilibrio de Hardy – Weinberg, que evidenciaron una disminución de heterocigotos ($F_{is}=0.051$) en la población provocada por intensidades altas de selección.

La variabilidad genética de la población actual de reproductores del CENIAC fue establecida por el número promedio de alelos efectivos por loci (13), la heterocigosidad esperada (0.877) y el contenido de información polimórfica (0.866).

En base al Índice de Condición Caporal (1.01 - 1.45) y al estado óptimo de maduración sexual se seleccionó un grupo de reproductores conformado por 50 hembras y 19 machos y se establecieron 17 grupos de cruzamiento para la obtención de 50 familias F1 de Trucha Arco Iris.

La evaluación de las familias F1 de Trucha Arco Iris mediante registros de genealogía desde la fecundación hasta la finalización de la etapa de alevinaje (180 días) permitió seleccionar 18 familias con índices de condición corporal, pesos y longitudes promedio de 1,29, 12.56 g y 9.89cm, respectivamente.

3.4 Recomendaciones

Para determinar la variabilidad genética de poblaciones de Trucha Arco Iris es importante usar los microsatélites ESPE-NCBI 42815192, OmyRGT8TUF y PuPuPy, dado que fueron altamente polimórficos e informativos.

Se recomienda usar técnicas más actuales de genotipado como la electroforesis capilar con detección por fluorescencia para una mejor cuantificación de alelos.

Con la finalidad de disminuir el efecto ambiental es recomendable dar seguimiento a las familias F1 durante la etapa juvenil, engorde y reproducción bajo distintos sistemas o núcleos de producción.

Para el rastreo de características de interés comercial en Trucha Arco Iris se recomienda el uso de marcadores de polimorfismo de nucleótidos simples (SNPs), morfometría y rastreo digital.

3.5 Bibliografía

- Allendorf, F., & Phelps, S. (2011). Loss of Genetic Variation in a Hatchery Stock of Cutthroat Trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 537-543.
- Alyshbaev, A. (2013). FEEDING LEVEL EFFECT ON THE GROWTH OF RAINBOW TROUT (*Onchorynchus mykiss*) FINGERLINGS. *Science and Forestry*, 1-40.
- Austreng, E., Storebakken, T., & Asgard, T. (1987). Growth Rate Estimates for Cultured Atlantic Salmon and Rainbow Trout. *Aquaculture*, 60, 157-160.
- Barnham, C., & Baxter, A. (2003). Condition Factor, K, for Salmonid Fish. *Fisheries*, 1-3.
- Bruno, D., & Poppe, T. (1996). A colour atlas of salmonids diseases. *Academic Press*.
- Carrillo, M. (2009). *La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en la Acuicultura*. Madrid: DiScript, S. L.
- Caruso, G., Brogilia, V., & Pocovi, M. (2015). *Genetic diversity. Importance and applications in plant breeding*. Obtenido de INEAH: Instituto de Ecología y Ambiente Humano: http://ineah.unsa.edu.ar/userfiles/downloads/lhawet/vol4/Caruso_et_al_2015.pdf
- De La Roche, A. (2012). *Manual de Procesos Técnicos - Centro de Investigaciones Acuicolas, CENIAC*. Papallacta, Napo.
- Dueñas, E. (2006). *Evaluación del mejor método de desove: método manual vs. método de inyección de aire, en truchas reproductoras en el CENIAC-P*. Obtenido de ESPOCH: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1774/1/17T0767.pdf>
- Duijn, C. (1973). *Diseases of fish. 3ra Ed.* London: Cox and Wyman Ltd.
- Estay, F., Ronco, A., & Cáceres, L. (1996). Respuesta ovulatoria y niveles séricos de GtHII alcanzados en hembras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) inducidas a ovular con GnRH α D-Ala6. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 28:73-79.

- Estoup, A., Gharbi, K., SanCristobal, M., Chevalet, C., Haffray, P., & Guyomard, R. (1998). Parentage assignment using microsatellites in turbot (*Scophthalmus maximus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hatchery populations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci*, 55: 715-725.
- FAO. (2009). La agricultura mundial en la perspectiva del año 2050. *Foro de expertos de alto nivel*, 12-13.
- FAO. (2014). *Manual práctico para el cultivo de Trucha Arco Iris*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación: <http://www.fao.org/3/a-bc354s.pdf>
- FAO. (2016). *Oncorhynchus mykiss, Programa de información de especies acuáticas*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Departamento de Pesca y Acuicultura: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/es
- FAO. (06 de Abril de 2017). *Fisheries and Aquaculture Department, Statistical Query Results*. Obtenido de Food and Agriculture Organization of the United Nations: http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/work/FIGIS/prod/webapps/figis/temp/hq_p_1518825198331098692.xml&outtype=html
- FAO. (17 de Abril de 2017). *Papel de la FAO en la acuicultura, Desarrollo de la acuicultura*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación: <http://www.fao.org/aquaculture/es/>
- Freire , R., Fernadez , J., López, M., & Méndez, J. (2009). Estrategias en el diagnóstico molecular. En P. Martínez, & A. Figueras, *Genética y Genómica en Acuicultura* (págs. 125-126). Madrid: Fundación Observatorio Español de Acuicultura.

- Gall, G., & Huang, N. (1998). Heritability and Selection Schemes for Rainbow Trout: Body Weight. *Aquaculture*, 73, 43-56.
- Gallardo, J. (17 de Abril de 2015). *Fundamentos de Mejora Genética en Peces*. Obtenido de AQUAGENETICS: <https://aquagenetics.files.wordpress.com/2013/07/fundamentos-de-mejora-genc3a9tica-de-peces.pdf>
- Gallego , F. (2010). *MEJORAMIENTO GENÉTICO EN ACUICULTURA*. Obtenido de Digitool: http://digitool.gsl.com.mx:1801/webclient/StreamGate?folder_id=0&dvs=1515788143189~16
- García , F., Ávila , G., Dominguez , R., Ávila, A., García, M., Flores, R., & Contreras, J. (2014). *Producción de Trucha Arco Iris*. Lima, Perú.
- Gjerde, B., & Rye, M. (1998). Design of breeding programmes in aquaculture species: Possibilities and constraints. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 181-192.
- Gjerde, B., & Shaeffer, L. (1999). Estimates of phenotypical and Genetic correlations in Rainbow trout. *World oi Aquaculture.* , 12--17.
- Imaki, A. (2003). *Manual de Manejo y Crianza de Trucha Arco Iris*. Quito: GD.
- JACUMAR, & Secretaría Nacional del Mar. (2015). *TRUCHA ARCO IRIS*. Obtenido de <https://divinainfantitaguadix.files.wordpress.com/2015/03/trucha.pdf>
- Jentoff, S., Aastviet, A., Torjesen, P., & Andersen, O. (2005). Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 353-358.

- Kause, A., Ritola , O., Paananen , T., Wahlroos, H., & Mantysaari, E. (2005). Genetic trends in growth, sexual maturity and skeletal deformations, and rate of inbreeding in a breeding programme for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 247, 177-187.
- Kawakami , E., Pereira, R., Puchnik, A., & Benites, C. (23 de Septiembre de 2008). *Mejoramiento genético en peces – una revolución en la acuicultura de Brasil*. Obtenido de AQUAHOY: <http://www.aquahoy.com/156-uncategorised/5662-mejoramiento-genetico-en-peces-una-revolucion-en-la-acuicultura-de-brasil>
- MAGAP. (2014). *MAGAP ejecuta proyecto de maricultura y piscicultura*. Obtenido de Ministerio de Acuicultura y Pesca : <http://www.acuaculturaypesca.gob.ec/subpesca1942-magap-ejecuta-proyecto-de-maricultura-y-piscicultura.html>
- MAGAP. (2015). *Proyecto de MAGAP fortalece la producción de alevines de Trucha*. Obtenido de Ministeria de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca - MAGAP: <http://www.agricultura.gob.ec/proyecto-de-magap-fortalece-la-produccion-de-alevines-de-trucha/>
- MAGAP. (1 de Mayo de 2016). *ESTADO ACTUAL Y PROYECCIÓN DE LA ACUICULTURA CONTINENTAL EN EL ECUADOR*. Obtenido de Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca: <http://acuicultura.espe.edu.ec/wp-content/uploads/2016/05/1-Estado-y-Proyecci%C3%B3n-de-la-Acuicultura-Ecuatoriana-Alejandro-de-la-Roche.pdf>
- MAGAP. (2016). *Productores de Sigchos se benefician con 3.000 alevines de trucha arco iris*. Obtenido de Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca - MAGAP: <http://informacion.magap.gob.ec/zona3/index.php/noticias/noticias/424-productores-de-sigchos-se-benefician-con-3000-alevines-de-trucha-arco-iris>

- Monteros, A., & Salvador, S. (Diciembre de 2015). *PANORAMA AGROECONÓMICO DEL ECUADOR UNA VISIÓN DEL 2015*. Obtenido de Dirección de Análisis y Procesamiento de la Información, Coordinación General del Sistema de Información Nacional, Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca: http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios_agroeconomicos/panorama_agroeconomico_ecuador2015.pdf
- Mora, V., Uyaguari , M., & Osorio, V. (2009). “SITUACIÓN ACTUAL DE LAS ESPECIES INTRODUCIDAS EN EL ECUADOR CON FINES ACUÍCOLAS”. *ResearchGate*, 1-10.
- Morales, G., & Quiroz , R. (2007). Desempeño productivo de la trucha arco iris en jaulas bajo diferentes estrategias de alimentación. *Universidad de Buenos Aires. Argentina. Departamento de Producción Animal. Facultad de Agronomía*, 1-90.
- Morris, D., Richard , K., & Wright, J. (1996). Microsatellites from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their use for genetic study of salmonids. *Can. J. Fish Aquat. Sci*, 120-126.
- Muñoz, D., & Ortiz , J. (2008). *Inducción de triploidía mediante la estandarización del choque térmico en trucha arco iris (Oncorhynchus Mykiss) en el Centro de Investigaciones Acuicolas Ceniac, provincia de Napo, cantón Quijos, parroquia Papallacta*. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE: <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/292/browse?type=author&order=ASC&rpp=20&value=Munoz+Sevilla%2C+Daysi+Maribel>
- NatGeo. (2010). *Trucha arcoíris*. Obtenido de National Geographic: <http://www.nationalgeographic.es/animales/trucha-arcoiris>

- Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 3321-3323.
- Orna , E. (2010). MANUAL DE ALIMENTO BALANCEADO PARA TRUCHAS. En PRODUCE, *ALIMENTO BALANCEADO – ELABORACION Y FORMULACION* (págs. 1-30). Puno, Perú.
- Ortiz, J., Pérez, F., & Giacometti, J. (2008). Desarrollo de Marcadores Genéticos tipo EST-SSR para Trucha Arco Iris. *Acuicultura, Producción dulce acuícola en el Ecuador*, 40-50.
- Ozaki, A., Khoo, S., Sakamoto, T., & Okamoto, N. (1999). Two highly polymorphic dinucleotide microsatellites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): OmyRGT7TUF and OmyRGT8TUF. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 30, 382-405.
- Phillips, V. (15 de Octubre de 2010). *Manual Básico Para El Cultivo de Trucha Arco Iris, Manual de capacitación para la participación comunitaria*. Obtenido de SCRIBD: <https://es.scribd.com/doc/39395925/Manual-Basico-Para-El-Cultivo-de-Trucha-Arco-Iris-1>
- Pickering, A., Pottinger, T., Sumpter, J., Carragher, J., & Bail, P. (1991). Effects of acute and chronic stress on the levels of circulating growth hormone in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*, 86-93.
- Rivera, M. (2017). *Maduración gonadal de Trucha Arco Iris y su control mediante ultrasonografía*.
- Rodríguez, C. (2004). Estudios de marcado y recaptura de especies marinas. *Instituto Español de Oceanografía, MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN*, 21-35.
- Shaperclaus, W. (1991). *Fish diseases, vol.2. 5*. New Delhi: Amerind Publishing Co.

- Sharma, R. (2008). *Basic Techniques in Biochemistry and Molecular Biology* . New Delhi: I. K. International Pvt Ltd.
- Taggaart, J., Hynes, R., Prodohl, P., & Ferguson, A. (1992). A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. *Journal of Fish Biology*, 40: 963-965.
- UNNE. (2011). *MEJORAMIENTO ANIMAL: HERRAMIENTAS DE MEJORAMIENTO* .
Obtenido de Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste:
<https://ipafcv.files.wordpress.com/2011/05/unidad-tematica-ii-unidad-1-seleccic3b3n.pdf>
- Uvigo, D. (2004). Tema 14. Mejora genética en Acuicultura. *Genética CC. Mar*, 1-7.
- Villanueva, B. (2016). Programas de Mejora en Acuicultura. *INIA, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria*, 1-207.
- Walbaum. (1792). *Worms* . Obtenido de World Register of Marine Species:
<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=400262>
- Ward, R., Jorstad, K., & Maguire, G. (2003). Microsatellite diversity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) introduced to Western Australia. *Aquaculture*, 69-179.
- Wildgoos, W. (1994). Aquaculture for Veterinarians: Fish Husbandry and Medicine Edited by Lydia Brown. *Journal of Small Animal Practice*, 250-260.
- Wright, S. (1997). COEFFICIENTS OF INBREEDING AND RELATIONSHIP. *BUREAU OF ANIMAL INDUSTRY, UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE*, 330-338.
- Yáñez, J., Martínez , A., Aro , L., & Cabrejos , M. (2012). Aplicación de herramientas moleculares en el mejoramiento genético de peces de cultivo: evaluación de la condición genética de reproductores. *AQUAINNOVO*, 1-4.