



00344 1  
24  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTUDIOS CROMOSOMICOS EN CAMARON BLANCO  
Penaeus vannamei (Boone, 1931), Y EN CAMARON CAFE  
Penaeus californiensis (Holmes, 1900)  
(CRUSTACEA; DECAPODA)

T E S I S

Que para obtener el Grado Académico de  
MAESTRO EN CIENCIAS  
(BIOLOGIA DE SISTEMAS Y RECURSOS ACUATICOS)

P r e s e n t a:

RAFAEL CAMPOS RAMOS

Director de Tesis: Dr. Carlos Rosas Vázquez

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A DIOS que es REY eternamente.

A mi esposa, Danitzia Guerrero Tortolero.

A nuestro hijo, Santiago Campos Guerrero.

A mi madre, Ma. del Carmen Ramos Parajón.

A mis suegros y abuela, José Guerrero Servín,  
Lilia Tortolero de Guerrero y  
Amparo Fernández Isassi.

A mis hermanos, cuñados y sobrinos,

Pablo, Mónica y Pablo Gabriel.

Raúl, Laura Elena y Ana Laura.

Eduardo, Lilia, Eduardo hijo y Gisela.

David, Beatriz, David hijo y Andrea.

ESTUDIOS CROMOSOMICOS EN CAMARON BLANCO Penaeus vannamei (Boone,  
1931), Y EN CAMARON CAFE Penaeus californiensis (Holmes, 1900)  
(CRUSTACEA; DECAPODA).

## INDICE

### RESUMEN

INTRODUCCION .....	1
ANTECEDENTES .....	9
OBJETIVOS .....	12
MATERIALES Y METODOS .....	13
RESULTADOS .....	26
DISCUSION .....	54
CONCLUSIONES .....	67
REFERENCIAS .....	68
AGRADECIMIENTOS .....	73

## RESUMEN

Se realizó un estudio citogenético en los camarones marinos Penaeus vannamei y Penaeus californiensis (Crustacea, Malacostraca), procedentes de aguas adyacentes a los estados de Nayarit y Baja California Sur (México) respectivamente. El número cromosómico diploide modal obtenido en huevos de ambas especies fué de  $2n=88$ . Este número fué confirmado con el número cromosómico haploide modal de  $n=44$  obtenido en testículos, utilizando una técnica convencional de secado al aire. Dos reportes previos de Penaeus vannamei presentaron números cromosómicos diferentes. Este estudio concordó con uno de ellos en la misma región geográfica. No se observó una diferencia morfológica evidente en el cariotipo de ambas especies. Cada una consistió de 4 pares metacéntricos, 10 submetacéntricos, 55 subtelocéntricos, y 19 acrocéntricos. No se identificaron cromosomas sexuales.

Se describen dos métodos para obtener cromosomas en metafase mitótica a partir de huevos de camarones marinos. Estos métodos son modificaciones de la técnica citogenética de secado al aire, los cuales permitirán el análisis individual o global de los huevos, y una condensación cromosómica específica mediante el control del tiempo de incubación en colchicina.

CHROMOSOME STUDIES ON THE WHITE SHRIMP Penaeus vannamei (Boone, 1931), AND THE BROWN SHRIMP Penaeus californiensis (Holmes, 1900), (CRUSTACEA; DECAPODA).

#### ABSTRACT

A cytogenetic study was made on the marine shrimp Penaeus vannamei and Penaeus californiensis (Crustacea, Malacostraca), from adjacent waters of the states of Nayarit and Baja California Sur (Mexico) respectively. The modal diploid chromosome number obtained from eggs in both species was  $2n = 88$ . This was confirmed by the modal haploid chromosome number of  $n = 44$  in testes using conventional air-drying technique. Two previous reports on Penaeus vannamei gave different chromosome numbers. This study agreed with one of them in the same geographic region. There was no evident morphological difference in the karyotype of both species. Each consisted of 4 metacentric, 10 submetacentric, 55 subtelocentric and, 19 acrocentric pairs. Sex chromosomes were not identified.

Two methods to obtain mitotic metaphase chromosomes from marine shrimp eggs are described. These methods are modifications of the air-drying cytogenetic technique, which will allow individual or global analysis of eggs, and specific chromosome condensation by controlling the time of colchicine.

## INTRODUCCION

La producción de organismos acuáticos bajo condiciones artificiales o semi-artificiales, denominada acuicultura, es una actividad relativamente nueva y en gran expansión. La acuicultura se ha concentrado en adquirir información relacionada con problemas físicos y químicos del manejo de organismos en cuerpos de agua restringidos, ejemplo de esto es el diseño de tanques, control de temperatura, disponibilidad de oxígeno disuelto, velocidad de corriente etc. El éxito en estas actividades ha resultado en un aumento en la capacidad de producir y mantener variedades de peces, moluscos, crustáceos y algas, tanto en agua dulce como estuarina y marina. Al obtener un sistema adecuado para el cultivo de una determinada especie, la atención se ha desviado hacia aspectos más biológicos para mejorar el cultivo. Estos aspectos están estrechamente relacionados con la genética y la mejora genética (Wilkins, 1981).

Existen características cromosómicas bien documentadas en mamíferos y aves domésticas, que aún son desconocidas en especies acuáticas, por ejemplo las bases cromosómicas de los fenotipos sexuales, y el número y tipo de cromosomas que constituyen el cariotipo de varios peces e invertebrados cultivados de importancia económica. El conocimiento de éstas y otras características básicas es absolutamente esencial si el mejoramiento genético es realizado con bases científicas (Wilkins, op. cit.).

Todas las características genéticas son heredadas como genes en un arreglo lineal a lo largo de los cromosomas. El número y la morfología de los cromosomas son caracteres específicos y son una manifestación visual del material hereditario. En general la descripción de los cariotipos no es satisfactoria en invertebrados; en moluscos, el número cromosómico es conocido en cerca de 85 especies, sin embargo, en menos de la mitad la morfología cromosómica aún está descrita de una forma poco cuantitativa; en el caso de los crustáceos la información es muy escasa. El conocimiento del complemento cromosómico de una especie puede ser de gran valor en la predicción de una hibridación: especies cuyos complementos de cromosomas son similares, son más factibles de hibridar bajo condiciones artificiales que aquellas con complementos cromosómicos muy diferentes (Wilkins, 1981).

Los estudios cromosómicos en organismos del medio marino, estuarino y limnético ofrecen enormes posibilidades de aplicación en la resolución de problemas biológicos y ecológicos. En particular, estos estudios aportan criterios sólidos en apoyo a la taxonomía, evolución y filogenia a través de la citotaxonomía (Rodríguez-Romero *et al.*, 1991).

Dentro de las actividades productivas, como es el caso de la maricultura, estos estudios contribuyen a la mejora genética de las especies en explotación, incluyendo estrategias de ingeniería genética por manipulación cromosómica (Chevassus y Coche, 1986).

Cabe señalar que el estudio de los cariotipos es aceptado generalmente como un complemento evaluatorio de los métodos

bioquímicos para la identificación de especies e híbridos, aunque rara vez para poblaciones. Su importancia particular radica en la confirmación de poliploidías en la acuicultura (Chevassus *et. al.*, 1978).

El estudio de los cromosomas involucra manipulación de los organismos, observación de metafases al microscópio, numeración y medición de los cromosomas. El número cromosómico haploide para las especies, es referido con la letra  $n$  (el cual se obtiene únicamente de gónadas), diploide  $2n$ , tetraploide  $4n$  y así consecutivamente. La medición y la descripción de cromosomas en metafases mitóticas o meióticas parece simple pero debe de ser llevada a cabo tomando en cuenta errores en su obtención y ser referidas a clasificaciones convencionales. La alta condensación y la sobreposición de los cromosomas son los principales factores que dificultan el análisis de las metafases. De manera general, un cromosoma en una metafase mitótica presenta dos características distinguibles: su longitud y su constricción transversal que marca la posición del centrómero. Mediante técnicas diferenciales de tinción, es posible obtener otras marcas distinguibles como bandas las cuales facilitan la identificación de cromosomas homólogos. Partiendo de la longitud y de la posición del centrómero, tres índices se pueden calcular: el índice centromérico, el radio de los brazos y, la longitud relativa de los cromosomas. Las dos primeras caracterizan al cromosoma por sí mismo, mientras que la tercera lo caracteriza con respecto a los otros cromosomas en el campo.

El índice centromérico (IC), se define como la longitud del

más corto de los dos brazos cromosómicos ( $L_{bc}$ ) multiplicado por 100 y dividido entre la longitud total del cromosoma ( $L_t$ ), por tanto es expresado como un porcentaje:  $IC = (L_{bc} * 100) / L_t$ .

El radio de los brazos ( $r$ ), se define como la longitud del brazo más largo del cromosoma ( $L_{bl}$ ) dividido entre la longitud del más corto ( $L_{bc}$ ):  $r = L_{bl} / L_{bc}$ , por lo tanto este valor, siempre será mayor que 1.

La longitud relativa (LR), se define como la longitud total del cromosoma ( $L_t$ ) multiplicado por 100 y dividido entre la longitud total de todos los cromosomas ( $L_{tt}$ ) en un grupo haploide, incluyendo el que se ha medido:  $LR = (L_t * 100) / L_{tt}$ , este valor se expresa también como un porcentaje.

La manera más simple de contar o medir los cromosomas es dibujarlos en la magnificación más alta del microscópio (100 x), con la ayuda de una cámara de dibujo. Una línea a escala apropiada es trazada a lo largo del campo cromosómico con la ayuda de un micrómetro. La longitud de los cromosomas puede ser medida utilizando un compás o de una forma más sofisticada utilizando un digitalizador o escaneador de imágenes en computadora. Otro método involucra fotografiar los campos cromosómicos para subsecuentemente ampliarlos por proyección e imprimirlos para su medición. Una vez recortados los cromosomas de las imágenes, éstos son ordenados en longitud decreciente de izquierda a derecha en una cartulina o pizarra. Se intenta arreglar los cromosomas en pares homólogos, con respecto a sus longitudes, posición de los centrómeros y características visuales como bandas (tinción diferencial). Los

cromosomas son pegados en la cartulina en series de renglones, siempre con el brazo corto hacia arriba y los centrómeros alineados a lo largo de cada renglón. Finalmente, la construcción de un ideograma se realiza con cada cromosoma homólogo representado como una barra vertical con su longitud de acuerdo a la longitud relativa, la posición del centrómero y otras características presentes conspicuas como bandas y satélites (Macgregor y Varley, 1988).

En la Tabla 1 se presenta la clasificación y nomenclatura cromosómica propuesta por Levan *et al.*, (1964), la cual ha sido ampliamente utilizada en estudios de cariotipos.

Tabla 1. Posición del centrómero (P), radio de los brazos (R), nomenclatura cromosómica (NC) y clasificación (C).

P	R	NC	C
Medio <u>sensu stricto</u>	1.0	M = Metacéntrico	
Región media	1.0 --- 1.7	m	"
Región submedia	1.7 --- 3.0	sm = Submetacéntrico	
Región subterminal	3.0 --- 7.0	st = Subtelocéntrico	
Región terminal	7.0 --- ∞	t = Acrocéntrico	
Terminal <u>sensu stricto</u>	∞	T = Telocéntrico	

En estudios de evolución se utiliza el número fundamental, el cual es calculado con la suma de los cromosomas metacéntricos (M) y submetacéntricos (SM), multiplicado por 2 y sumado con los cromosomas subtelocéntricos (ST) y acrocéntricos (A) (Murofushi y Degushi, 1990). Con este número es posible comparar los cariotipos de diferentes familias, géneros y especies.

$$\text{Número fundamental} = (M + SM) \times 2 + St, A$$

## Generalidades biológicas y taxonómicas de los camarones peneidos.

Los camarones peneidos presentan un integumento firme y el cuerpo dividido en dos regiones principales: el cefalotórax y el abdómen. El cefalotórax se prolonga anteriormente formando un rostrum. El abdómen consiste de seis artejos: los primeros cinco presenta cada uno un par de apéndices natatorios (pleópodos) y el sexto los urópodos y el télson. Su distribución es marina y estuarina, desde el ecuador hasta las regiones subtropicales, en habitats pelágicos y bentónicos. La mayoría de las especies marinas ocupan aguas someras y moderadamente profundas (Pérez Farfante, 1988).

En su medio ambiente natural, el camarón adulto se desplaza en la zona costera en donde madura, se aparea y desova. Presentan once estadios de larva: 5 en nauplio, 3 en protozoa y 3 en mysis, antes de considerarse una postlarva. Durante la metamorfosis larvaria, el camarón es desplazado por corrientes hasta bahías y esteros, en donde permanece en su etapa juvenil hasta comenzar a madurar y desplazarse nuevamente al mar, cerrando así el ciclo migratorio (Treece y Yates, 1988).

A continuación se presenta la clasificación propuesta por Bowman y Abele (1982).

Phylum *Arthropoda*  
Subphylum *Crustacea* Pennant, 1777  
Clase *Malacostraca* Latreille, 1806  
Subclase *Eumalacostraca* Grobben 1892  
Superorden *Eucarida* Calman, 1904  
Orden *Decapoda* Latreille, 1803  
Suborden *Dendrobranchiata* Bate, 1888  
Infraorden *Penaeidea*  
Superfamilia *Penaeoidea* Rafinesque, 1815  
Familia *Penaeidae* Rafinesque, 1815  
Género *Penaeus*, Fabricius, 1789

En el género *Penaeus* se encuentran las especies comerciales de camarón más importantes a nivel mundial. En América existen trece especies de camarones peneidos; a continuación se enlistan aquellas especies que se distribuyen en las costas del Atlántico occidental y del Pacífico oriental:

Especies del Atlántico occidental americano:

*Penaeus Litopenaeus schmitti* Burkenroad, 1938  
*Penaeus Litopenaeus setiferus* Linnaeus, 1767  
*Penaeus Farfantepenaeus brasiliensis* Latreille, 1817  
*Penaeus Farfantepenaeus duorarum* Burkenroad, 1939  
*Penaeus Farfantepenaeus notialis* Pérez Farfante, 1967  
*Penaeus Farfantepenaeus subtilis* Pérez Farfante, 1967  
*Penaeus Farfantepenaeus aztecus* Ives, 1891  
*Penaeus Farfantepenaeus paulensis* Pérez Farfante, 1967

Especies del Pacífico oriental americano:

*Penaeus Litopenaeus vannamei* Boone, 1931  
*Penaeus Litopenaeus occidentalis* Streets, 1871  
*Penaeus Litopenaeus stylirostris* Stimpson, 1874  
*Penaeus Farfantepenaeus brevirostris* Kingsley, 1878  
*Penaeus Farfantepenaeus californiensis* Holmes, 1900

En México, el camarón café Penaeus californiensis, es la especie más abundante en las pesquerías de alta mar, la cual representa el 70 % de las capturas (Rodríguez de La Cruz, 1978). Solo en los últimos años se ha considerado como una especie potencial de ser cultivada durante el invierno en el Noroeste de México (Magallón et al., 1994).

Su distribución se reporta desde la Bahía de San Francisco, California, hacia el sur, hasta Callao, Perú, e Islas Galápagos, Ecuador. Incluye el Golfo de California. Es un camarón estuarino y marino hasta 50 m, rara vez hasta 180 m. (Pérez Farfante, 1988).

El camarón blanco P. vannamei en cambio, es la especie tradicional en la camaronicultura occidental, su rápida tasa de crecimiento y la factibilidad de su reproducción en cautiverio, la hacen una de las más importantes para esta actividad en América y el mundo (Lawrence et. al., 1985).

Su distribución se reporta desde Yavon, Sonora, en el Golfo de California hacia el sur hasta Tumbes, Perú. Es un camarón estuarino y marino hasta 72 m. (Pérez Farfante op. cit.).

## ANTECEDENTES

Por lo que respecta a estudios cromosómicos, se conoce que la primera observación cromosómica en Decápodos fué realizada por Carnoy en 1885, en el palemonido Crangon cataphractus y el cangrejo Carucinus maenus (Citado por Nakamura et al., 1988). Desde entonces, se han descrito cromosomas de 72 especies como sigue: en Macrura, 8 familias con 31 especies. en Anomura, 6 familias con 8 especies y en Brachyura, 11 familias con 33 especies. Las preparaciones de cromosomas obtenidas antes de los años 60's, se realizaron con las técnicas clásicas de seccionamiento de gónadas y de squash (aún utilizadas en la actualidad), mediante las cuales se elucidó el número cromosómico, quedando el cariotipo sin describir. La técnica de secado al aire para la observación de cromosomas ha sido utilizada en decápodos desde los años 70's y ha sido especialmente utilizada en estudios de evolución de los mismos (Murofushi y Deguchi, 1990; Nakamura et al., 1988).

Los estudios cromosómicos en especies del género Penaeus se han limitado hasta fechas recientes a las siguientes 12: P. japonicus, P. setiferus, P. duorarum, P. aztecus, P. vannamei, P. stilyrostris, P. occidentalis, P. californiensis, P. orientalis, P. monodon, P. schmitti y P. notialis y el análisis del cariotipo se ha limitado a solo 7 especies (Mayorga, 1982; Goswami, 1985; Fanjun y Dong, 1993 y Jixun et al., 1989), (Tabla 2).

Tabla 2. Números cromosómicos (NC) y cariotipos (C) obtenidos de diversos órganos, tejidos o fases de desarrollo; testículo (t); blastema (b); hepatopáncreas (hp); nauplios (n); huevos (h); ovárico (o), en 12 especies en el género Penaeus.

Especies	NC y C	Organos o individuos	Referencia
<u>P. japonicus</u>	2n=92, n=44	t	Niiyama, 1948
<u>P. japonicus</u>	2n=86	b	Hayashi y Fujiwara, 1988
<u>P. setiferus</u>	2n=90	hp	Milligan, 1976
<u>P. duorarum</u>	2n=88	"	
<u>P. aztecus</u>	2n=88	"	
<u>P. setiferus</u>	n=45	t	Chow <u>et. al.</u> , 1990
<u>P. duorarum</u>	n=44	"	
<u>P. aztecus</u>	n=44	"	
<u>P. vannamei</u>	n=44	"	
<u>P. aztecus</u>	2n=88 18M+18SM+52A	n	Goswami, 1985
<u>P. vannamei</u>	2n=92, 14M+78A, n=46	t	Mayorga, 1982
<u>P. stilyrostris</u>	" " "	"	
<u>P. occidentalis</u>	" " "	"	
<u>P. californiensis</u>	" " "	"	
<u>P. orientalis</u>	2n=88, n=44	t	Xiang, 1988
<u>P. orientalis</u>	2n=88, n=44 54m+20(m, sm) +10sm+4(sm, st)	h y o	Jixun <u>et. al.</u> , 1989.
<u>P. monodon</u>	2n=88, n=44 9M+79ST	t	Fanjun y Dong, 1993.
<u>P. schmitti</u>	n=45	t	Miriam Torres (com. personal U. de la Habana Cuba).
<u>P. notialis</u>	n=44		

El presente trabajo incursiona en el conocimiento básico de la citogenética de las dos especies ya mencionadas, utilizando modificaciones en la técnica de secado al aire, en donde se manejen diferentes condensaciones cromosómicas. La información cariológica del camarón blanco y café puede contribuir a un mejor conocimiento de su filogénia y taxonomía. Estos datos pueden llegar a ser la base de futuras manipulaciones cromosómicas experimentales, y además permitir identificar a los individuos genéticamente definidos como anormales o poliploides.

## OBJETIVOS.

### Generales:

- 1.- Caracterizar el número y morfología cromosómica de los camarones café Penaeus californiensis, procedente del estado de B.C.S., y blanco P. vannamei, procedente de los estados de Nayarit y sur de Sinaloa, México, para contribuir al conocimiento de la citogenética, citotaxonomía, filogenia y futuras manipulaciones genéticas aplicadas al cultivo de estas especies.
- 2.- Desarrollar una modificación al método citogenético de secado al aire que permita la obtención de metafases cromosómicas bien definidas y dispersas, así como obtener un grado de condensación cromosómica adecuado para un mejor análisis de cariotipos.

### Específicos:

- 1.- Confirmar el número diploide y haploide en metafases cromosómicas de los camarones blanco Penaeus vannamei y café Penaeus californiensis.
- 2.- Obtener el cariotipo de ambas especies.
- 3.- Estandarizar la técnica de secado al aire en huevos de camarón, para la obtención de metafases cromosómicas definidas.
- 4.- Establecer la mejor concentración del mitostático así como el tiempo de incubación del mismo, que resulten en el mejor grado de condensación cromosómica.
- 5.- Optimizar el tiempo de choque hipotónico que resulte en una adecuada dispersión cromosómica.

## MATERIALES Y METODOS.

Las hembras de camarón café *P. californiensis* fueron capturadas en Bahía Magdalena, mientras que los machos se obtuvieron en la Bahía de La Paz, ambos sitios localizados en el estado de Baja California Sur. Los machos y hembras de camarón blanco *P. vannamei* fueron obtenidos de un laboratorio comercial de producción de postlarva y granja situados en La Paz, procedentes del litoral Nayarita y del sur del estado de Sinaloa (Fig. 1).

Las hembras reproductoras maduras de camarón café, con un peso entre 50 y 100 g, fueron capturadas con una red de arrastre, colocadas en hieleras con capacidad de 80 l para su traslado al laboratorio de crustáceos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR) en La Paz, B.C.S.

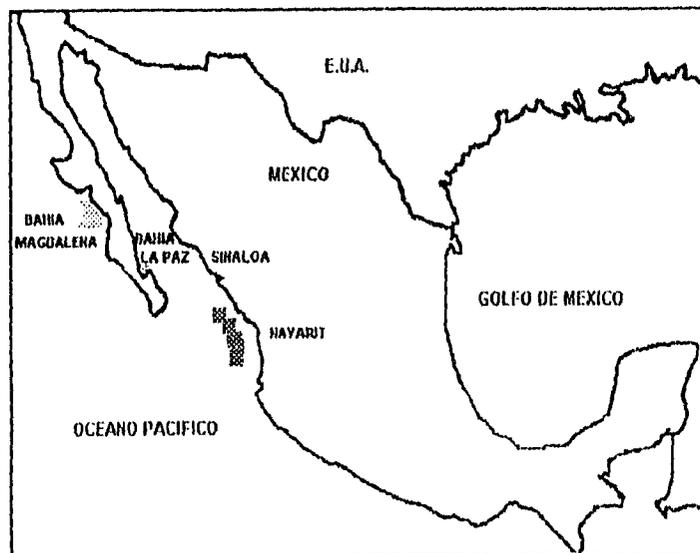


Fig.1. Localización geográfica de las zonas de captura de camarón en este estudio.

- ☐ CAMARON CAFE *Penaeus californiensis*
- ☒ CAMARON BLANCO *Penaeus vannamei*

Los métodos de análisis fueron tomados de Rodríguez-Romero et. al. (1991), para el caso de huevos fertilizados y larvas, Milligan (1976), para hepatopáncreas y branquias, y el descrito por Jixun et. al. (1989), para ovarios de hembras.

Preparación del material biológico.

1er ensayo: obtención de cromosomas a partir de hepatopáncreas, branquias y ovario de camarón.

Para camarón café se utilizó un lote de 4 hembras silvestres con gónada en estado 4 de maduración entre 50 y 60 g, y un lote de 10 juveniles de 3 g en promedio (1a generación filial). En el caso de camarón blanco, se trabajó con un lote de 5 juveniles de 3 g en promedio (1a generación filial). Todos los camarones fueron inyectados intramuscularmente a nivel del primer segmento abdominal con 2 a 5 microgramos de colchicina (Sigma)/gramo de peso, a partir de una solución stock de colchicina recién preparada al 0.05 % p/v en una solución de citrato de sodio al 0.5 %. Los camarones inyectados se mantuvieron a 25 °C de temperatura y a una salinidad de 37 g/l. Cuatro o cinco horas más tarde éstos fueron sacrificados, obteniéndose de los juveniles el hepatopáncreas y las branquias y la gónada de las hembras adultas. El hepatopáncreas fue macerado en una caja petri con solución fisiológica de cloruro de potasio KCl al 3 % p/v, hasta obtener una suspensión celular. La gónada y las branquias fueron disgregadas (separadas en pequeños

trozos de aproximadamente 3 mm) bajo las mismas condiciones.

2do ensayo: obtención de cromosomas a partir de huevos de camarón.

Cuatro hembras maduras de camarón café que no fueron inyectadas, se dejaron desovar en una tina de fibra de vidrio de 1,200 l, con agua filtrada por un filtro de 1 micra y luz ultravioleta, a una temperatura de 18°C y 37 g/l de salinidad. Tres horas después del desove se colectaron los huevos del fondo de la tina con una pipéta plástica de 2 ml, se observaron al microscópio para asegurar una buena fertilización. Los huevos se lavaron con agua de mar utilizando un tamiz de luz de malla de 400 micras para eliminar heces fecales y, 40 micras para retener los huevos sin romperlos. Estos se transfirieron a un tubo de ensaye de 30 ml con tapón rosca, hasta llenar 2 cm del tubo. Posteriormente se agregaron 10 ml de una solución de colchicina al 0.05 % en agua de mar y 10 ml de agua de mar, quedando una concentración aproximada de 0.025 % p/v de colchicina. La muestra se dejó reposar en la oscuridad por 1 hora.

El mismo procedimiento se realizó con huevos de camarón blanco, los que se mantuvieron a una temperatura de 27.5 °C y a una salinidad de 35 g/l. En este caso se procesaron de manera independiente 15 muestras de huevos, en cada una de ellas se mezclaron huevos de 4 a 5 diferentes desoves.

3er ensayo: obtención de cromosomas a partir de larvas de camarón.

De cada especie, se utilizaron aproximadamente 50 larvas nauplios, 50 protozoemas, 20 mysis y 10 postlarvas, Cada estadio fué procesado de manera independiente. Las larvas se colectaron con luz de malla de 100 micras sujeta en un aro de pvc de 1 pulgada de diámetro y 2 cm de alto. Después de colectadas se colocaron dentro de cajas petri de plástico con agua de mar (10 ml), agregandose el mitostático colchicina al 0.05 % en agua de mar (10 ml), y dejandose reposar en la oscuridad por 2 horas.

Eliminación del mitostático.

Después del tratamiento con el mitostático, la suspensión celular del hepatopáncreas, la gónada y las branquias disgregadas fueron centrifugadas a 1000 rpm durante 5 minutos, decantandose el sobrenadante. Este procedimiento no fué necesario con los huevos ya que presentaron flotabilidad negativa por lo que únicamente se decantó el sobrenadante. En el caso de las larvas se utilizaron los tamices de luz de malla de 100 micras para retirarlas del mitostático.

Choque hipotónico.

A todas las muestras se les agregó una solución hipotónica de citrato de sodio al 0.7-0.9 % p/v dejandose reposar de 25 a 30

minutos a temperatura ambiente (25°C). Posteriormente se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 minutos y se decantó el sobrenadante.

#### Fijación.

Las muestras fueron fijadas mediante cinco cambios de 15 ml de una solución de metanol-ácido acético glacial (3:1) recién preparado, centrifugando y desechando el sobrenadante entre cada cambio de fijador. El tiempo total de fijación para cada muestra fué de 30 minutos. Todas las muestras fueron guardadas en el refrigerador a 4°C por 24 horas, después de ese tiempo, se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 minutos y se realizó un último cambio de fijador recién preparado.

#### Disociación de tejidos.

En el caso del hepatopáncreas no fué necesaria la disociación ya que desde el macerado del tejido se obtuvo una suspensión celular. Todas las muestras restantes se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 minutos y se decantó el sobrenadante. A cada muestra se agregaron 10 ml de ácido acético diluido al 50 %, a una temperatura de 37°C. Con sacudidas de moderadas a violentas del tubo de centrífuga, se trató de disociar el tejido en un tiempo de 15 minutos. Cada muestra se centrifugó a 1000 rpm durante 5 minutos y se decantó el sobrenadante. Se agregaron 5 ml de fijador y se resuspendió el botón celular con sacudidas moderadas del tubo.

Elaboración de laminillas.

Las suspensiones celulares de cada muestra fueron goteadas desde una altura de 0.4 a 1 m: a) portaobjetos nuevos previamente sumergidos en una solución de etanol al 70 % enfriados a 4°C; b) en portaobjetos calentados en vapor (aproximadamente 45°C); c) en portaobjetos calentados en una plancha caliente a aproximadamente 50 °C y d) en portaobjetos fríos a 4°C. Las laminillas se dejaron secar a temperatura ambiente durante una semana, protegidas del polvo y posteriormente fueron teñidas con una solución al 5 % de Giemsa (Spectrum), a pH 6.8 en amortiguador de fosfatos (Tris base-Tris HCl, Sigma), durante 30 minutos. Se lavaron en agua destilada por 3 minutos y se dejaron secar al aire durante 2 horas. Las laminillas se fecharon y se ennumeraron de acuerdo al tejido.

Fotografía de metafases cromosómicas obtenidas en huevos de Penaeus californiensis (2do ensayo).

Mediante la observación en un microscópio compuesto (Zeiss), con una cámara fotográfica adaptada, de cada laminilla se escogieron campos cromosómicos mitóticos bien dispersos. Las metafases fueron fotografiadas a una magnificación de 100 X. Se utilizó película técnica pancromática 2415 ASA 25 Kodak en blanco y negro y la ampliación de los negativos se realizó en papel Kodak RC F3 blanco y negro.

Número cromosómico y cariotipo preliminar de Penaeus californiensis (2do ensayo).

En cada una de las metafases fotografiadas fué contado el número de cromosomas individuales hasta obtener una moda diploide (2n). El análisis del cariotipo fué determinado de una sola metafase, mediante el recorte de cada cromosoma de la impresión, agrupándolos cualitativamente en cuanto a su morfología y a su tamaño de mayor a menor y de izquierda a derecha.

Modificaciones en la técnica de secado al aire.

Sobre la base de la metodología del 2do ensayo, en donde se utilizaron huevos, se efectuaron una serie de modificaciones empíricas en la parte de disociación de tejidos, en este caso, en la disociación de los huevos, que dieron lugar a una técnica de análisis global (mezcla de huevos), y a otra de análisis individual (huevos individuales), las cuales se describen a continuación.

Técnica de análisis global para la obtención de cromosomas.

Una muestra de huevos se "lavó" con 5 cambios de ácido acético al 50 % y a una temperatura de 40°C, hasta que los huevos se observaron cristalinos y traslúcidos. Después del último cambio los huevos se colocaron en una caja de petri de vidrio con 10 ml de ácido acético al 50 %. La caja de petri se colocó en una plancha

caliente durante 5 segundos para elevar la temperatura a aproximadamente 60 °C. Con la ayuda de un tubo de plástico con un extremo plano de 3 cm de diámetro, se golpeó suave y rápidamente en diferentes puntos de la caja de petri durante 2 minutos, en un plano vertical. Para verificar la ruptura de los huevos, la preparación se observó a simple vista, a contra luz a través de un tubo de centrífuga. Este procedimiento se repitió de 5 a 7 veces (según la cantidad de huevos) hasta obtener una preparación celular con fragmentos de cáscaras de huevos en forma de astillas cristalinas (en caso de haber observado en el tubo de centrífuga una solución de color gris denso, con una alta desintegración, se infirió que hubo una baja fertilización de los huevos, por lo que la muestra se desechó). La preparación con los huevos fragmentados fué colocada en un tubo de centrífuga de 12 ml, se centrifugó a 1000 rpm durante 5 minutos y se decantaron 5 ml del sobrenadante. Se resuspendió el botón celular cuidadosamente y se tomaron de 0.5 ml con una pipéta plástica de 2 ml, la cual se goteó desde una altura de 5 cm en un portaobjetos precalentado a una temperatura de 50 °C ligeramente inclinado. El líquido sobrante fué absorbido inmediatamente después del impacto. Para determinar el número de metafases en un solo campo del microscopio, la laminilla fué observada en un microscopio de contraste de fases con un aumento de 10x. Si el número de metafases fué menor a 20, la muestra aún en el tubo, se centrifugó nuevamente y se concentró en un volumen menor. Por el contrario, si en la laminilla se estimaron 50 o más metafases, se diluyó la concentración agregando ácido acético al 50

%, hasta obtener una cantidad entre 30 y 50 metafases en un solo campo del microscopio.

Elaboración de laminillas.

Una vez obtenida la concentración adecuada, se realizaron 5 laminillas en serie, dejándose secar por 2 horas a temperatura ambiente y luego fueron teñidas con una solución al 2 % de Giemsa a pH 6.8 en amortiguador de fosfatos, durante 25 minutos.

Técnica de análisis individual para la obtención de cromosomas.

Con el objeto de poder examinar metafases en huevos individuales se llevó a cabo otra modificación. Después del quinto cambio de ácido acético, fué tomado un huevo con una pipeta pasteur y goteado en un portaobjetos precalentado a una temperatura de 50°C, inmediatamente con la ayuda del tubo plástico ya descrito anteriormente, el huevo se golpeó con fuerza y en un plano vertical de tres a cinco veces. La laminilla se dejó secar por 2 horas, para posteriormente realizar la tinción ya descrita con Giemsa.

Esta técnica fué realizada para análisis individual de huevos, sin embargo, se puede realizar utilizando más huevos (cinco, diez etc.), sólo haciendo suficientes golpes para romper los huevos en el portaobjetos.

4to ensayo: obtención de diferentes grados de condensación cromosómica a partir de huevos de Penaeus vannamei.

En el Laboratorio se colectaron y se mezclaron muestras de 10 litros provenientes de 28 desoves de camarón blanco de un total de 60 disponibles en esa noche.

Sobre la base de la técnica de secado al aire, con las técnicas de análisis global e individual en la disociación de huevos, se utilizaron cinco concentraciones diferentes del mitostático colchicina (0.006, 0.0125, 0.025, 0.05 y 0.1 %), con tres tiempos diferentes de incubación (30, 60 y 90 min). De esta manera se creó una matriz de 5 x 3, para evaluar 15 tratamientos. Así mismo, se manejó de manera general un tiempo control de choque hipotónico de 30 minutos.

5to ensayo: obtención de un grado intermedio de condensación cromosómica a partir de huevos de Penaeus californiensis.

En el Laboratorio se colectaron y se mezclaron muestras de 20 litros correspondientes a 30 desoves de camarón café, en los cuales se llevó a cabo la técnica de análisis global. Se utilizó una concentración de 0.05 % del mitostático colchicina con un tiempo de incubación de 45 min. Se manejó un tiempo control de choque hipotónico de 30 minutos.

## Análisis de los cromosomas.

Cada ensayo fué analizado en forma independiente. Las metafases fueron observadas y en cada una se contaron los cromosomas utilizando un microscópio Zeiss con una cámara de dibujo adaptada.

De esta manera se obtuvo para cada especie el número modal diploide.

Para obtener el cariotipo, las 30 mejores metafases observadas de cada especie fueron fotografiadas a 100 X con una cámara con exposímetro Zeiss instalada a un microscópio de la misma marca.

De las metafases fotografiadas, se escogieron las 3 mejores de cada especie. En cada fotografía se recortaron los cromosomas, y se colocaron en una cartulina blanca, con los brazos cortos hacia arriba. Cada cromosoma fué medido en milímetros en longitud total, longitud del brazo largo y por diferencia se obtuvo la longitud del brazo corto. Los datos fueron convertidos a micras sobre la base de una escala de 100 micras a un aumento 100X del microscópio, previamente medida con un ocular micrométrico. Para cada cromosoma se calculó el radio de los brazos. Con base a la longitud y al radio de los brazos se juntaron los cromosomas homólogos. De cada par cromosómico se obtuvo el promedio de la longitud total, la longitud del brazo largo, la longitud del brazo corto y el radio de los brazos. Con respecto a la longitud total promedio de cada par, los cromosomas se ordenaron de mayor a menor y de izquierda a derecha en una cartulina procediendo a numerarse, con el objeto de

que la numeración de los pares cromosómicos, ya clasificados, coincidieran en las tres metafases, se hizo un arreglo en la posición numérica de los pares cromosómicos metacéntricos y submetacéntricos, sin que éste alterara el ordenamiento de mayor a menor con respecto a su longitud total. Finalmente se utilizó la clasificación de acuerdo al sistema propuesto por Levan et. al., (1964).

Después de clasificar las tres mejores metafases de cada especie, se obtuvieron longitudes y radios promedios de cada par cromosómico de las 3 metafases con sus respectivas desviaciones estandar, para obtener la clasificación cromosómica final de cada par y obtener el cariotipo de cada especie. Los pares cromosómicos telocéntricos (T), fueron considerados como acrocéntricos (t). Si la desviación estandar del radio de los brazos incluía a más de un par cromosómico dentro de dos clasificaciones, p.e. subtelocéntrico-telocéntrico, se obtuvo una caracterización intermedia, es decir, la mitad de los pares como subtelocéntricos y la otra mitad como telocéntricos.

Número modal haploide de ambas especies.

Se utilizó la técnica para la obtención de metafases meióticas a partir de testículo de camarones marinos, descrita por Hasegawa, (1981); Murofushi y Deguchi, (1993) y Jixun et al., (1989).

Se colectaron seis machos de camarón blanco procedentes de un estanque de cultivo, y seis machos silvestres de camarón café

procedentes de un estanque de mareas. Todos los camarones con un peso entre 20 y 25 g.

Estos camarones fueron inyectados intramuscularmente con una concentración de colchicina de 2 microgramos/gramo en peso, manteniéndose de cuatro a seis horas a una temperatura de 27 °C. Posteriormente se sacrificaron y se disectaron los testículos. Los testículos se cortaron en secciones de 2 mm y se sometieron a un choque hipotónico de citrato de sodio al 0.7 % durante 20 minutos. Se fijaron con metanol-ácido acético glacial 3:1 durante 8 horas. Las muestras se centrifugaron a 1000 rpm/5 minutos y se les agregó ácido acético al 50%, en donde se disociaron completamente con la ayuda de una pinza de disección. Las preparaciones se gotearon en portaobjetos precalentados a 50 °C y finalmente se tiñieron con una solución al 2 % de orceína en ácido acético al 40 %.

El análisis de las metafases meióticas se desarrolló de la misma manera que las metafases diploides con la ayuda de la cámara de dibujo adaptada al microscopio (solo número cromosómico). Los camarones de cada especie fueron evaluados individualmente.

## RESULTADOS

En el primer ensayo, al reproducir las técnicas de Milligan (1976), para hepatopáncreas y branquias, y Jixun et. al. (1989), para ovarios de hembras, no se obtuvieron metafases cromosómicas. En el tercer ensayo utilizando larvas, tampoco se obtuvieron metafases cromosómicas.

En el segundo ensayo, al reproducir la técnica de Rodríguez-Romero et al., (1991), se observaron metafases cromosómicas en huevos de camarón café. Al intentar reproducir esta técnica en huevos de camarón blanco, no fué posible fragmentar y disociar los huevos en ácido acético en ninguna de las 15 muestras, por lo que no se obtuvieron metafases cromosómicas de esta especie.

Número modal diploide y cariotipo preliminar de camarón café Penaeus californiensis obtenidos con la técnica de secado al aire de Rodríguez-Romero et al., (1991), (Segundo ensayo).

En la Tabla 3 se encuentran los resultados de los conteos cromosómicos de camarón café. Se observó que el número modal diploide fué de  $2n=88$  con un porcentaje del 27 % de las 85 metafases observadas. El rango de números cromosómicos fué muy amplio desde 60 hasta 100, que representaron una aneuploidía del 73 %. El análisis cualitativo del cariotipo efectuado en una sola metafase, mostró 3 grupos morfológicos de cromosomas: el grupo I, presentó 19 pares submetacéntricos-subtelocéntricos; el grupo II,

21 pares subtelocéntricos-acrocéntricos y, el grupo III, presentó 4 pares acrocéntricos-telocéntricos (Fig.2). El cariotipo preliminar de Penaeus californiensis quedó constituido:  $2n = 88 = 38sm-st + 42st-t + 8t-T$ .

Tabla 3. Número cromosómico (NC) de metafases diploides observadas (MO) y su porcentaje (%), en embriones tempranos de Penaeus californiensis.

NC	MO	%
60-64	3	3.52
69	2	2.35
70-74	4	4.70
77-79	10	11.76
80	3	3.52
81	3	3.52
82	7	8.23
83	4	4.70
84	4	4.70
85	4	4.70
86	8	9.41
87	5	5.88
88	23	27.06
89	1	1.17
90	1	1.17
92	1	1.17
93>	2	2.35
Total	85	100.00

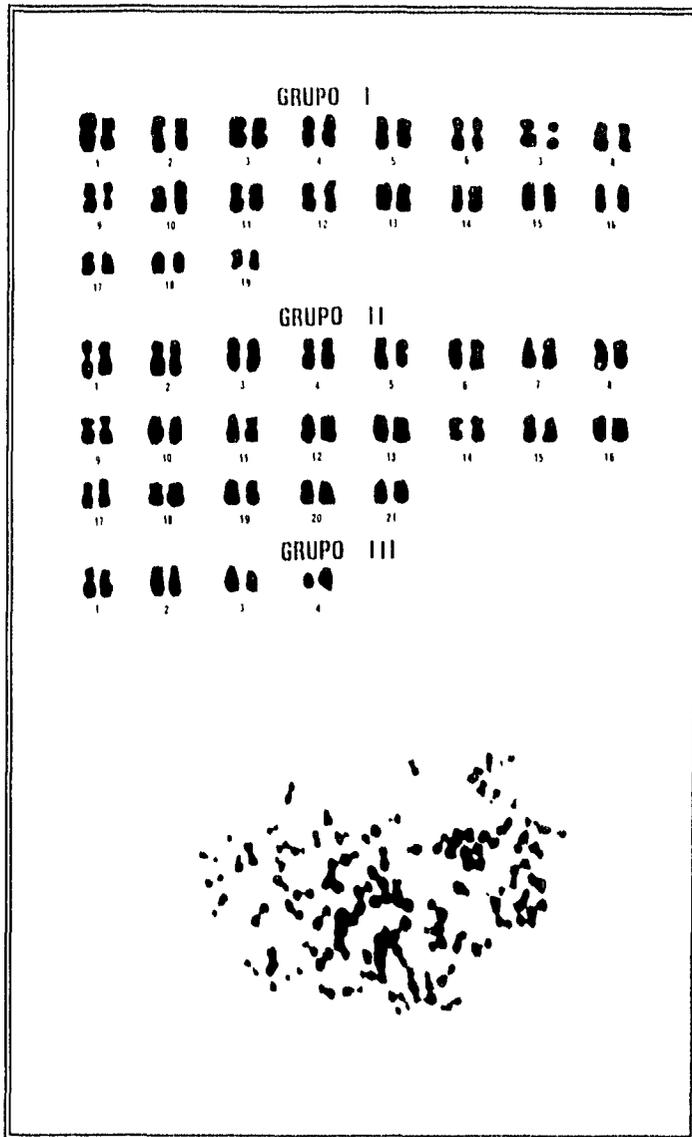


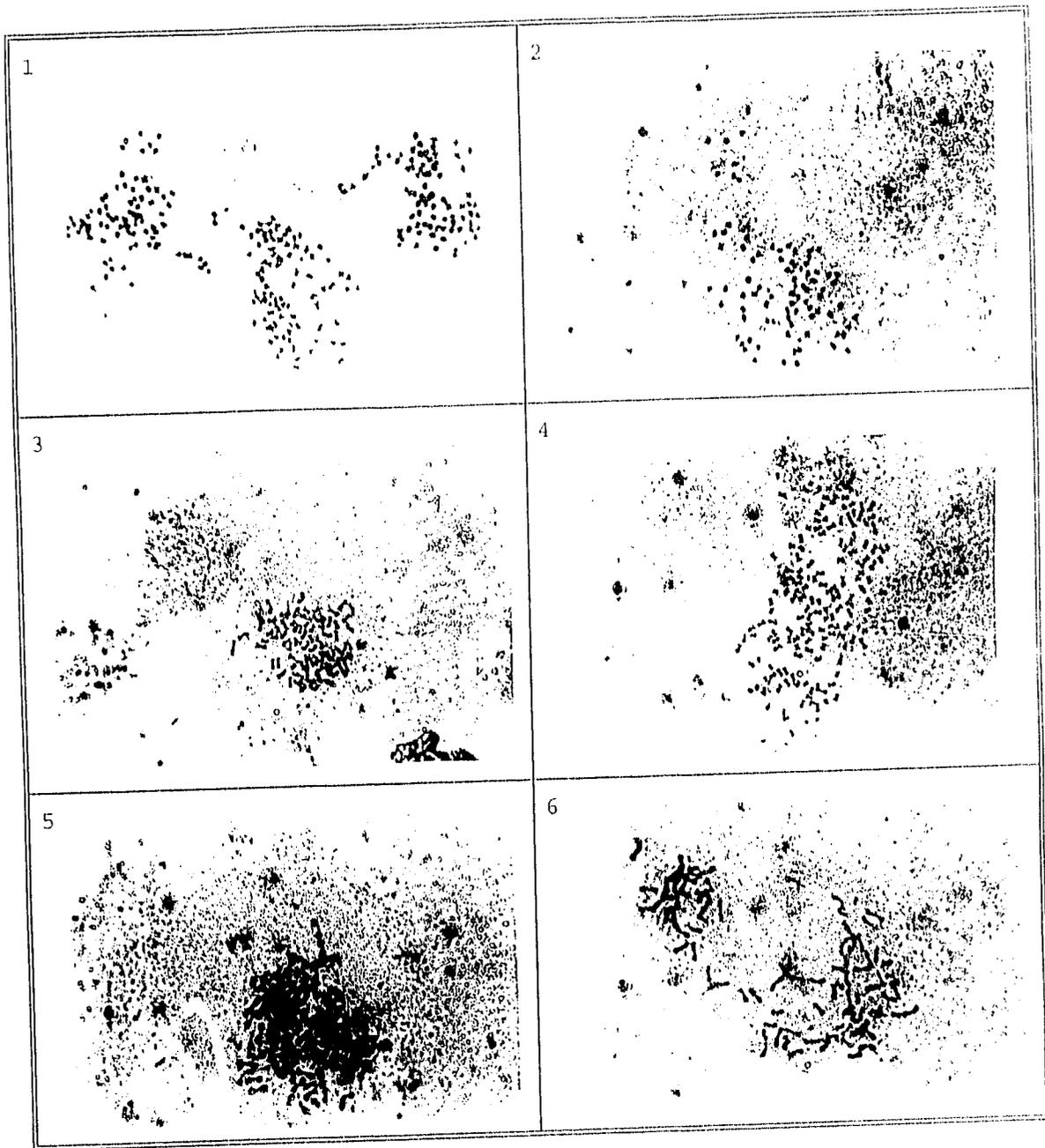
Fig. 2. Cariotipo preliminar de camarón café *Penaeus californiensis*, analizado cualitativamente de una sola metafase. Grupo I: 38sm-st; Grupo II: 42 st-t; y Grupo III: 8 t-T. 2n=88.

Resultados con las técnicas de análisis global e individual (4to y 5to ensayos).

Análisis de condensación cromosómica.

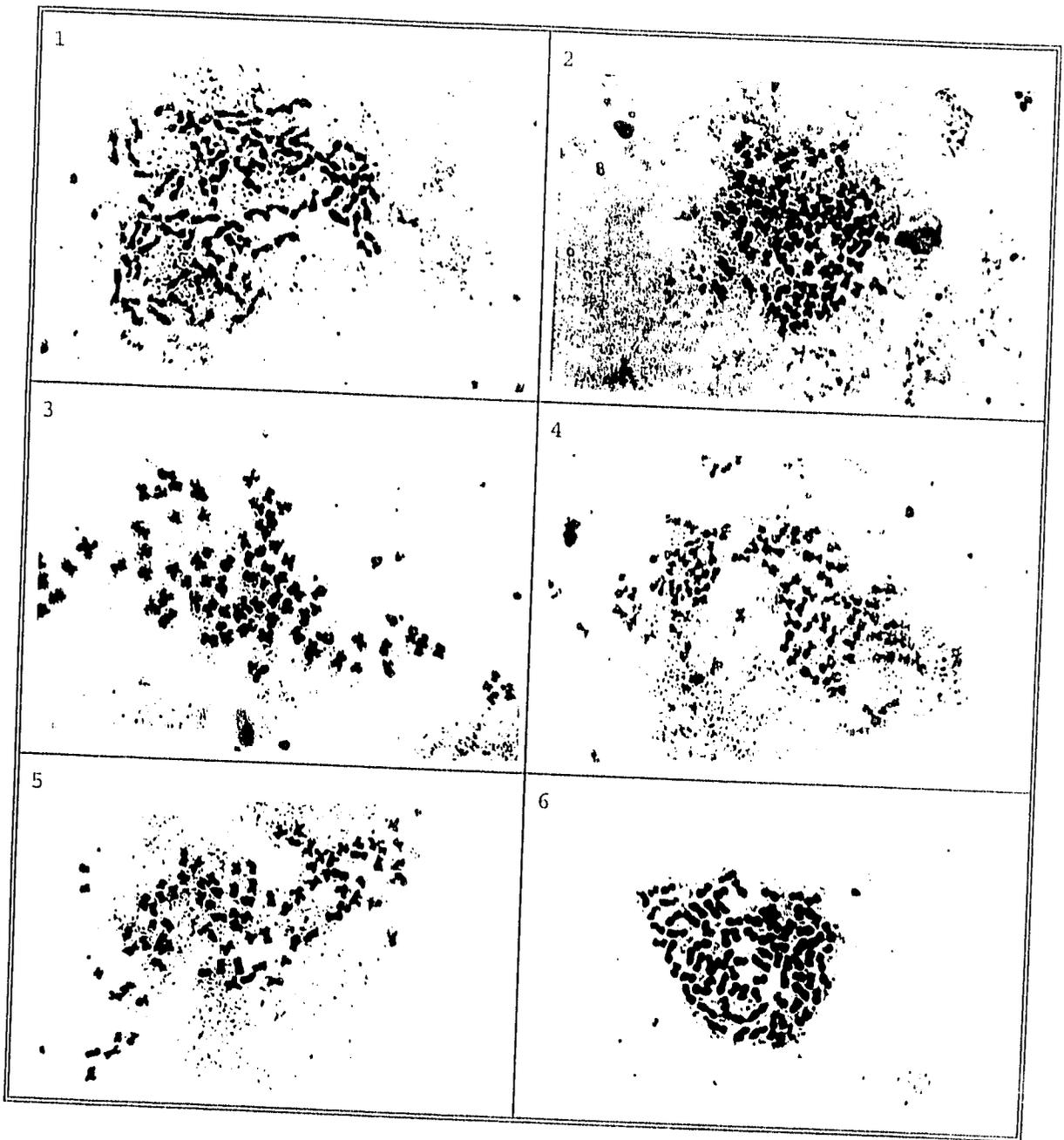
En el 4to ensayo, todos los tratamientos fueron adecuados para el conteo cromosómico, más no para la descripción morfológica. En general los grados de condensación fueron muy altos. No se observó una diferencia evidente en el grado de condensación cromosómica utilizando las cinco concentraciones diferentes de colchicina, sin embargo se observó que los tiempos de incubación más largos, tendieron a una mayor condensación. Los cromosomas más condensados fueron obtenidos con 90 minutos de incubación, el rango de longitud de estos cromosomas fué de 0.8 a 2.0  $\mu\text{m}$  (Fig. 3: 1 y 2). En este estudio, estos cromosomas fueron considerados con un grado alto de condensación. Cromosomas con un rango de 1.3 a 4.0  $\mu\text{m}$ , fueron obtenidos con 60 minutos de incubación, estos cromosomas fueron considerados con un grado intermedio a alto de condensación (Fig. 3: 3 y 4). Los cromosomas más largos con un rango de 2.7 a 7.9  $\mu\text{m}$ , se obtuvieron con 30 minutos de incubación, estos cromosomas fueron considerados con un grado bajo de condensación, y fueron muy escasos (Fig. 3: 5 y 6).

En el 5to ensayo, se obtuvieron cromosomas bien definidos, por lo que el tiempo de 45 minutos de incubación, se consideró el mejor tratamiento, en donde el rango de longitud de los cromosomas fué de 1.6 a 6.5  $\mu\text{m}$ , estos cromosomas fueron considerados con un grado intermedio de condensación (Fig.4: 1 a 6).



30  $\mu$

Fig. 3. Diferentes condensaciones cromosómicas en Penaeus vannamei.  
 Concentración de colchicina en %, tiempo en minutos. 1: 0.125, 60;  
 2: 0.025, 90; 3: 0.05, 60; 4: 0.006, 60; 5: 0.006, 30 y 6: 0.1, 30.



30  $\mu$

Fig. 4. Metafases cromosómicas en Penaeus californiensis, con una concentración de colchicina de 0.05 % y un tiempo de 45 minutos.

En la figura 5 se resumen los diferentes grados de condensación cromosómica obtenida en huevos, con base al tiempo de incubación del mitostático colchicina.

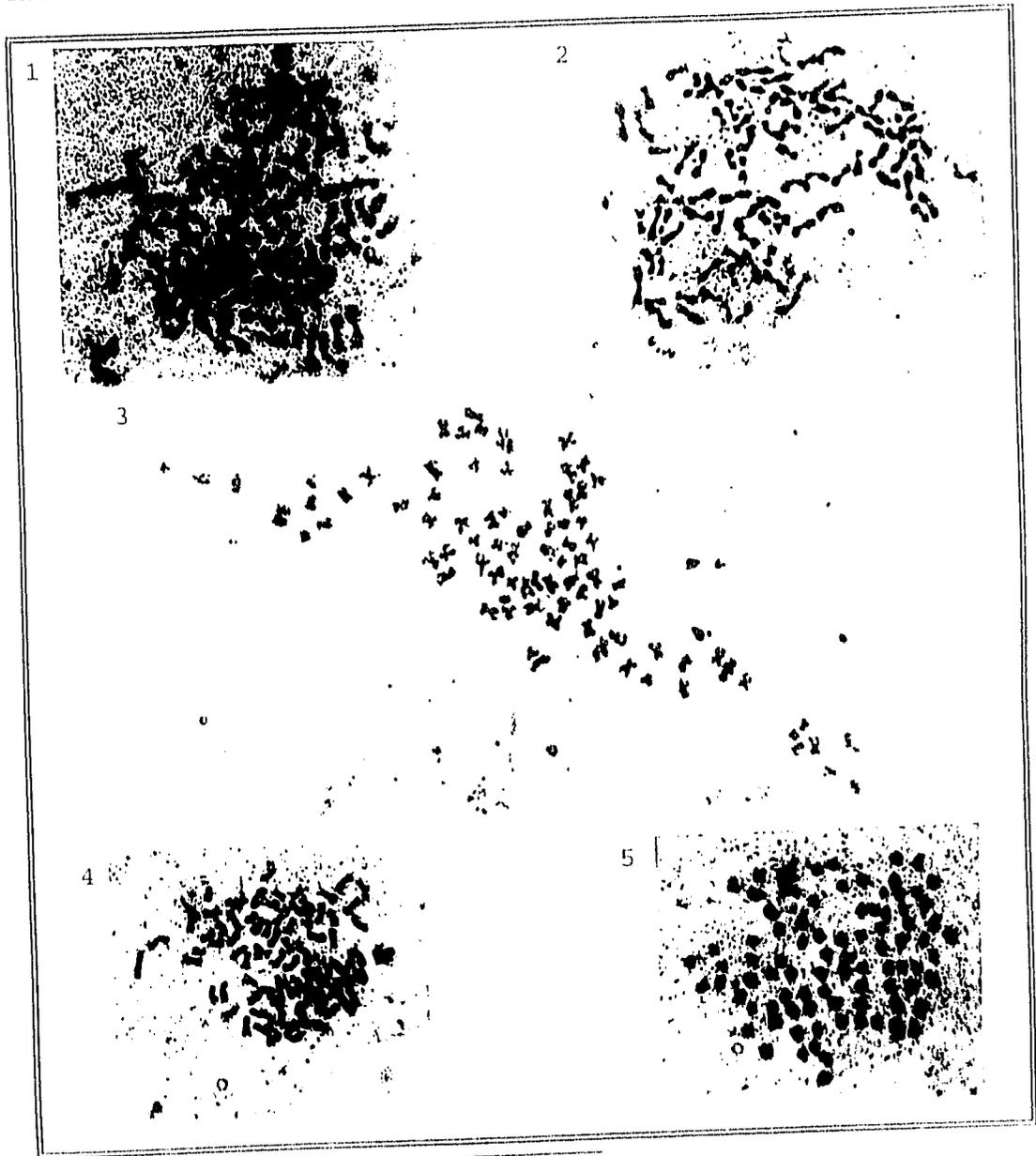


Fig. 5. Condensaciones cromosómicas obtenidas con diferentes tiempos de incubación del mitostático colchicina. 1: 30 minutos; 2 y 3: 45 minutos; 4: 60 minutos; 5: 90 minutos.

#### Análisis de dispersión cromosómica.

El choque hipotónico de 30 minutos realizado en todos los tratamientos resultó en términos generales, en una buena dispersión cromosómica.

#### Análisis del número cromosómico.

En la Tabla 4, se muestran los resultados de los conteos cromosómicos en P. vannamei, observándose que para esta especie el número modal diploide fué de  $2n=88$  con un porcentaje del 54 % de las 168 metafases observadas. El rango de números cromosómicos osciló de 79 a 91, el cual representó una aneuploidía del 46 %.

Tabla 4. Número cromosómico (NC) de metafases diploides observadas (MO) y su porcentaje (%), en embriones tempranos de Penaeus vannamei.

NC	MO	%
79	5	2.98
80	6	3.57
81	3	1.78
82	7	4.17
83	2	1.19
84	12	7.15
85	4	2.38
86	17	10.12
87	9	5.35
88	91	54.17
89	8	4.76
90	3	1.79
91	1	0.59
Total	168	100.00

En la Tabla 5. se muestran los resultados de los conteos cromosómicos en P. californiensis, observandose que para esta especie el número modal diploide fué de  $2n=88$  con un porcentaje del 57.50 % de las 120 metafases observadas. El rango de números cromosómicos varió desde 80 hasta 90, el cual representó una aneuploidía del 49.50 %.

Tabla 5. Número cromosómico (NC) de metafases diploides observadas (MO) y su porcentaje (%), en embriones tempranos de Penaeus californiensis.

NC	MO	%
80	7	5.83
84	12	10.01
85	4	3.33
86	13	10.84
87	5	4.16
88	69	57.50
89	8	6.67
90	2	1.66
<b>Total</b>	<b>120</b>	<b>100.00</b>

#### Análisis del cariotipo:

##### Penaeus vannamei:

En las tres metafases analizadas (Tablas 6, 7 y 8), coincidieron dos pares cromosómicos metacéntricos (m), los No. 10 y 20. Cinco pares fueron submetacéntricos (sm), los No. 9, 27, 37, 38 y 41.

En la primera metafase analizada (Tabla 6), nueve pares

cromosómicos fueron acrocéntricos (t), los No. 2, 8, 11, 13, 25, 32, 33, 40 y 43. El resto, 28 pares fueron subtelocéntricos (st). El cariotipo en esta metafase quedó caracterizado de la siguiente forma:  $4m+10sm+56st+18t$  (Fig. 6).

En la segunda metafase (Tabla 7), diez pares cromosómicos fueron acrocéntricos (t), los No. 8, 11, 19, 21, 29, 33, 34, 35, 43 y 44. Dos pares fueron telocéntricos (T), los No. 2 y 36. El resto, 25 pares fueron subtelocéntricos (st). El cariotipo en esta metafase quedó caracterizado de la siguiente forma:  $4m+10sm+50st+20t+4T$  (Fig. 7).

En la tercera metafase (Tabla 8), ocho pares cromosómicos fueron telocéntricos (T), los No. 2, 29, 33, 34, 36, 42, 43 y 44. El resto, 29 pares fueron subtelocéntricos (st). El cariotipo en esta metafase quedó caracterizado de la siguiente forma:  $4m+10sm+58st+16T$  (Fig. 8).

En la Tabla 9 se muestra la longitud relativa promedio y el radio de los brazos promedio con sus respectivas desviaciones estandar y la clasificación final del cariotipo de las tres metafase analizadas (Tablas 6, 7 y 8). En la clasificación de la Tabla 9 se observan dos tipos principales de cariotipos:  $4m+10sm+46st+28t$ , en donde se consideran 11 pares cromosómicos, los No. 8, 11, 13, 25, 29, 32 al 36 y 44 como acrocéntricos (t), y  $4m+10sm+68st+6t$ , en donde se consideran a los mismos pares como subtelocéntricos (st). Lo anterior se debe a que la desviación estandar de cada par cromosómico (No. 8, 11, 13, 25, 29, 32 al 36 y 44), los incluyó como "st" o "t". En una caracterización

intermedia entre los pares "st" y "t" se obtuvo 57st+17t.

El cariotipo de P. vannamei quedó caracterizado de la siguiente forma: 4m+10sm+57st+17t.

Tabla 6. Valores relativos de la primera metafase analizada para la identificación de cromosomas de Penaeus vannamei. Longitud total (L), longitud del brazo largo (l), longitud del brazo corto (c), radio de los brazos (r), y clasificación (C).

cromosomas	1	2	3	4	5	6	7	8	9
L	7.93	7.13	7.13	7.13	7.13	7.13	7.13	7.13	7.13
l	6.35	6.54	5.95	5.95	5.95	5.95	5.95	6.35	5.14
c	1.58	0.59	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	0.78	1.99
r	4.01	11.0	5.04	5.04	5.04	5.04	5.04	8.14	2.58
C	st	t	st	st	st	st	st	t	sm
cromosomas	10	11	12	13	14	15	16	17	18
L	6.75	6.75	6.75	6.75	6.75	6.75	6.75	6.35	6.35
l	3.97	5.96	5.55	5.96	5.55	5.55	5.55	5.15	5.15
c	2.78	0.79	1.20	0.79	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
r	1.43	7.54	4.62	7.54	4.62	4.62	4.62	4.29	4.29
C	m	t	st	t	st	st	st	st	st
cromosomas	19	20	21	22	23	24	25	26	27
L	6.35	6.35	5.95	5.95	5.95	5.95	5.95	5.95	5.95
l	5.15	3.57	4.76	4.76	4.76	4.76	5.36	4.76	3.96
c	1.20	2.78	1.19	1.19	1.19	1.19	0.59	1.19	1.99
r	4.29	1.28	4.00	4.00	4.00	4.00	9.08	4.00	1.98
C	st	m	st	st	st	st	t	st	sm
cromosomas	28	29	30	31	32	33	34	35	36
L	5.55	5.55	5.55	5.55	5.55	5.55	5.55	5.55	5.55
l	4.75	4.75	4.75	4.75	4.96	4.96	4.75	4.75	4.75
c	0.80	0.80	0.80	0.80	0.59	0.59	0.80	0.80	0.80
r	5.93	5.93	5.93	5.93	8.40	8.40	5.93	5.93	5.93
C	st	st	st	st	t	t	st	st	st
cromosomas	37	38	39	40	41	42	43	44	
L	5.15	5.15	5.15	4.75	4.75	4.75	3.96	2.76	
l	3.76	3.76	4.36	4.36	3.16	3.96	3.57	2.38	
c	1.39	1.39	0.79	0.39	1.56	0.79	0.39	0.38	
r	2.70	2.70	5.51	11.1	2.02	5.01	9.15	6.26	
C	sm	sm	st	t	sm	st	t	st	

Caracterización cariotípica: 4m+10sm+56st+18t

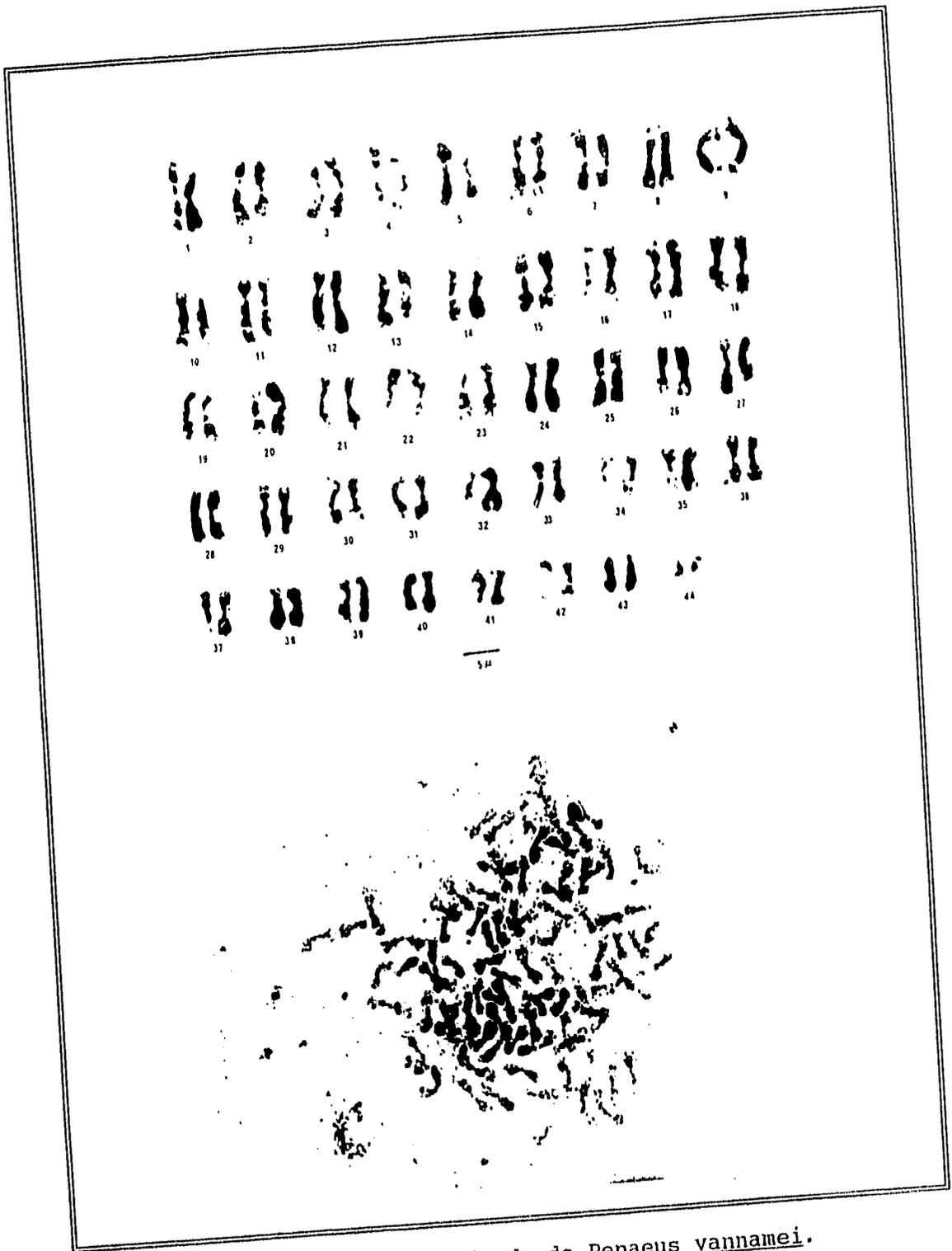


Fig. 6. Primera metafase analizada de Penaeus vannamei.  
 $2n=88, 4m+10sm+56st+18t$

Tabla 7. Valores relativos de la segunda metafase analizada para la identificación de cromosomas de Penaeus vannamei. Longitud total (L), longitud del brazo largo (l), longitud del brazo corto (c), radio de los brazos (r), y clasificación (C).

cromosomas	1	2	3	4	5	6	7	8	9
L	6.75	6.35	6.35	5.95	5.95	5.95	5.55	5.55	5.55
l	5.15	6.35	4.96	4.75	4.75	4.75	4.36	4.96	3.95
c	1.60	0	1.39	1.20	1.20	1.20	1.19	0.59	1.60
r	3.22	∞	3.57	3.96	3.96	3.96	3.66	8.40	2.46
C	st	T	st	st	st	st	st	t	sm
cromosomas	10	11	12	13	14	15	16	17	18
L	5.55	5.55	5.55	5.15	5.15	5.15	5.15	4.75	4.75
l	3.16	4.96	4.36	3.96	4.36	4.36	4.36	3.96	3.96
c	2.39	0.59	1.19	1.19	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79
r	1.32	8.40	3.66	3.32	5.51	5.51	5.51	5.01	5.01
C	m	t	st						
cromosomas	19	20	21	22	23	24	25	26	27
L	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75
l	4.16	2.97	4.16	3.96	3.96	3.96	3.96	3.96	3.37
c	0.59	1.78	0.59	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	1.38
r	7.0	1.66	7.0	5.01	5.01	5.01	5.01	5.01	2.44
C	t	m	t	st	st	st	st	st	sm
cromosomas	28	29	30	31	32	33	34	35	36
L	4.75	4.75	4.36	4.36	4.36	3.96	3.96	3.96	3.96
l	3.96	4.36	3.56	3.56	3.76	3.58	3.58	3.58	3.96
c	0.79	0.39	0.80	0.80	0.60	0.38	0.38	0.38	0
r	5.01	11.1	4.45	4.45	6.26	9.42	9.42	9.42	∞
C	st	t	st	st	st	t	t	t	T
cromosomas	37	38	39	40	41	42	43	44	
L	3.76	3.76	3.56	3.56	3.56	3.56	2.92	1.98	
l	2.78	1.78	2.76	2.76	2.57	2.97	2.72	1.77	
c	0.98	0.98	0.80	0.80	0.99	0.59	0.20	0.21	
r	2.83	2.83	3.45	3.45	2.59	5.03	13.6	8.42	
C	sm	sm	st	st	sm	st	t	t	

Caracterización cariotípica: 4m+10sm+50st+20t+4T

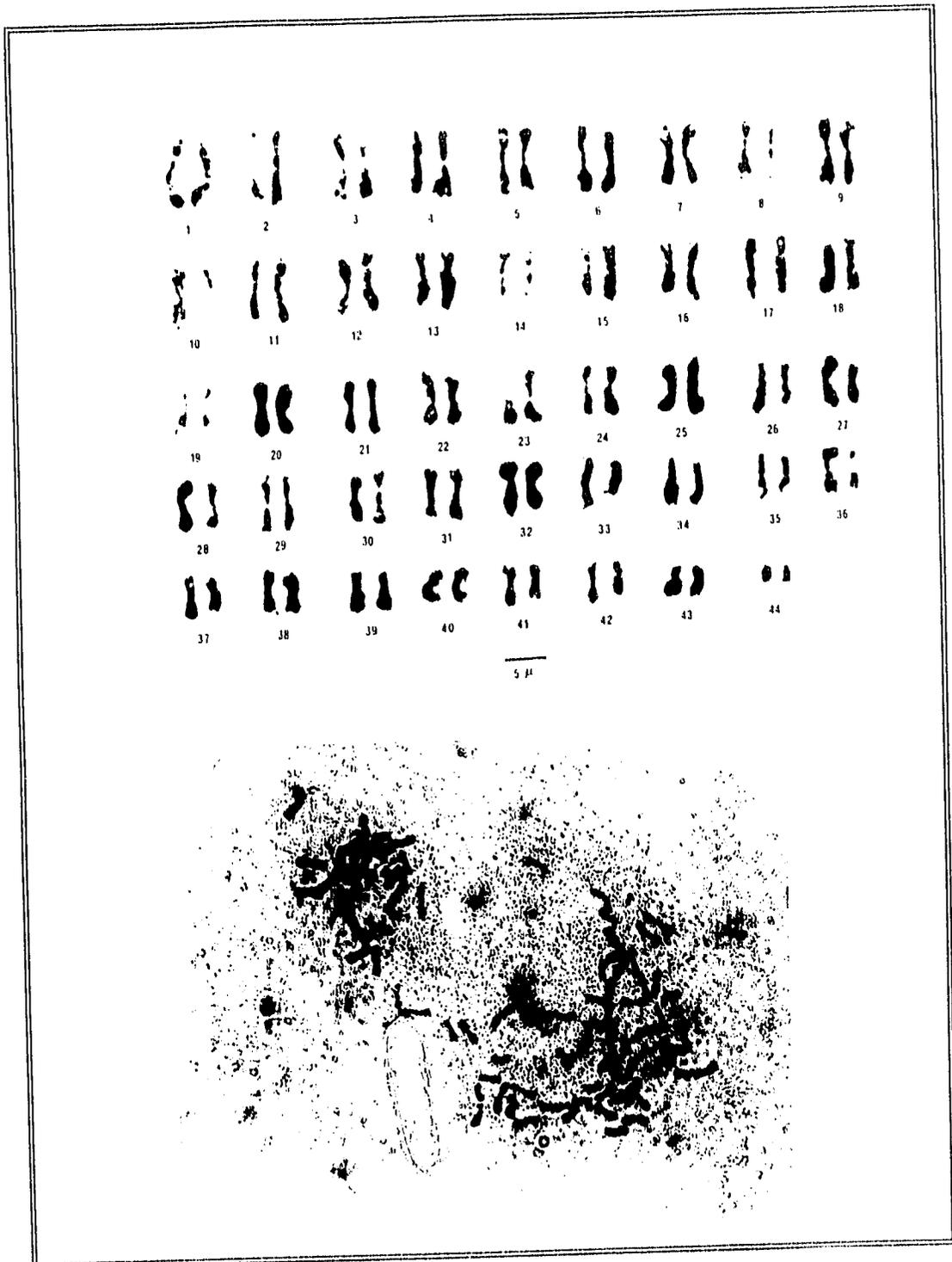


Fig. 7. Segunda metafase analizada de Penaeus vannamei.  
 $2n=88$ ,  $4m+10sm+50st+20t+4T$ .

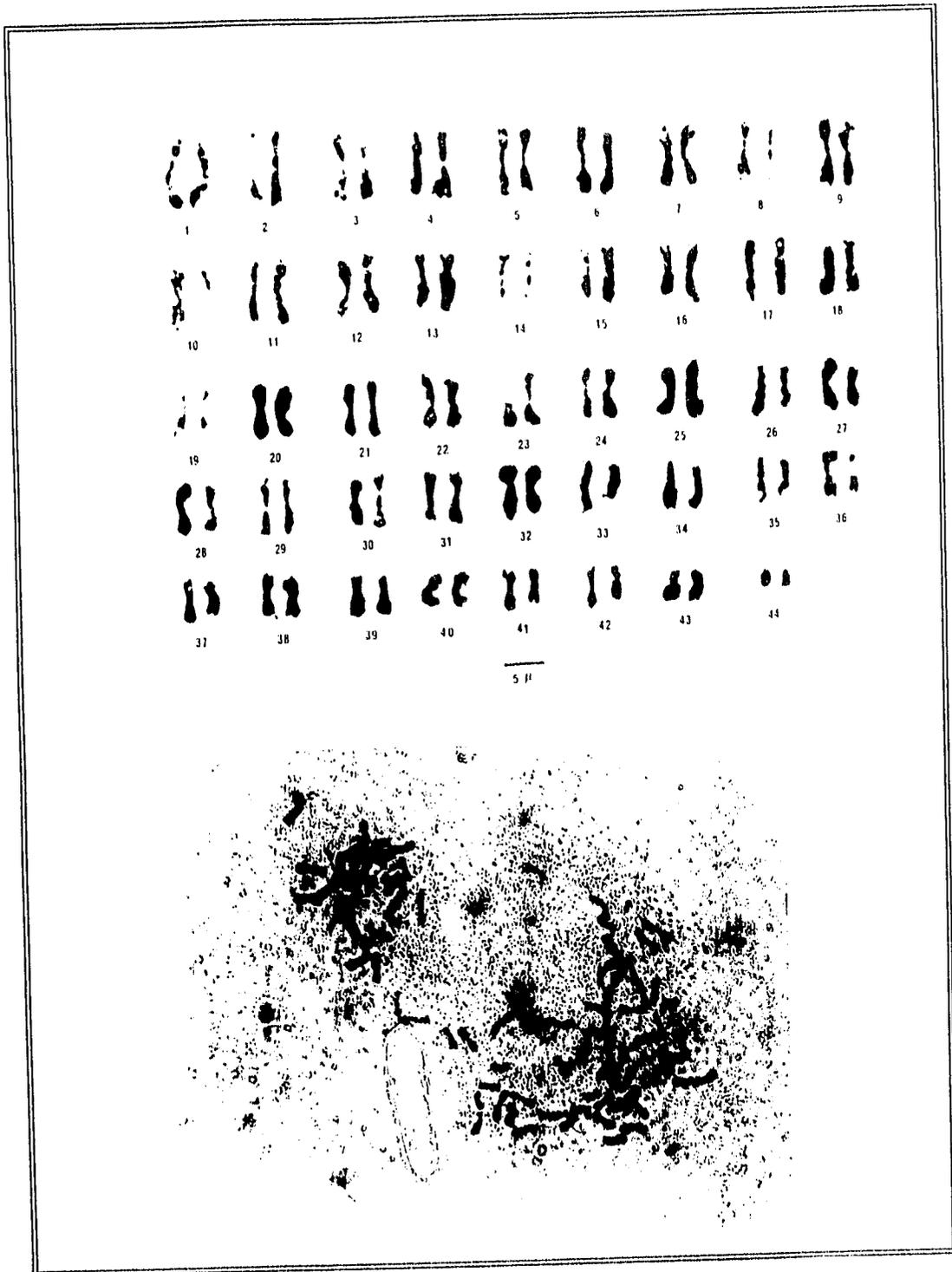


Fig. 7. Segunda metafase analizada de *Penaeus vannamei*.  
 $2n=88$ ,  $4m+10sm+50st+20t+4T$ .

Tabla 8. Valores relativos de la tercera metafase analizada para la identificación de cromosomas de Penaeus vannamei. Longitud total (L), longitud del brazo largo (l), longitud del brazo corto (c), radio de los brazos (r), y clasificación (C).

cromosomas	1	2	3	4	5	6	7	8	9
L	3.16	3.16	3.16	3.16	3.16	3.16	3.16	3.16	3.16
l	2.57	3.16	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.36
c	0.59	0	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.80
r	4.35	∞	4.35	4.35	4.35	4.35	4.35	4.35	2.95
C	st	T	st	st	st	st	st	st	sm
cromosomas	10	11	12	13	14	15	16	17	18
L	3.16	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.36	2.36
l	1.98	2.17	2.36	2.17	2.17	2.17	2.17	1.77	1.98
c	1.18	0.59	0.40	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.38
r	1.67	3.67	5.90	3.67	3.67	3.67	3.67	3.0	5.21
C	m	st	st	st	st	st	st	sm-st	st
cromosomas	19	20	21	22	23	24	25	26	27
L	2.36	2.36	2.36	2.36	2.36	2.36	2.36	2.36	2.36
l	1.77	1.37	1.77	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.77
c	0.59	0.99	0.59	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.59
r	3.0	1.38	3.0	5.21	5.21	5.21	5.21	5.21	3.0
C	sm-st	m	st	st	st	st	st	st	sm-st
cromosomas	28	29	30	31	32	33	34	35	36
L	2.36	2.17	2.17	1.98	1.98	1.98	1.77	1.77	1.77
l	1.98	2.17	1.77	1.58	1.58	1.98	1.77	1.37	1.77
c	0.38	0	0.40	0.40	0.40	0	0	0.40	0
r	5.21	∞	4.42	3.95	3.95	∞	∞	3.42	∞
C	st	T	st	st	st	T	T	st	T
cromosomas	37	38	39	40	41	42	43	44	
L	1.77	1.77	1.77	1.58	1.58	1.58	1.58	1.37	
l	1.18	1.18	1.37	1.37	1.18	1.58	1.58	1.37	
c	0.59	0.59	0.40	0.21	0.40	0	0	0	
r	2	2	3.42	6.52	2.95	∞	∞	∞	
C	sm	sm	st	st	sm	T	T	T	

Caracterización cariotípica: 4m+10sm+58st+16T

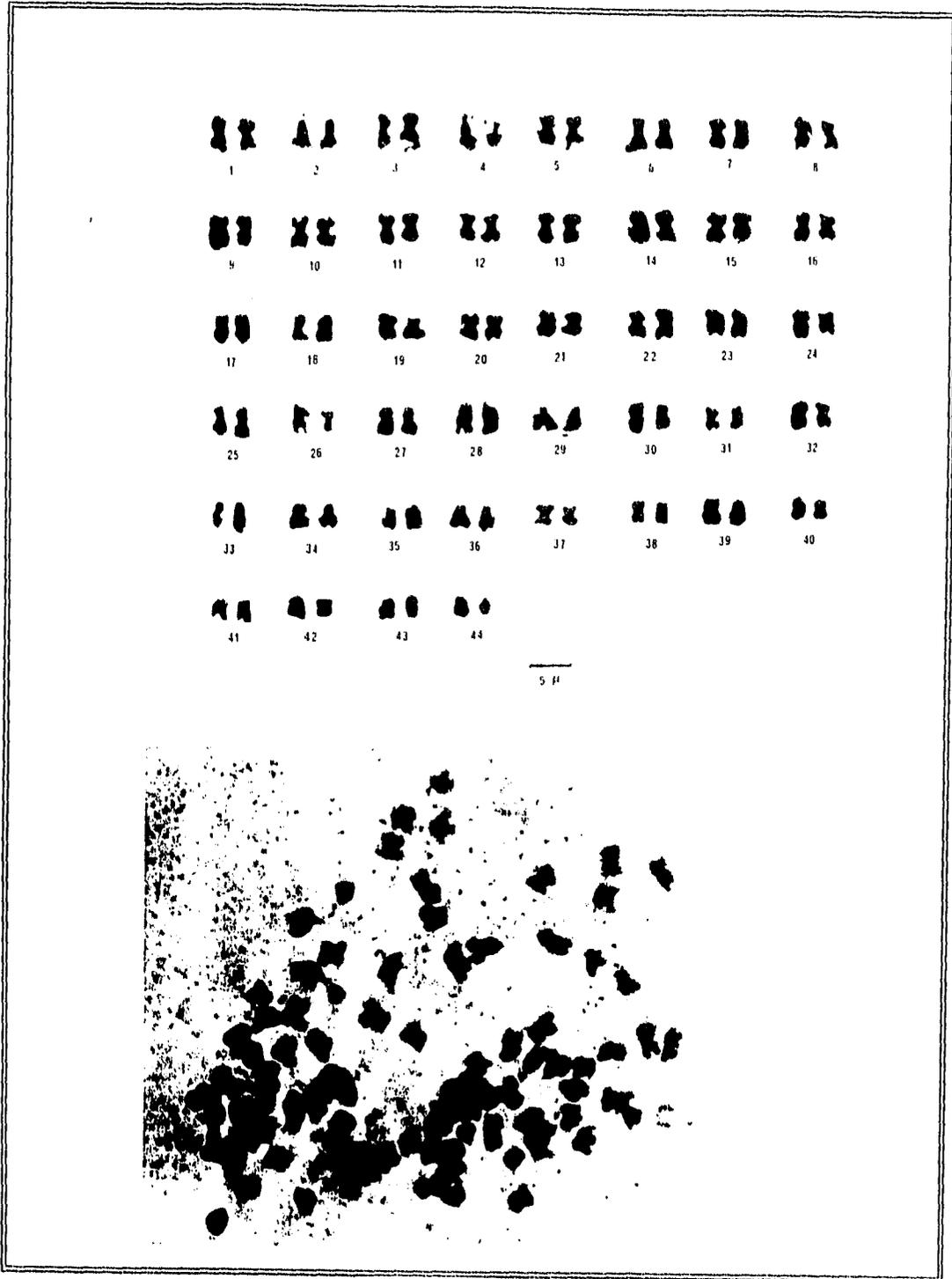


Fig. 8. Tercera metafase analizada de *Penaeus vannamei*.  
 $2n=88, 4m+10sm+58st+16T$

Tabla 9. Longitud relativa promedio (LR  $\pm$  d.s.), radio de los brazos promedio (r  $\pm$  d.s.), y clasificación "C", de tres metafases de Penaeus vannamei.

No. Par	LR	d.s.	r	d.s.	C *
1	5.95	2.480	3.87	0.562	st
2	5.55	2.099	11.0	6.340	t
3	5.55	2.099	4.31	0.699	st
4	5.40	2.036	4.45	0.505	st
5	5.40	2.036	4.45	0.505	st
6	5.40	2.036	4.45	0.505	st
7	5.28	1.995	4.34	0.659	st
8	5.28	1.995	6.96	2.230	st-t
9	5.28	1.995	2.66	0.242	sm
10	5.15	1.822	1.47	0.173	m
11	5.02	2.041	6.53	2.490	st-t
12	5.02	2.041	4.76	1.120	st
13	4.88	2.003	4.84	2.355	st-t
14	4.88	2.003	4.64	0.949	st
15	4.88	2.003	4.64	0.949	st
16	4.88	2.003	4.64	0.949	st
17	4.48	2.003	4.13	1.046	st
18	4.48	2.003	4.85	0.439	st
19	4.48	2.003	4.76	2.026	st
20	4.48	2.003	1.44	0.200	m
21	4.35	1.822	4.67	2.070	st
22	4.35	1.822	4.74	0.635	st
23	4.35	1.822	4.74	0.635	st
24	4.35	1.822	4.74	0.635	st
25	4.35	1.822	6.43	2.268	st-t
26	4.35	1.822	4.74	0.635	st
27	4.35	1.822	2.48	0.500	sm
28	4.22	1.654	5.42	0.549	st
29	4.16	1.761	5.68	5.640	st-t
30	4.03	1.712	4.98	0.928	st
31	3.96	1.814	4.82	1.096	st
32	3.96	1.814	6.20	2.206	st-t
33	3.82	1.787	5.94	5.109	st-t
34	3.76	1.894	5.11	4.711	st-t
35	3.76	1.894	6.26	2.920	st-t
36	3.76	1.894	5.93	3.423	st-t
37	3.55	1.696	2.51	0.438	sm
38	3.55	1.696	2.51	0.438	sm
39	3.48	1.686	4.15	1.222	st
40	3.29	1.598	7.12	3.930	t
41	3.29	1.598	2.52	0.468	sm
42	3.29	1.598	3.36	2.900	st
43	2.83	1.196	7.53	6.800	t
44	2.03	0.694	4.89	4.399	st-t

\* m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, st=subtelocéntrico, t=acrocéntrico. Cariotipo: 4m+10sm+57st+17t

Penaeus californiensis:

En la primera metafase analizada (Tabla 10), un par cromosómico fué metacéntrico (m), el número 11. Cinco pares fueron submetacéntricos (sm), los No. 16, 25, 31, 33 y 42. 21 pares fueron subtelocéntricos (st), los No. 5, 9, 10, 12, 15, 17 al 22, 24, 26 al 29, 32, y 34 al 37. Ocho pares fueron acrocéntricos (t), los No. 1 al 4, 6 al 8, y 13. El resto, nueve pares fueron telocéntricos (T), los No. 14, 23, 30, y 38 al 41, 43 y 44. El cariotipo en esta metafase quedó caracterizado de la siguiente forma:  $2m+10sm+42st+16t+18T$  (Fig. 9).

En las segunda y tercera metafases analizadas (Tablas 11 y 12), se observaron dos metafases muy similares. Dos pares cromosómicos fueron metacéntricos (m), los No. 11 y 16. Cinco pares fueron submetacéntricos (sm), los No. 9, 25, 31, 33 y 42. 28 pares fueron subtelocéntricos (st), los No. 1 al 8, 10, 12, 13, 15, 17 al 22, 24, 26 al 29, 32, y 34 al 37, y nueve pares fueron telocéntricos (T), los No. 14, 23, 30, del 38 al 41, 43 y 44. El cariotipo en estas dos metafases coincidió quedando caracterizado de la siguiente manera:  $4m+10sm+56st+18T$  (Figs. 10 y 11).

En la Tabla 13 se muestra la longitud relativa promedio y el radio de los brazos promedio con sus respectivas desviaciones estandar y la clasificación final del cariotipo de la tres metafases analizadas (Tablas 10, 11 y 12). En la clasificación de la Tabla 9 se observan dos tipos principales de cariotipos. Al considerar los pares cromosómicos telocéntricos "T" como

acrocéntricos "t", y los pares no. 4, 6, 7 y 8 como acrocéntricos "t", se obtuvo:  $4m+10sm+48st+26t$ . El otro tipo fué:  $4m+10sm+56st+18t$ , en donde se consideraron a los pares 4, 6, 7 y 8 como subtelocéntricos "st". Lo anterior se debe a que la desviación estandar de cada par cromosómico (No. 4, 6, 7 y 8), los incluyó como "st" o "t". En una caracterización intermedia entre los "st" y "t" se obtuvo:  $52st+22t$ .

El cariotipo de P. californiensis quedó caracterizado de la siguiente forma:  $4m+10sm+52st+22t$ .

Tabla 10. Valores relativos de la primera metafase analizada para la identificación de cromosomas de Penaeus californiensis. Longitud total (L), longitud del brazo largo (l), longitud del brazo corto (c), radio de los brazos (r), y clasificación (C).

cromosomas	1	2	3	4	5	6	7	8	9
L	5.76	5.76	5.76	5.36	5.36	5.15	5.15	5.15	4.96
l	5.04	5.04	5.04	4.72	4.64	4.56	4.56	4.56	3.76
c	0.72	0.72	0.72	0.64	0.72	0.59	0.59	0.59	1.20
r	7	7	7	7.3	6.44	7.7	7.7	7.7	3.13
C	t	t	t	t	st	t	t	t	st
cromosomas	10	11	12	13	14	15	16	17	18
L	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75	4.56	4.56	4.56	4.56
l	3.96	2.97	3.76	4.16	4.75	3.96	2.97	3.96	3.96
c	0.79	1.78	0.99	0.59	0	0.60	1.59	0.60	0.60
r	5.02	1.67	3.79	7	$\infty$	6.70	1.87	6.70	6.70
C	st	m	st	t	T	st	sm	st	st
cromosomas	19	20	21	22	23	24	25	26	27
L	4.16	4.16	4.16	3.96	3.96	3.96	3.76	3.76	3.76
l	3.56	3.56	3.56	3.37	3.96	3.37	2.76	3.16	3.16
c	0.60	0.60	0.60	0.59	0.00	0.59	1.00	0.60	0.60
r	5.93	5.93	5.93	5.71	$\infty$	5.71	2.76	5.26	5.26
C	st	st	st	st	T	st	sm	st	st
cromosomas	28	29	30	31	32	33	34	35	36
L	3.76	3.76	3.76	3.56	3.55	3.55	3.37	2.97	2.97
l	3.16	3.16	3.76	2.57	2.97	2.57	2.76	2.57	2.57
c	0.60	0.60	0.00	0.99	0.58	0.98	0.61	0.40	0.40
r	5.26	5.26	$\infty$	2.59	5.12	2.62	4.52	6.42	6.42
C	st	st	T	sm	st	sm	st	st	st
cromosomas	37	38	39	40	41	42	43	44	
L	2.97	2.76	2.76	2.57	2.57	1.98	1.77	1.58	
l	2.57	2.76	2.76	2.57	2.57	1.37	1.77	1.58	
c	0.40	0	0	0	0	0.61	0	0	
r	6.42	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	2.24	$\infty$	$\infty$	
C	st	T	T	T	T	sm	T	T	

Caracterización cariotípica: 2m+10sm+42st+16t+18T

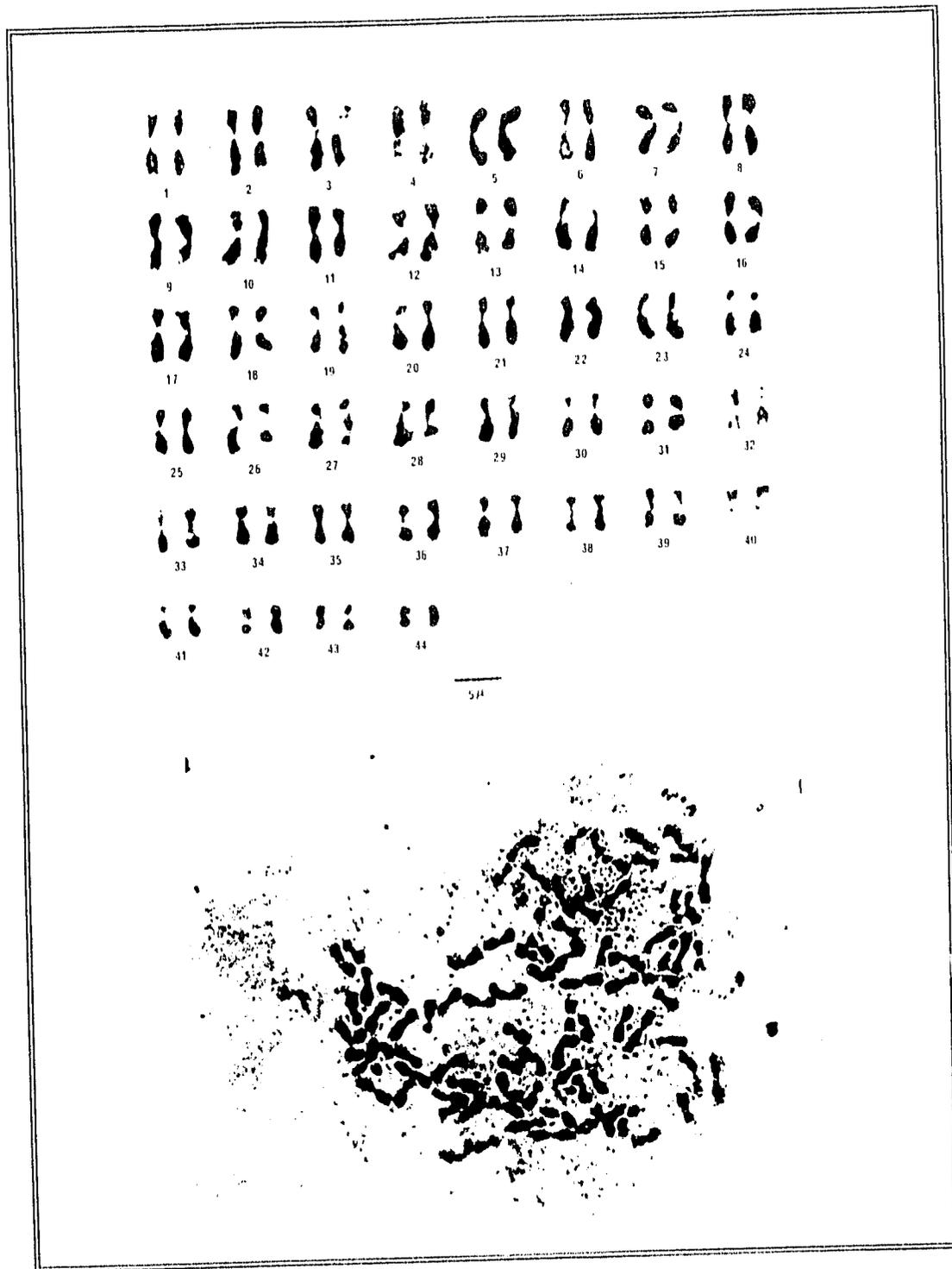


Fig. 9. Primera metafase analizada de Penaeus californiensis.  
 $2n=88$ ,  $2m+10sm+42st+16t+18T$ .

Tabla 11. Valores relativos de la segunda metafase analizada para la identificación de cromosomas de Penaeus californiensis. Longitud total (L), longitud del brazo largo (l), longitud del brazo corto (c), radio de los brazos (r), y clasificación (C).

cromosomas	1	2	3	4	5	6	7	8	9
L	3.96	3.76	3.76	3.76	3.37	3.16	3.16	2.97	2.97
l	3.16	3.16	3.16	3.16	2.76	2.57	2.57	2.57	1.98
c	0.80	0.60	0.60	0.60	0.61	0.59	0.59	0.40	0.99
r	3.95	5.26	5.26	5.26	4.52	4.35	4.35	6.42	2.00
C	st	sm							
cromosomas	10	11	12	13	14	15	16	17	18
L	2.97	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76
l	2.57	1.58	2.17	2.36	2.76	2.17	1.58	2.36	2.36
c	0.40	1.18	0.59	0.40	0	0.59	1.18	0.40	0.40
r	6.42	1.33	3.67	5.90	∞	3.67	1.33	5.90	5.90
C	st	m	st	st	T	st	m	st	st
cromosomas	19	20	21	22	23	24	25	26	27
L	2.76	2.57	2.57	2.57	2.36	2.36	2.36	2.36	2.17
l	2.36	2.17	2.17	2.17	2.36	1.98	1.77	1.98	1.77
c	0.40	0.40	0.40	0.40	0	0.38	0.59	0.38	0.40
r	5.90	5.42	5.42	5.42	∞	5.21	3	5.21	4.42
C	st	st	st	st	T	st	sm	st	st
cromosomas	28	29	30	31	32	33	34	35	36
L	2.17	2.17	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.77	1.77
l	1.77	1.77	1.98	1.37	1.58	1.37	1.58	1.37	1.37
c	0.40	0.40	0	0.61	0.40	0.61	0.40	0.40	0.40
r	4.42	4.42	∞	2.24	3.95	2.24	3.95	3.42	3.42
C	st	st	T	sm	st	sm	st	st	st
cromosomas	37	38	39	40	41	42	43	44	
L	1.77	1.58	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	
l	1.37	1.58	1.37	1.37	1.37	0.87	1.37	1.37	
c	0.40	0	0	0	0	0.50	0	0	
r	3.42	∞	∞	∞	∞	1.74	∞	∞	
C	st	T	T	T	T	sm	T	T	

Caracterización cariotípica: 4m+10sm+56st+18T

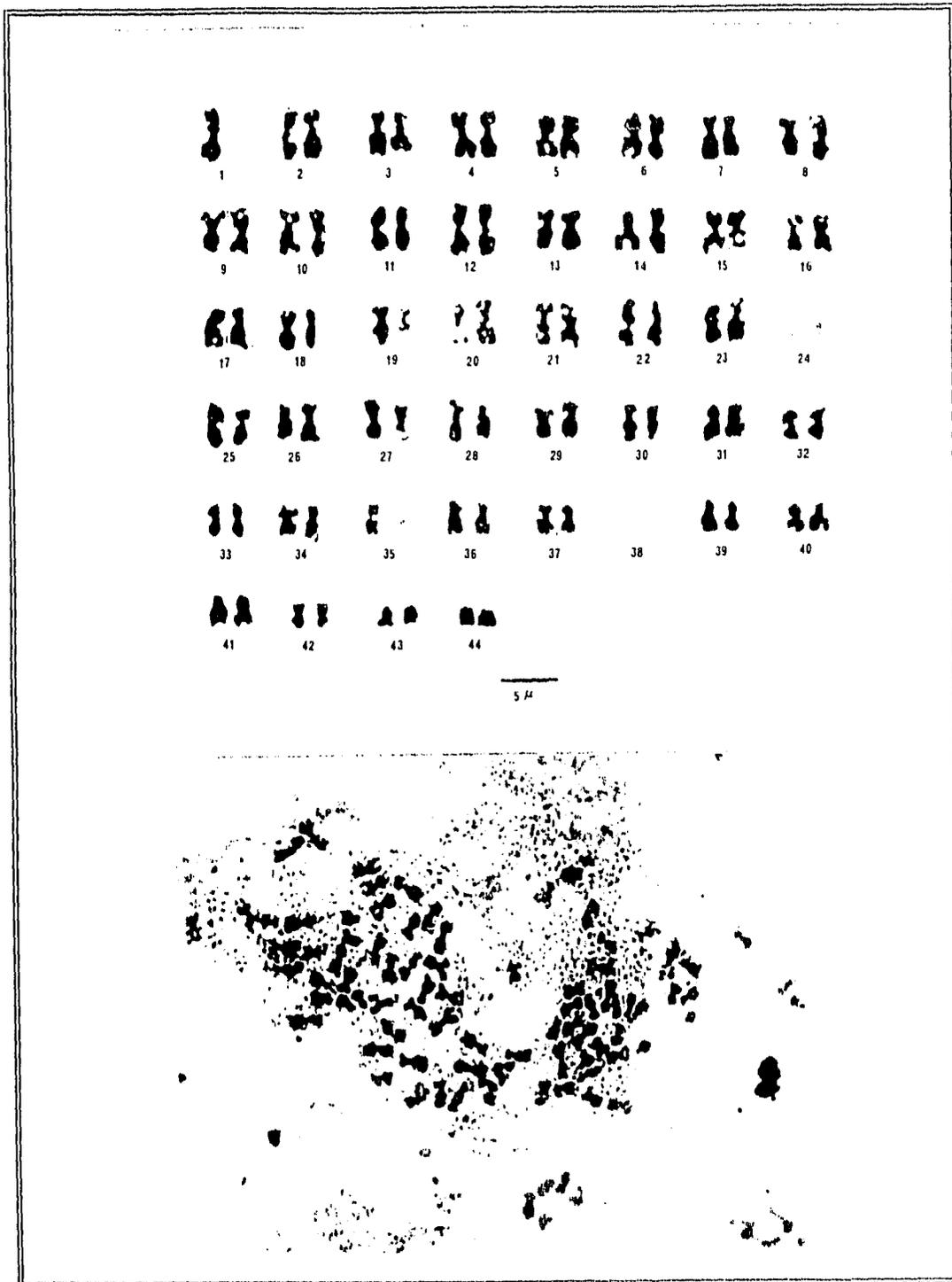


Fig. 10. Segunda metafase analizada de Penaeus californiensis.  
 $2n=88, 4m+10sm+56st+18t$ .

Tabla 12. Valores relativos de la tercera metafase analizada para la identificación de cromosomas de Penaeus californiensis. Longitud total (L), longitud del brazo largo (l), longitud del brazo corto (c), radio de los brazos (r), y clasificación (C).

cromosomas	1	2	3	4	5	6	7	8	9
L	4.36	4.36	3.96	3.96	3.96	3.96	3.76	3.56	3.56
l	3.56	3.76	3.37	3.37	3.37	3.37	3.16	2.97	2.36
c	0.80	0.60	0.59	0.59	0.59	0.59	0.60	0.59	1.20
r	4.45	6.26	5.71	5.71	5.71	5.71	5.26	5.03	1.96
C	st	sm							
cromosomas	10	11	12	13	14	15	16	17	18
L	3.56	3.56	3.56	3.37	3.37	3.16	3.16	3.16	2.97
l	2.76	2.17	2.97	2.76	3.37	2.57	1.77	2.57	2.36
c	0.80	1.39	0.59	0.61	0	0.59	1.39	0.59	0.61
r	3.45	1.56	5.03	4.52	∞	4.35	1.27	4.35	3.86
C	st	m	st	st	T	st	m	st	st
cromosomas	19	20	21	22	23	24	25	26	27
L	2.97	2.97	2.97	2.97	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76
l	2.36	2.57	2.57	2.57	2.76	2.17	1.98	2.17	2.17
c	0.61	0.40	0.40	0.40	0	0.59	0.78	0.59	0.59
r	3.86	6.42	6.42	6.42	∞	3.67	2.53	3.67	3.67
C	st	st	st	st	T	st	sm	st	st
cromosomas	28	29	30	31	32	33	34	35	36
L	2.57	2.57	2.57	2.36	2.17	2.17	2.17	2.17	2.17
l	2.17	2.17	2.57	1.77	1.77	1.58	1.77	1.77	1.77
c	0.40	0.40	0	0.59	0.40	0.59	0.40	0.40	0.40
r	5.42	5.42	∞	3	4.42	2.67	4.42	4.42	4.42
C	st	st	T	sm	st	sm	st	st	st
cromosomas	37	38	39	40	41	42	43	44	
L	2.17	2.17	2.17	2.17	2.17	1.98	1.77	1.58	
l	1.77	2.17	2.17	2.17	2.17	1.37	1.77	1.58	
c	0.40	0	0	0	0	0.61	0	0	
r	4.42	∞	∞	∞	∞	2.24	∞	∞	
C	st	T	T	T	T	sm	T	T	

Caracterización cariotípica: 4m+10sm+56st+18T

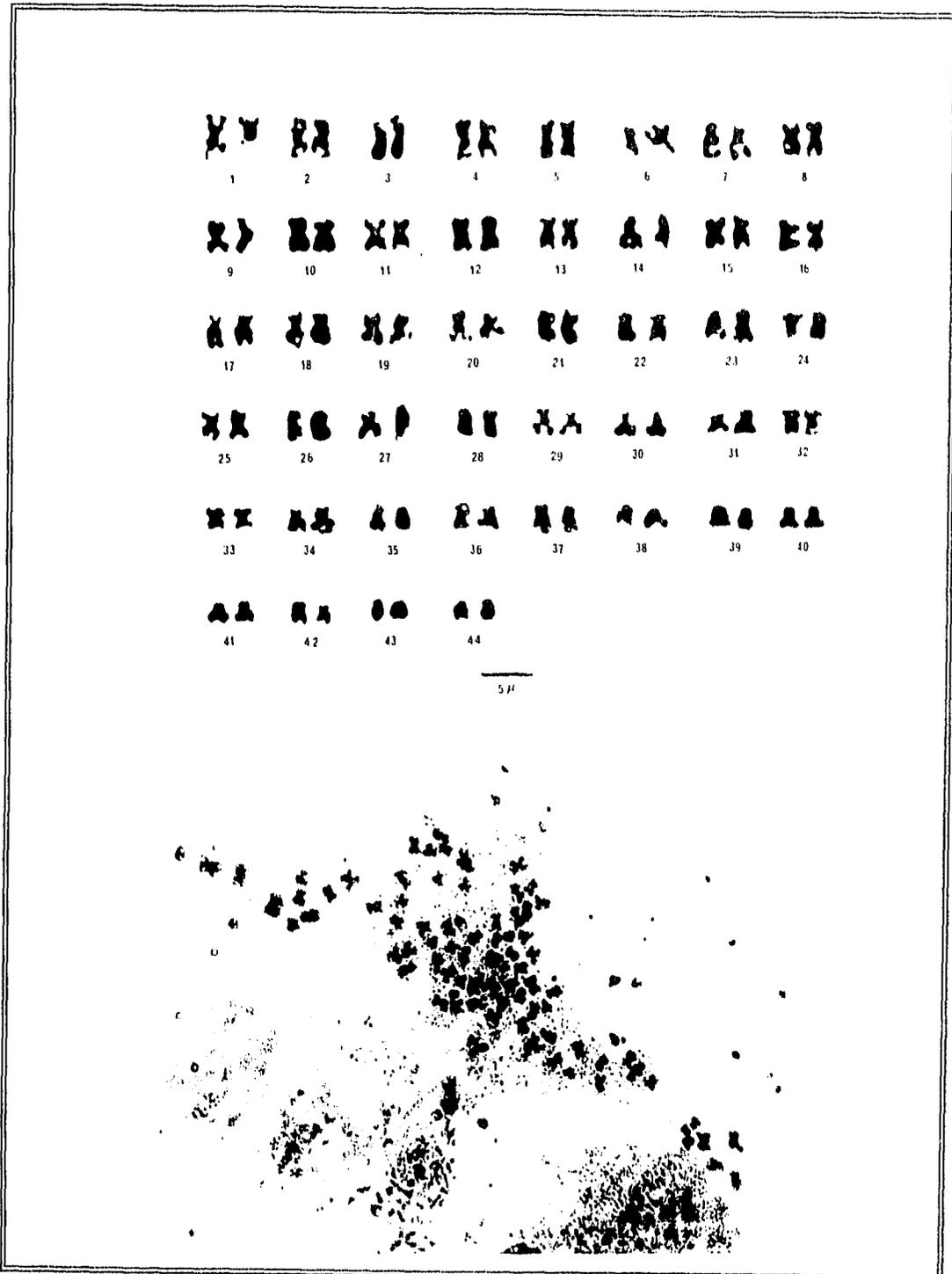


Fig. 11. Tercera metafase analizada de *Penaeus californiensis*.  
 $2n=88, 4m+10sm+56st+18t$ .

Tabla 13. Longitud relativa promedio (LR  $\pm$  d.s.), radio de los brazos promedio (r  $\pm$  d.s.), y clasificación "C", de tres metafases de Penaeus californiensis.

No. Par	LR	d.s.	r	d.s.	C *
1	4.68	0.939	5.13	1.635	st
2	4.62	1.024	6.17	0.873	st
3	4.49	1.099	5.99	0.903	st
4	4.35	0.868	6.09	1.071	st-t
5	4.22	1.017	5.55	0.969	st
6	4.09	0.996	5.92	1.685	st-t
7	4.01	1.017	5.77	1.732	st-t
8	3.88	1.124	6.38	1.335	st-t
9	3.82	1.017	2.36	0.664	sm
10	3.76	0.904	4.96	1.485	st
11	3.69	0.996	1.52	0.174	m
12	3.69	0.996	4.15	0.734	st
13	3.63	1.016	5.80	1.242	st
14	3.63	1.016	$\infty$	-	T
15	3.48	0.939	4.90	1.588	st
16	3.48	0.939	1.49	0.323	m
17	3.48	0.939	5.65	1.194	st
18	3.42	0.979	5.48	1.464	st
19	3.29	0.750	5.23	1.186	st
20	3.23	0.822	5.92	0.500	st
21	3.23	0.822	5.92	0.500	st
22	3.16	0.715	5.85	0.514	st
23	3.02	0.832	$\infty$	-	T
24	3.02	0.832	4.86	1.063	st
25	2.96	0.715	2.64	0.164	sm
26	2.96	0.715	4.72	0.919	st
27	2.89	0.800	4.45	0.795	st
28	2.83	0.822	5.03	0.537	st
29	2.83	0.822	5.03	0.537	st
30	2.76	0.904	$\infty$	-	T
31	2.64	0.825	2.61	0.380	sm
32	2.56	0.854	4.49	0.588	st
33	2.56	0.854	2.52	0.181	sm
34	2.51	0.753	4.29	0.304	st
35	2.30	0.609	4.75	1.527	st
36	2.30	0.609	4.75	1.527	st
37	2.30	0.609	4.75	1.527	st
38	2.17	0.590	$\infty$	-	T
39	2.09	0.697	$\infty$	-	T
40	2.03	0.609	$\infty$	-	T
41	2.03	0.609	$\infty$	-	T
42	1.77	0.350	2.07	0.288	sm
43	1.63	0.230	$\infty$	-	T
44	1.50	0.118	$\infty$	-	T

\* m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, st=subtelocéntrico, t=acrocéntrico T=telocéntrico. Cariotipo: 4m+10sm+53st+21t

Número modal haploide:

En los resultados de conteo de número de cromosomas de metafases meióticas (Tabla 14) el número modal haploide para ambas especies fué de  $n=44$ . Los conteos variaron de 38 a 47 cromosomas bivalentes.

En la Fig. 12 se observan metafases meióticas haploides de las dos especies, las cuales se obtuvieron del tejido del testículo.

Estos resultados se obtuvieron en 3 de 6 machos de camarón blanco y en 4 de 6 machos de camarón café.

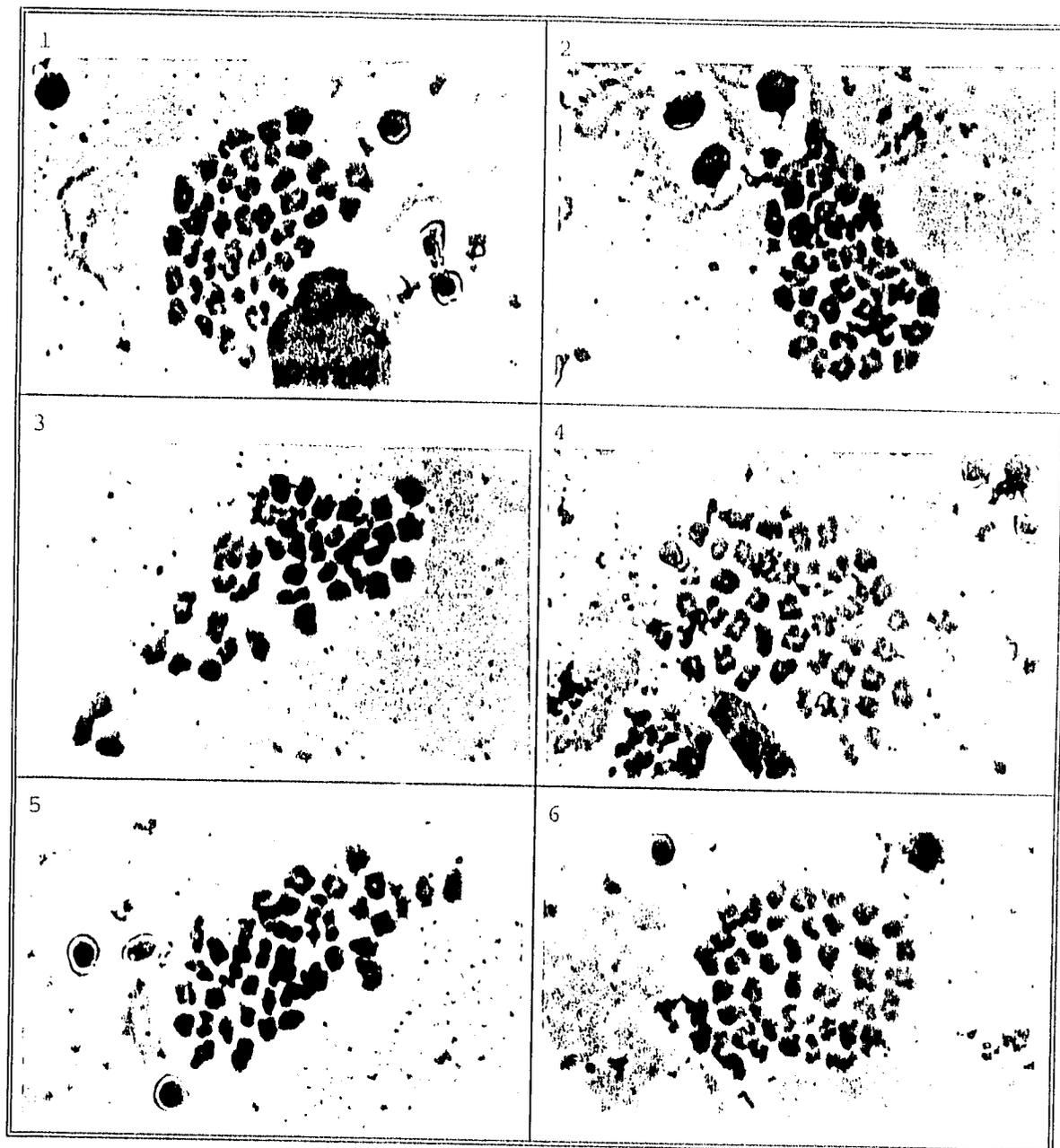
Tabla 14. Número de metafases haploides de cada especie. Números cromosómicos (NC) obtenidos en testículo de tres individuos de Penaeus vannamei y de cuatro individuos de Penaeus californiensis.

<u>P. vannamei:</u>											
NC	38	39	40	41	42	43	44 *	45	46	47	total
Ind.											
1	1	0	2	2	2	4	8	3	1	0	23
2	0	0	2	2	4	7	15	8	3	1	42
3	0	1	2	3	2	1	6	3	0	0	18
total	1	1	6	7	8	12	29	14	4	1	83
porcentaje	1.2	1.2	7.2	8.4	9.6	14.4	34.9	16.8	4.8	1.2	100

<u>P. californiensis:</u>											
NC	38	39	40	41	42	43	44 *	45	46	47	total
Ind.											
1	0	4	1	2	3	0	8	4	0	0	22
2	1	1	3	1	0	0	7	2	1	0	16
3	1	0	0	0	4	4	9	2	0	0	20
4	5	2	6	4	1	5	10	5	1	0	39
total	7	7	10	7	8	9	34	13	2	0	97
porcentaje	7.2	7.2	10.3	7.2	8.2	9.2	35	13.4	2	0	100

\* moda haploide



15  $\mu$

Fig. 12. Metafasas meióticas haploides de cromosomas obtenidas de testículo. Foto 1 a 3 Penaeus vannamei, 4 a 6 Penaeus californiensis.

## DISCUSION

### Cariotipos:

En la primera metafase de Penaeus vannamei (Tabla 6), no se presentó en ningún cromosoma una morfología de tipo "T". De las tres metafases analizadas, ésta fué la que presentó una menor condensación cromosómica. Debido a ésto, se diferenciaron los brazos cortos en el par cromosómico número 44 (entre otros), aunque la nitidez de los cromosomas se deterioró. En la tercera metafase (Tabla 8) se observó la mayor condensación cromosómica y el resultado del cariotipo fué más estrecho, en el sentido de no observar pares cromosómicos "t".

En el análisis de la primera metafase de Penaeus californiensis (Tabla 10), con un grado de condesación cromosómica bajo, no fué posible distinguir los brazos cortos en la fotografía en los pares cromosómicos 23, 38 al 41, 43 y 44, por lo que se clasificaron como "T". En la segunda y tercera metafases analizadas (Tablas 11 y 12) se apreció una morfología muy similar bajo una condensación intermedia, la cual permitió distinguir los brazos cortos particularmente en los "st" y "T", sin embargo debido a esta condensación, no se diferenciaron cromosomas "t" de los "T".

En teoría los radios de los cromosomas deberían de permanecer constantes (Jixun et. al., 1989), sin embargo, la falta de nitidez de la fotografía posiblemente causa errores de apreciación.

Los cromosomas "T" corresponden al centrómero terminal sensu

stricto, no hay evidencia citogenética de los mismos (Levan et. al., 1964). Se considera que posiblemente una alta condensación cromosómica cause que los brazos cortos no se distingan y sean clasificados como "T". Debido a esta apreciación, los cromosomas "T" se caracterización en los cariotipos como "t".

Debe resaltarse que fué posible la identificación de los cromosomas metacéntricos (11 y 16 en café y 10 y 20 en blanco), submetacéntricos (9, 25, 31, 33, y 42 en café y 9, 27, 37, 38 y 41 en blanco).

En ninguna de las metafases analizadas de ambas especies se identificaron cromosomas sexuales.

Particularmente, los pares cromosómicos metacéntricos y submetacéntricos repetidos en las metafases analizadas, podrían utilizarse como marcadores genéticos cromosómicos y complementarios para estudios de poblacionales o híbridos.

No se analizaron más metafases debido a la alta condensación cromosómica y a la falta de una mejor definición de los cromosomas en las fotografías. Una tinción diferencial de bandeado podría dar más información a un nivel de morfología fina de los cromosomas.

La mayoría de los cromosomas en los cariotipos de los peneidos son subtelocéntricos o acrocéntricos (Tabla 1). El gran número y el tamaño pequeño de los cromosomas, con una disminución progresiva en longitud, hacen difícil identificarlos individualmente, y es aún más difícil distinguir entre cromosomas subtelocéntricos y acrocéntricos.

En este estudio se consideró que los cariotipos de las dos especies variaron muy poco y no existió la posibilidad de diferenciarlas con certeza. Por esto, se consideró conveniente el presentar el cariotipo intermedio de ambas especies como: 4m+10sm+55st+19t.

Mayorga (1982), estudió a cuatro penaeidos del Pacífico oriental (Tabla 1), encontrando que las cuatro especies presentaron el mismo cariotipo, por lo que hasta este momento no es posible diferenciar especies de peneidos del Pacífico oriental, mediante el análisis de los cariotipos.

Cabe señalar que el presente estudio, es el único trabajo en donde se asemejó una caracterización cromosómica de Penaeus vannamei y P. californiensis con otra región geográfica:

La caracterización general descrita por Mayorga (1982), no difirió mucho de este trabajo. La principal diferencia radicó en los 14 cromosomas en forma de "X", que en este trabajo se contemplan como 4m + 10sm y los 76 cromosomas tipo "R", que se contemplan como 55st + 19t, sin referenciar dos pares de cromosomas subtelocéntricos que se discuten posteriormente.

Se considera necesario establecer un análisis de cariotipo estandar para obtener estudios comparativos de varias especies y un acervo de investigación adecuado y preciso. La modificación de la técnica de secado al aire en huevos presentada en este trabajo y la clasificación de Levan et al., (1964) ampliamente utilizada en otros grupos taxonómicos, se consideran como factibles.

#### Número cromosómico:

El número cromosómico encontrado en este trabajo en las dos especies ( $2n=88$ ,  $n=44$ ), no coincidió con el reportado por Mayorga, (1982), ( $2n=92$ ,  $n=46$ ) para las mismas especies procedentes posiblemente de Centro América o del Ecuador. Sin embargo, coincidió con el número haploide ( $n=44$ ), reportado por Chow et al., (1990), quien trabajo con P. vannamei posiblemente del Pacífico Mexicano. Esta diferencia (si la procedencia fuera correcta), puede deberse a la separación geográfica, dentro del amplio grado de distribución de estas especies. Sobre la base de un número cromosómico distinto, se podría pensar en dos poblaciones distintas, o como lo establecen Chow et al. (1990), en un proceso de especiación en los penaeidos. Lo anterior tendrá que ser corroborado en el futuro mediante técnicas de biología molecular.

#### Distribución del número cromosómico en los decápodos.

Sobre la base de comparaciones en la distribución del número cromosómico de 65 especies de Decapoda (Crustacea; Malacostraca), 31 de Macrura, 8 de Anomura y 31 de Brachyura, Murofushi y Deguchi (1990), encontraron una distribución de 68 a 376 números diploides cromosómicos. En Macrura, se encontró las especies con mayor y menor número  $2n$ . Los números cromosómicos diploides en especies de Anomura y Brachyura fueron de 82 a 254 y de 74 a 168,

respectivamente. Esta gran variabilidad del número cromosómico fué clasificada en tres distintos grupos en Macrura y dos en Anomura, mientras que no fué posible clasificar algún grupo sobre la base del número cromosómico en Brachyura (Tabla 15).

Tabla 15. Distribución del número cromosómico diploide y la clasificación de las familias Macrura, Anomura y Brachyura por su número cromosómico diploide. (Tomada de Murofushi y Deguchi, 1990).

Macrura:

Grupo 1: Penaeidae    Pandalidae  
           86-90            68-72

Grupo 2: Palaemonidae    Palinuridae    Nephropidae    Cambaridae  
           102-136            112-142            136-152            188-212

Grupo 3: Astacidae  
           376

Anomura:

Grupo1: Callianassidae    Galateidae    Hippidae  
           82                    109                    120

Grupo2: Paguridae    Coenobitidae    Lithodidae  
           254                    230                    208

Brachyura:

Grupos: ?

Dromiidae    Raninidae    Calappidae    Leucosiidae    Majidae  
           74            106            94            114            106-168

Atelecyclidae    Cancridae    Portunidae    Xanthidae    Grapsidae  
           124            104-120            88-120            124            98-152

Potamonidae  
           80-82

Los grupos de números cromosómicos diploides en Macrura y Anomura parecieron estar relacionados con algún proceso de poliploidización. En Macrura, el grupo 1 con aproximadamente 80 cromosomas  $2n$ , pudo presentar una poliploidización  $4n$  formando el grupo 2 con aproximadamente 160 cromosomas  $2n$ . El grupo 2 a su vez, haber presentado una poliploidización  $4n$ , dando lugar al grupo 3 con 376 cromosomas  $2n$ . En Anomura, el grupo 1 con aproximadamente 100 cromosomas  $2n$ , pudo presentar una poliploidización  $4n$  formando el grupo 2 con aproximadamente 200 cromosomas  $2n$ . Sin embargo, los números cromosómicos diploides en especies de Brachyura son muy variables, especialmente en las familias Majidae y Grapsidae, por lo que un proceso de ploidización no pudo ser sugerido con base a sus números cromosómicos (Tabla 16).

Tabla 16. Proceso hipotético de poliploidización en Macrura, Anomura y Brachyura. (Tomada de Murofishi y Deguchi, 1990).

---

Macrura:

$4n$

$2n = 70-90$  Grupo 1 — poliploidización —  $2n = 140-180$  Grupo 2

$4n$

$2n = 140-180$  Grupo 2 — poliploidización —  $2n = 376$  Grupo 3

Anomura:

$4n$

$2n = 80-120$  Grupo 1 — poliploidización —  $2n = 160-240$  Grupo 2

Brachyura:

$4n$

$2n = 70$  Grupo ? — poliploidización —  $2n = 140$ : Majidae?  
? Grapsidae?

---

Murofushi y Deguchi (1990), también compararon los cariotipos de ocho especies de Macrura y 9 especies de Brachyura (Tabla 17). Estos cariotipos mostraron ser específicos para cada especie. En ambas divisiones (Macrura y Brachyura) hubo especies con números grandes de cromosomas meta y submetacéntricos y cromosomas subtelocéntricos y acrocéntricos. El número fundamental total de los cromosomas meta y submetacéntricos fué casi igual a aquellos subtelo y acrocéntricos: en Macrura: Metapenaeopsis barbata, Panulirus japonicus y en Brachyura: Ranina ranina.

Los números fundamentales fueron clasificados en tres grupos:

El primer grupo de especies presentó un número fundamental de alrededor de 100 (en Macrura: Trachypenaeus curvirostris y Metapenaeopsis barbata, y en Brachyura: Ranina ranina, Portunus sanguinolentus, Podophthalmus vigil, Banareja adneri y Geothelphusa dehaani).

En el segundo grupo un número fundamental de alrededor de 150 (en Macrura: Panulirus japonicus, y en Brachyura: Petaromera wilsoni, Atergatis floridus, y Holometopus haematocheir).

En el tercer grupo se incluyeron aquellas con un número fundamental mayor a 200 (en Macrura: Machrobrachium rosenbergii, Panulirus marginatus, Jasus edwardsii, Metaephrops japonicus, y Procambarus clarkii, y en Brachyura: Leptomithrax bifidus).

Tabla 17. Cariotipos de 8 especies de Macrura y 9 de Brachyura en Decapoda. Metacéntrico (M); submetacéntrico (SM); subtelocéntrico (ST); y acrocéntrico (A). (Tomada de Murofushi y Deguchi, 1990).

Especies	Cariotipos		2n	Número fundamental (M+SM) x2+ST,A
	M,SM	ST,A		
<b>Macrura:</b>				
*1 <u>Trachypenaeus curvirostris</u>	28	+ 52	80	108
*1 <u>Metapenaeopsis barbata</u>	36	+ 32	68	104
*2 <u>Machrobrachium rosenbergii</u>	92	+ 26	118	210
*3 <u>Panulirus japonicus</u>	54	+ 58	112	166
*3 <u>Panulirus marginatus</u>	102	+ 16	118	220
*3 <u>Jasus edwardsii</u>	86	+ 56	142	228
*4 <u>Metaephrops japonicus</u>	92	+ 44	136	228
*5 <u>Procambarus clarkii</u>	84	+ 104	188	272
<b>Brachyura:</b>				
*6 <u>Petaromera wilsoni</u>	66	+ 8	74	140
*7 <u>Ranina ranina</u>	54	+ 52	106	106
*8 <u>Leptomithrax bifidus</u>	66	+ 78	144	210
*9 <u>Portunus sanguinolentus</u>	18	+ 88	106	124
*9 <u>Podophthalmus vigil</u>	14	+ 90	104	118
*9 <u>Atergatis floridus</u>	44	+ 60	104	148
*10 <u>Banareja adhneri</u>	4	+ 110	114	118
*10 <u>Holometopus haematocheir</u>	44	+ 54	98	142
*11 <u>Geothelphusa dehaani</u>	30	+ 52	82	112

\* Familias:

- 1 Penaeidae
- 2 Palaemonidae
- 3 Palirunidae
- 4 Nephropidae
- 5 Cambaridae
- 6 Dromiidae
- 7 Raninidae
- 8 Majidae
- 9 Portunidae
- 10 Grapsidae
- 11 Potamonidae

El número cromosómico en el género Penaeus se encuentra en un rango de 86 a 92 cromosomas. Este rango permite distinguir a la familia Penaeidae de otras familias como: Palaemonidae (langostinos) que presentan de 100 a 136 cromosomas, Palinuridae (langostas) con 112 a 142 cromosomas o Astacidae (acociles) con 188-376 cromosomas.

El número fundamental de P. vannamei y P. californiensis en este estudio fué calculado de 102. El cálculo (no reportado por los siguientes autores) para el estudio de Mayorga (1982), para las mismas especies fué de 106. En P. aztecus de 124 (Goswami, 1985), y en P. monodon de 97 (Fanjun y Dong, 1993), por lo que todas estas especies se clasificarían en el grupo 1, Macrura, Penaeidae, con alrededor de 100 cromosomas. Solamente en P. orientalis (Jixun et al., 1989), el número calculado fué de 172, el cual lo localiza en el grupo 2, Macrura, Palaemonidae entre otras familias, con alrededor de 150 cromosomas.

Murofuchi y Deguchi (1990), concluyeron que no existe suficiente evidencia para determinar que el proceso de ploiploidización se presentó en la evolución de los decápodos. El amplio rango de variación en el número de cromosomas encontrado en estas especies parece ser causados por la flexibilidad en los cambios estructurales de los cromosomas. La fisión y la fusión en los cromosomas puede ser sugerida como una posible vía de incremento o decremento en el número cromosómico en los Decápoda.

Chow et al., (1990) argumentan en cuanto a la fusión, que pudiera ocurrir entre dos pares de cromosomas acrocéntricos sin

cambios drásticos en el contenido de ADN. Los autores ejemplifican el número cromosómico de 86 en P. japonicus reportado por Hayashi y Fujiwara (1988). Otro ejemplo en la misma especie es el reportado por Niiyama (1948), con 92 cromosomas, el cual sugiere una fusión de 92 a 86 cromosomas. Se considera que los arreglos cromosómicos han ido acompañando el proceso de especiación en el género Penaeus, y no por procesos de poliploidización.

En este trabajo se podría considerar este tipo de fusión de  $2n=92$  (Mayorga, 1982) a  $2n=88$  (Chow et al., y este estudio), cromosomas posiblemente del Ecuador hacia México en ambas especies estudiadas. La posible fusión cromosómica de 92 a 88 deja un valor intermedio de 90 aún no encontrado en camarones del Pacífico oriental americano. Existen dos datos intermedios de  $2n=90$  cromosomas: P. setiferus (Miligan, 1976; Chow et al., 1990) en el Golfo de México y P. schmitti en Cuba (Torres, *comn. pers.*). Posiblemente en el Pacífico Centro Americano se encuentre este dato intermedio.

#### Citogenética.

Las metafases mitóticas obtenidas en huevos de Penaeus californiensis en el segundo ensayo, quedaron inmersos en una micro-película (posiblemente vitelo), dificultando el conteo y la definición cromosómica en la mayoría de los campos fotografiados. La disociación de los huevos y el método de goteo se consideró drástico, lo que ocasionó que en el momento de la dispersión se

encontraran muchos campos incompletos y cromosomas dispersos.

En cuanto a la condensación cromosómica obtenida a partir de huevos, se sugiere un tiempo de 45 minutos y una concentración de 0.5 % de colchicina p/v, para estudios posteriores en cromosomas de peneidos. Con este tiempo de incubación se obtuvieron condensaciones cromosómicas intermedias. De acuerdo con Rodríguez-Romero et. al., (1991), los cromosomas con un grado intermedio de condensación, son los más apropiados para estudios de bandeo, los cuales son necesarios para un mejor análisis de los cariotipos.

El tiempo de 30 min de choque hipotónico se consideró aceptable para altas condensaciones de los cromosomas, sin embargo en algunas metafases con media y baja condensación cromosómica, se observó poca dispersión y cromosomas sobrepuestos, sin embargo el aumentar el tiempo del choque hipotónico puede resultar en una tinción difusa de los cromosomas.

Es necesario incorporar metodologías estandar reproducibles para los diferentes tejidos y estructuras utilizadas. En forma general, en la literatura, sólo dos técnicas se han utilizado para la obtención de cromosomas en el género Penaeus: la técnica de aplastamiento "squash" en larvas y la de secado al aire, en tejidos en donde las divisiones celulares son escasas como el hepatopáncreas y branquias (Jixun et. al., 1989). Con estas dos técnicas generalmente se obtienen cromosomas sumamente condensados y sobrepuestos y es prácticamente imposible el controlar la condensación cromosómica, debido al tiempo de acción del mitostático (4 horas) y al tipo de tejido que se encuentra en

división.

Se requiere un tejido con divisiones mitóticas activas para obtener un alto número de campos cromosómicos. En este sentido, los huevos, larvas y juveniles representan el material más apropiado para obtener campos cromosómicos diploides.

Para el caso de campos mitóticos haploides, la gónada es el material más apropiado, aunque el éxito en su utilización depende del estado de espermatogénesis u ovogénesis en el momento en que el animal es sacrificado, más que el tamaño o condición del animal.

En este trabajo se utilizaron hembras de camarón café a punto de desovar y con altos grados de maduración gonádica, por lo que la ovogénesis se encontraba muy avanzada obteniendo resultados negativos en la obtención de cromosomas. Probablemente se tendrían mejores resultados después del desove y ablacionando las hembras para una remaduración, esperando el primer o segundo grado de maduración gonádica.

Milligan (1976), utilizó el hepatopáncreas y describió a detalle su técnica, aunque Jixun et al., (1989) la retomaron y mencionaron que estos órganos no son los materiales biológicos más apropiados para estudiar cromosomas.

Chávez et al. (1991), realizaron un estudio citogenético con Macrobrachium rosenbergii en el que probaron niveles de concentración de colchicina inyectada de 0.25 a 2.0 microgramos/ gramo de peso y tiempos de acción para cada concentración de 3 a 20 horas a 28 °C. Su mejor tratamiento para la obtención de metafases cromosómicas a partir de la glándula antenal, fué la combinación

de 1 a 2 microgramos/gramo de peso en un tiempo de 8 a 12 horas, lo cual coincidió con las concentraciones de Milligan (1976), para hepatopáncreas y Jixun et al. (1989), para gónada de machos.

Además Chávez et al. (op. cit.), mencionaron que los campos mitóticos disminuyen considerablemente en langostinos por arriba de los 2.6 g y en particular en adultos.

En este estudio, los huevos y los testículos fueron los mejores materiales biológicos para la obtención segura de cromosomas, los ensayos con hepatopáncreas, branquias, ovarios, larvas y juveniles dieron resultados negativos.

Aplicación de la técnica en la camaronicultura.

Uno de los siguientes pasos en el cultivo de camarón es la manipulación de los cromosomas. En el caso de moluscos bivalvos ya se producen en forma comercial ostiones triploides, dado que se ha comprobado que presentan un mejor crecimiento bajo ciertas condiciones de cultivo (Allen comn. pers.). Además los organismos triploides son estériles, lo que ocasiona que la energía invertida en la reproducción sea utilizada en el crecimiento (Stanley et al., 1984).

La técnica aquí presentada permitirá confirmar la poliploidía a nivel de embrión temprano de una forma más fina que el efectuar métodos de squash y con la posibilidad de aplicar diferentes tinciones en los cromosomas.

## CONCLUSIONES

1.- Las especies de camarón Penaeus californiensis y Penaeus vannamei procedentes de aguas adyacentes de los estados de Baja California Sur, y Nayarit y sur de Sinaloa respectivamente, presentaron un número cromosómico diploide modal obtenido en huevos de  $2n=88$ . En ambas especies el número cromosómico haploide modal obtenido en testículos fué de  $n=44$ .

2.- El cariotipo en ambas especies quedó caracterizado como:  
 $4m+10sm+55st+19t$ .

3.- Sobre la base de una serie de modificaciones en la técnica de secado al aire, específicamente en la parte de disociación de tejidos, se estandarizaron dos técnicas de obtención de cromosomas bien definidos, a partir de huevos de camarón. Una técnica permitió el análisis global y la otra el análisis individual de los huevos.

4.- No se observaron diferencias cualitativas en cuanto a la concentración del mitostático, sin embargo, el tiempo de incubación influyó en el grado de condensación cromosómica. El mejor resultado se obtuvo con un tiempo de incubación de 45 minutos de colchicina, con este tiempo se obtuvieron grados intermedios de condensación cromosómica.

5.- El choque hipotónico estandar de 30 minutos fué adecuado y no se requirió experimentar esta variable en la técnica.

## REFERENCIAS

Bowman, T. E. and L. G. Abele. 1982. Classification of the recent Crustacea: 1-27. In: The Biology of Crustacea Vol I. Academic Press Inc. USA. 209 p.

Chávez Justo, C., M. Murofushi, K. Aida, and I. Hanyu. 1991. Karyological studies on the freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii. *Aquaculture*. 97:327-334.

Chevassus, B., J.M. Blanc and R. Guyomard. 1978. Les recherches en génétique appliquée à l'aquiculture. *Bull. Sci. Techn., Dép. Hidrobiol. I.N.R.A.* (3). 11 p.

Chevassus, B. and A. G. Coche. (eds.) 1986. Report of the Symposium on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture of Fish and Shellfish for Consumption and Stocking. Bordeaux, France, 27-30 May. EIFAC. Tech. Pap. CECPI, (50). 52 p.

Chow, S., W.J. Dougherty and P. A. Sandifer. 1990. Meiotic chromosome complements and nuclear DNA contents of four species of shrimps of the genus Penaeus. *Jour. of Crust. Biol.* 10(1):29-36.

Fanjun, K. and Z. Dong. 1993. The karyotype of tiger shrimp Penaeus monodon. *J. of Fish. of China.* 17(1):83-84.

Goswami, U. 1985. Chromosomal studies in Penaeus aztecus Ives prawn larvae. Mahasagar-Bull. Nation. Inst. Ocean. 18(1):75-77.

Hasegawa, M. 1981. Simple and rapid technique for a chromosome study of Crustacea. Res. Crustacea. 11:111-113.

Hayashi, K. and T. Fujiwara. 1988. A new method for obtaining metaphase chromosomes from the regeneration blastema of Penaeus (Marsupenaeus) japonicus. Nippon Suisan Gakkaishi. 54(9):1563-1565.

Jixun, D., Z. Quanqi, and B. Zhenmin. 1989. Karyotype studies on Penaeus orientalis. J. of Ocean University of Qingdao. 19(4):97-103.

Lawrence, A.L., J.P. McVey and J.V Huner. 1985. Penaeid shrimp culture: 127-152. In: Jay V. Huner and Evan Brown (eds.). Crustacean and mollusk aquaculture in the United States. Van Nostrand Reinhold, AVI BOOK. 312 p.

Levan, A., K. Fredga, and A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas. 52:201-220.

Macgregor, H.C. and J.M. Varley. 1988. Working with animal chromosomes. 2nd Ed. John Wiley & Sons. USA. 182 p.

Magallón-Barajas, F. J., G. Portillo-Clark, R. Campos-Ramos, M. A. Porchas-Cornejo, J. Naranjo-Páramo and A. Muhlia-Melo. 1994. Penaeus californiensis as a cold tolerant species in Baja California Sur, México. World Aquacul. Socie. World Aquaculture '94. New Orleans Marriott, New Orleans, Louisiana USA. January 14-18, 1994.

Mayorga, Z. M. 1982. Genética de crustaceos. Documenta. 10(85):3-6.

Milligan, D.J. 1976. A method for obtaining metaphase chromosome spreads from marine shrimp with notes on the karyotypes of Penaeus aztecus, P. setiferus, and P. duorarum. Proc. VII. World Maricul. Soc. San Diego, Cal.:327-332.

Murofushi, M. and Y. Deguchi. 1990. Karyotype evolution in Decapoda, Crustacean: 549-553. In: Hirano, R. and I. Hanyu (eds.). 1990. The Second Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 991 p.

Murofushi, M. and Y. Deguchi. 1993. A method for obtaining metaphase chromosomes from large shrimp-like crustaceans. Rep. Mishima Res.Inst.Sci.Living, Nihon Univ. 6:31-34.

Nakamura, H.K., A. Machii, K. T. Wada, M. Awaji and S. J. Townsley. 1988. A check list of Decapod chromosomes (Crustacea). Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture. 13:1-9.

Niiyama, H. 1948. Cytogenetics, Oguma Conference: 5. In: Biology Data Book (2nd ed.) Vol. I. Federation of American Societies for Experimental Biology. Bethesda, Maryland. 256 p.

Pérez Farfante, I. 1988. Illustrated key to penaeoid shrimps of commerce in the Americas. NOAA Tech. Rep. NMFS 64. U.S. Dep. of Commerce. 32 p.

Rodríguez de la Cruz, M. C. 1978. Fundamentos y consideraciones para definir la temporada de veda en alta mar, para el camarón del Pacífico Mexicano durante 1978. Departamento de Pesca. Dirección General del Instituto Nacional de la Pesca. Proyecto Camarón del Pacífico. México, D.F. 16 p.

Rodríguez-Romero, F., M. Gasca Montes de Oca and J. de la Rosa Vélez. 1991. A cytogenetic method to obtain chromosomes for studies of banding and fine morphology of karyotypes in bivalve mollusks of the family Ostreidae. Ciencias Marinas. 17(4):1-10.

Stanley, J.G., H. Herbert and S.K. Allen Jr. 1984. Growth of american oysters increased by polyploidy induced by blocking meiosis I but not meiosis II. Aquaculture. 37:147-155.

Treece, G. D. and M. E. Yates. 1988. Laboratory manual for the culture of penaeid shrimp larvae. Texas A & M Sea Grant College Program. 75 p.

Wilkins, N. M. 1981. The rationale and relevance of genetics in aquaculture: an overview. *Aquaculture*. 22:209-228.

Xiang, J. 1988. Chromosome studies on Penaeus orientalis. *Oceanologia et Limnologia sinica*. 19.(3):205-209.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi esposa Danitzia A. Guerrero por su constancia y su fé en mi para terminar el presente trabajo.

A mi madre María del Carmen Ramos Parajón, por todo su apoyo en los trámites Universitarios.

Al Dr. Faustino Rodríguez Romero del Inst. de Limnología y Ciencias del Mar, por su asesoría en la realización de la técnica citogenética.

Al Dr. Carlos Rosas Vázquez de la Fac. de Ciencias, por su apoyo en todo momento, su amistad, asesoría y revisión de esta Tesis, sin la cual no se habría culminado.

A la Dra. Georgina Espinoza L. de la Fac. de Biología de la U. de la Habana, Cuba por la acertada revisión de este trabajo.

A la MC. Ma Concepción Rodríguez de La Cruz por haber formado parte del comité tutorial, su amistad y la revisión de Tesis.

Al Biól Guillermo Portillo Clark y Biól Francisco J. Magallón, del CIBNOR, por todo el apoyo, por parte del proyecto de camarón.

A las siguientes personas del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, A.C., les doy mi agradecimiento por toda su ayuda:

Dr. Alfonso Maeda, Biól. Teodoro Reynoso, Biól. Carmen Rodríguez, Biól. Rosalia Servín y al Sr. Sergio Rosas por su apoyo técnico en el procesado de las fotografías.

En especial al Lic. Jaime Malagamba y Biól. Ricardo Dubóz de la empresa APSA, por haberme permitido la colecta del material biológico de camarón blanco.

Al siguiente comite de revisores y sinodales:

Dra. Guillermina Alcaráz Zubeldia. Fac. Ciencias, UNAM.

M en C. Ruth Celilia Vanegas Pérez. Fac. Ciencias, UNAM.

Dra. Gabriela del Valle Pignataro. CIAD, Mazatlán.

Dr. Luis A. Soto González. ICMYL, UNAM.

En forma muy especial quiero agradecer a los siguientes investigadores que se tomaron el tiempo y la dedicación para revisar este trabajo.

PhD. Silvie Dumas. CICIMAR. México.

PhD. Acacia Alcivar Warren. TUFTS UNIVERSITY, North Grafton Massachusetts. USA.

Dr. Mario Oliva Suárez. Universidad de la Habana, Cuba.

Al Dr. Luis Sergio Alvarezlajonchere por su acertada intervención académica, sin la cual este trabajo hubiera finalizado al menos 6 meses más tarde.

Al Dr. José Luis Ochoa del CIBNOR y a la Dra. Margarita Collazo de la UNAM, por todo el apoyo por parte de la Coordinación de Estudios de Posgrado.

A todos mis compañeros de trabajo.

A los que no nombré, pero que tuvieron que ver en algún punto de este trabajo les doy mi agradecimiento.