

**SUPERVIVENCIA DE POSTLARVAS DE CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*)
SOMETIDAS A LA PRUEBA DE ESTRÉS OSMÓTICO Y SU RELACIÓN
CON EL ESTADO DE MUDA**

ELIZABETH BURBANO GALLARDO

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2014**

**SUPERVIVENCIA DE POSTLARVAS DE CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*)
SOMETIDAS A LA PRUEBA DE ESTRÉS OSMÓTICO Y SU RELACIÓN CON
EL ESTADO DE MUDA**

ELIZABETH BURBANO GALLARDO

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero en Producción Acuícola**

**Director
LUIS ALEJANDRO VINATEA ARANA
MSc, PhD**

**Codirector
VILMA YOLANDA GÓMEZ NIEVES
BM**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2014**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1° del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

LUIS ALEJANDRO VINATEA ARANA, PhD
Director

VILMA YOLANDA GÓMEZ NIEVES, BM
Codirector

ARIEL EMIRO GOMEZ CERÓN, BM, Esp
Jurado Delegado

JULBRINNER SALAS BENAVIDES, Biol enf Eco
Jurado

San Juan de Pasto, febrero de 2014

DEDICATORIA

A Dios, por darme la sabiduría en esta gran etapa de aprendizaje personal y académico y la fuerza necesaria para cumplir día a día mis sueños y metas.

A mis padres Nelson Luis Burbano, Noemy Gallardo Zambrano y mi hermano Jimmy Burbano Gallardo por brindar constantemente su apoyo incondicional con el objetivo de lograr con éxito cada uno de mis logros planteados ya que ellos son un ejemplo a seguir en base a sus grandes cualidades humanas.

A mi novio Andrés González Legarda por ofrecerme el inmenso apoyo y alegría en todas las circunstancias y principalmente por darme la fuerza de impulso para realizar todas las cosas que amo hacer.

A todos mis amigos que me han acompañado a cumplir esta meta con el mejor de los éxitos.

ELIZABETH BURBANO GALLARDO

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Nariño por todo su apoyo otorgado.

Al programa de ingeniería en producción acuícola a cargo del Dr. Jorge Nelson López Macías y a Piedad Mejía Santacruz que es parte fundamental de este departamento, gracias por todas sus atenciones y esencial colaboración para la aprobación de este trabajo.

A mi Director Luis Alejandro Vinatea Arana por brindarme la oportunidad de abrir las puertas de investigación a mi formación académica, por compartir sus grandes conocimientos, experiencia e importantes valores humanos que contribuyo a mi formación profesional y experiencia personal y principalmente gracias por alojar en mi la motivación de querer ser una persona emprendedora.

A mi codirectora y asesor estadístico, profesora Vilma Yolanda Gómez Nieves y Marco Antonio Imués Figueroa, por su esfuerzo, dedicación y sugerencias para hacer de este un excelente trabajo.

A mis jurados Julbrinner Salas Benavides y Ariel Emiro Gomez Cerón, que brindaron su valioso tiempo para corregir este escrito y por su total comprensión para poder terminar a tiempo este trabajo.

A los profesores y cuerpo técnico de la universidad Federal de Santa Catarina: Dr. Felipe do Nascimento Vieira, Dr. José Luiz Pedreira Mouriño y Biol. Carlos Manoel do Espírito Santo, por su apoyo experimental y logro en el cultivo de los camarones. Así como a los técnicos y a todas aquellas personas que me apoyaron en la preparación y análisis de esta investigación en el laboratorio de camarones marinos: Marcello Mendes dos Santos, Miguel Angel Saldaña Serrano y Gabriel Fernandes Alves Jesús.

Gracias a todas aquellas personas de Brasil que me dieron una fuerza total durante mi estadía y en el acompañamiento de esta investigación.

¡Muchas Gracias!

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. GENERAL	3
2.2. ESPECÍFICOS	3
3. MARCO REFERENCIAL	4
3.1. GENERALIDADES, HÁBITAT Y BIOLOGÍA DE LA ESPECIE	4
3.2. POSICIÓN TAXONÓMICA	4
3.3. CULTIVO DE CAMARÓN (<i>Litopenaeus vannamei</i>) Y SU IMPORTANCIA ECONÓMICA	5
3.4. PRODUCCIÓN DE POSTLARVAS	6
3.5. ASPECTOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE POSTLARVAS DE CAMARÓN MARINO	7
3.6. PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA	9
3.7. MECANISMOS DE OSMORREGULACIÓN	9

3.8. PROCESO DE ECDISIS	12
3.9. ETAPAS DE MUDA EN PENEIDOS	14
3.9.1. Etapa A	14
3.9.2. Etapa B	14
3.9.3. Etapa C	14
3.9.4. Etapa D0-D1	14
3.9.5. Etapa D2-D3	14
3.9.6. Etapa E	14
3.10. EDAD Y DESARROLLO BRANQUIAL	15
3.11. PRUEBAS DE ESTRES	16
4. MATERIALES Y METODOS	18
4.1. LOCALIZACIÓN	18
4.2. MATERIALES Y EQUIPOS	19
4.2.1. Materiales	19
4.2.2. Equipos	19
4.3. INSTALACIONES	19
4.4. MATERIAL BIOLÓGICO	20
4.5. MÉTODO DE COLECTA	20
4.6 DETERMINACIÓN DE LOS ESTADÍOS DE MUDA	21
4.7. INDICÉ DE DESARROLLO BRANQUIAL	22

4.8. PRUEBA DE ESTRÉS OSMÓTICO	23
4.9. MEDICIÓN DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS	24
4.10. PESO Y TASA DE CRECIMIENTO ESPECÍFICO	24
4.11. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
4.11.1. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS	27
4.11.2. VARIABLES A EVALUAR.	28
5. RESULTADOS	29
5.1. ETAPAS DE MUDA	29
5.2. EDAD Y DESARROLLO BRANQUIAL	30
5.3. INTERACCIÓN ENTRE LAS ETAPAS DE MUDA Y LA EDAD DE LAS POSTLARVAS	32
5.4. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DEL CULTIVO	35
5.5. PESO Y TASA DE CRECIMIENTO ESPECÍFICO	37
6. DISCUSIÓN	38
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
7.1. CONCLUSIONES	42
7.2. RECOMENDACIONES	43
BIBLIOGRAFIA	44
ANEXOS	49

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Parámetros de calidad de agua para <i>L. vannamei</i> .	9
Tabla 2. Factores y tratamientos del experimento.	27
Tabla 3. Prueba de Tukey para el factor 1 (Etapas de muda).	30
Tabla 4. Comportamiento de la resistencia de las postlarvas según el desarrollo branquial al ser sometidas a la prueba de estrés.	30
Tabla 5. Prueba de Tukey para el factor 2 (Edad de las postlarvas).	31
Tabla 6. ANOVA multifactorial para supervivencia por tratamiento.	33
Tabla 7. Parámetros fisicoquímicos medidos en el tanque de producción.	35
Tabla 8. Peso seco inicial de las postlarvas	37
Tabla 9. Peso seco final de las postlarvas	37

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ciclo de muda en peneidos. Post-muda inicial (Etapa A), Post-muda final (Etapa B), Entremuda (Etapa C), Pre-muda inicial (Etapa D0-D1), Pre-muda inicial (Etapa D2-D3), Ecdisis (Etapa E).	15
Figura 2. Localización del Laboratorio de Camarones Marinos.	18
Figura 3. Tanques de cultivo para la producción de postlarvas	19
Figura 4. Producción de postlarvas <i>Litopenaeus vannamei</i> en el laboratorio de camarones marinos.	20
Figura 5. Toma de muestras de postlarvas <i>Litopenaeus vannamei</i> .	21
Figura 6. Observación de la morfología de los uropodos de postlarvas de camarón <i>Litopenaeus vannamei</i> para determinar su ciclo de muda.	21
Figura 7. Caracterización de los estadios de muda de camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> , intermuda (IM), premuda inicial (PrMI) y premuda final (PrMF).	22
Figura 8. Toma de muestras y conteo de postlarvas de camarón blanco.	23
Figura 9. Prueba de estrés a postlarvas de camarón en cada estadio de muda.	24
Figura 10. Porcentaje de supervivencia de postlarvas sometidas a prueba de estrés osmótico durante sus etapas de muda.	29

Figura 11. Supervivencia de las postlarvas según la edad de desarrollo al ser sometidas a la prueba de estrés.	31
Figura 12. Interacción de la edad y el estado de muda sobre la supervivencia de postlarvas de <i>L. vannamei</i> sometidas a la prueba de estrés osmótico.	34
Figura 13. Comportamiento del oxígeno disuelto durante el periodo de estudio.	36
Figura 14. Comportamiento de la temperatura durante el periodo de estudio.	36
Figura 15. Comportamiento del pH durante el periodo de estudio.	36
Figura 16. Comportamiento de la transparencia durante el periodo de estudio.	36

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Registro de supervivencia de postlarvas sometidas a prueba de estrés en las tres etapas de muda.	50
Anexo 2. Registro de parámetros físico-químicos.	53
Anexo 3. Datos de supervivencia transformados con <i>arco seno</i> \sqrt{y} .	54
Anexo 4. Supuestos Estadísticos.	57
Anexo 5. Análisis de Varianza para Supervivencia con la interacción entre factores.	58

GLOSARIO

CUTÍCULA: Es la capa exterior del exoesqueleto o tegumento, es una estructura compleja, rígida, acelular (sin células) y compuesta por quitina, entre otras sustancias.

DESARROLLO BRANQUIAL: Es el crecimiento de lóbulos branquiales cuyas estructuras son el principal órgano de regulación osmótico en camarones, su desarrollo va en conjunto con el crecimiento de las larvas y es un importante factor de evaluación ya que indica el estado general del desarrollo de las larvas.

MATRIZ CELULAR O EPIDERMIS: Capa de células epiteliales que descansan sobre la lámina basal, es una capa muy delgada, amorfa y acelular de tejido conjuntivo que las separa de la cavidad general del cuerpo. Estas células producen líquido exuvial que disuelve la parte interna de la cutícula vieja durante la ecdisis.

MUDA O EXUVIA: Proceso fisiológico de renovación del exoesqueleto que facilita el crecimiento en los camarones.

OSMORREGULACIÓN: es el proceso mediante el cual los seres vivos mantienen relativamente constante su medio interno, de manera que su composición química varíe muy poco. Para ello los organismos deben regular la entrada y salida de agua, sales minerales y otras sustancias.

POSTLARVA: Es una etapa del ciclo biológico del camarón marino, alcanzado después de haber evolucionado a través de los diferentes estadios larvales. Cuando el animal alcanza esta etapa, este es utilizado para la producción de engorde de camarón en las camaroneras.

INTERMUDA: Es una etapa del ciclo biológico de la muda en camarones caracterizada por la presencia de todas las capas del exoesqueleto dándole una apariencia dura y gruesa, identificada en el urópodo del camarón.

PREMUDA FINAL: Corresponde a la etapa final de la muda que es caracterizado por la total retracción de la matriz celular (epidermis) y el inicio de la formación de nuevas setas, identificada en el urópodo del camarón.

PREMUDA INICIAL: Es una etapa del proceso de muda que se caracteriza por el inicio de la retracción de la matriz celular (epidermis) y desprendimiento de la cutícula, identificada en el urópodo del camarón.

PRUEBA DE ESTRÉS OSMÓTICO: Método que altera los procesos fisiológicos y osmorregulatorios de las postlarvas al ser sometidas a cambios bruscos de salinidad con el fin de evaluar la calidad en base a su resistencia.

SETAS: Son extensiones cuticulares de los crustáceos, notables de tamaño y forma variable y su función varía según la posición en la que se encuentren, ya sea en los pleópodos, urópodos o antenas.

SUPERVIVENCIA: Es la capacidad de un ser vivo de lograr mantenerse con vida en situaciones adversas, que por lo general habrían muerto en un determinado hábitat, si no se hubiesen adaptado al cambio.

UROPODOS: Es una estructura morfológica externa de los camarones localizados como un último segmento abdominal.

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo mejorar el proceso de aplicación de pruebas de estrés en camarones peneidos, evaluando el efecto existente entre los periodos de muda de postlarvas con la prueba de estrés osmótico. Se utilizaron postlarvas en estadíos de PL7 a PL17 y fueron sometidas a prueba de estrés osmótico durante su etapa de intermuda (IM), premuda inicial (PrMI) y premuda final (PrMF), determinando su efecto por medio de la supervivencia. Para dicho análisis se tuvo en cuenta el desarrollo branquial de las postlarvas, el peso de los individuos y los parámetros de calidad de agua del cultivo. Se evaluaron 33 tratamientos en triplicado conformados por dos factores, donde se determinó como primer factor, los 3 estadíos de muda (IM, PrMI y PrMF) y como segundo factor, los estadíos de las postlarvas (PL7 hasta PL17).

Los datos en porcentajes fueron transformados mediante el *arco seno* \sqrt{y} y se analizaron estadísticamente utilizando análisis de varianza multifactorial para determinar qué factores tienen un efecto significativo sobre la supervivencia y también evaluar la significancia de las interacciones entre los factores. Finalmente se realizó una prueba de comparación múltiple de Tukey, con el fin de establecer diferencias significativas entre las medias y así poder determinar el mejor tratamiento en la variable evaluada.

Los resultados indican que cada uno de los factores (edad y estadíos de muda) presentan diferencias significativas sobre la supervivencia y también entre grupos de tratamientos (interacción entre muda y edad), demostrando de esta forma que la etapa de intermuda arroja los mejores resultados de supervivencia en cada una de las edades postlarvales y que el mejor resultado se obtuvo para el tratamiento 11 (PL17 en la etapa de intermuda) con 100% de supervivencia.

Los valores de parámetros fisicoquímicos del agua manejados en el lote de cultivo y su tasa de crecimiento se encontraron dentro de los rangos óptimos para la especie, garantizando así que el lote de producción se encontraba en buenas condiciones de cultivo.

Esta investigación permitió determinar en qué estadío y en qué etapa de muda es mejor realizar la prueba de estrés osmótico en postlarvas de camarón marino *L. vannamei*, garantizando la calidad de las mismas y obteniendo así mayores supervivencias.

ABSTRACT

This study aimed to improve the process of implementing stress tests in penaeid shrimp, evaluating the effect existing between molting periods of postlarvae with the osmotic stress test. Postlarvae were used in stadiums PL7 to PL17 and were tested osmotic stress during intermolt stage (IM), initial premuda (PrMI) and final premolt (PrMF), determining their effect through survival. For this analysis took into account the development of gill postlarvae, the weight of the individual and the water quality parameters of the crop. 33 treatments were tested in triplicate consisting of two factors, which were determined as the first factor the 3 stadiums molting (IM, PrMI and PrMF) and as a second factor, the postlarval stages (PL7 to PL17).

Data in percentages were transformed by $\arcsine \sqrt{y}$ and statistically was analyzed using analysis of variance multifactorial to determine which factors had a statistically significant effect on survival and evaluate the significance of the interactions among the factors. Finally, a multiple comparison test of Tukey was performed, in order to establish significant differences between the average and thus to determine the best treatment in each of the variables evaluated.

The results indicate that each of the factors (age and molting stages) show significant differences on survival and between treatment groups (interaction between molt and age), determines where intermolt stage was that produced the best survival results in each of the post-larval age and the best result was obtained for the treatment 11 (PL17 in intermolt stage) with 100% survival.

The values of physicochemical parameters of water handled in batch culture and its growth rate were within the optimal range for the species, thus ensuring that the production lot was in good growing conditions.

This research allowed to determine at what stage and at what stage of molt is best to test osmotic stress in marine shrimp postlarvae *L. vannamei*, ensuring the quality of them and obtaining higher survival.

1. INTRODUCCIÓN

El camarón blanco, *Litopenaeus vannamei* es la especie que obtiene los mejores rendimientos de crecimiento y es capaz de tolerar condiciones ambientales en cautiverio¹; es una de las especies más importantes entre los cultivos de crustáceos por su volumen de cosecha, su facilidad para reproducirlo en laboratorio² y por ser fuente alternativa de oferta de proteína animal, ingresos, empleo, generación de divisas y desarrollo de regiones atrasadas cuyos terrenos son poco aptos para otras actividades agropecuarias³.

Los laboratorios productores de larvas tienen como objetivo producir larvas que presenten alta sobrevivencia y alta tasa de crecimiento⁴. La condición y supervivencia de larvas y postlarvas es una resultante del estado de los progenitores, su condición nutricional, mantenimiento y condiciones de desove; sin embargo, hasta el momento no se han identificado indicadores suficientemente confiables para determinar su calidad, lo cual repercute en una producción de postlarvas cuya condición (calidad) es muy diversa y que generalmente se evalúa hasta el momento de la cosecha⁵.

En el caso de las postlarvas, su estado fisiológico o calidad se evalúa en el momento de la compra según su movilidad, color, apariencia, actividad, intervalo de tallas, duración de estadíos larvarios y pruebas de estrés, entre otros muchos criterios⁶. Las pruebas de resistencia o de estrés han permitido dilucidar la condición de las postlarvas, estas son usadas como criterio de control de calidad en los laboratorios de producción de semilla y en laboratorios de investigación⁷.

¹ PARRALES, D y PILLASAGUA, C. Efectos de las condiciones medio ambientales, en el transporte y aclimatación de postlarvas de camarón *penaeus vannamei* en la zona de punta blanca. Trabajo de grado (Biólogo pesquero). Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí. Facultad de ciencias del mar. Ecuador. 2010. pp.5.

² MEYER, A. y PARRA, E. Vitalidad de nauplios obtenidos de reproductores de *Penaeus vannamei* alimentados con diferentes dietas. En: IX Reunión de Avances en Investigación en Ciencias. PICP, Universidad de Colima. México. 1996. pp. 125- 130.

³ Ibid, pp. 85.

⁴ ABIAYAD, S.; MELARD, C. Y KESTEMONT, PP. Effects of n-3 fatty acids in Eurasian Perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. En: Aquaculture. Vol. 5 No.2. 1997. pp.168.

⁵ DE LA CRUZ, A.S. Prueba de resistencia a baja salinidad de las postlarvas de *Penaeus schmitti*. En: Revista de investigaciones marinas. Vol. 13. No. 2. 1992. pp. 155.

⁶ BRAY, W. Y LAWRENCE A. New concepts in seedstock production. learning to determine quality. En: International symposium on commercial production of shrimp larvae. Mazatlan, México. 1991. pp.16.

⁷ Ibid, pp. 5.

La prueba de resistencia más utilizada en la evaluación de postlarvas de camarón es el estrés a baja salinidad que consiste en someter a los animales a una disminución abrupta de salinidad por tiempo determinado, permitiendo su posterior recuperación⁸. A pesar de lo extendido de tales pruebas, no existen evidencias claras que garanticen que una mayor resistencia a cambios de salinidad a nivel de postlarva se traduzca en mejor rendimiento en engorde. “La supervivencia a la prueba de estrés por salinidad se debe principalmente a la capacidad osmorreguladora de los organismos, y esto depende del grado de desarrollo de la postlarva, por lo que es una forma de evaluar su condición fisiológica. Así mismo, la osmorregulación también está directamente afectada durante las etapas de muda”⁹, por lo cual es importante realizar este tipo de pruebas a determinadas edades y diferentes fases de muda en las postlarvas de camarón.

Los cambios de salinidad influyen en los procesos de muda de las postlarvas provocando efectos biológicos de gran complejidad¹⁰. Cada proceso de muda que la larva experimenta implica cambios morfológicos y fisiológicos, que se tornan más complejas a la medida que el animal se desarrolla¹¹. El conocimiento y habilidad para determinar las etapas del ciclo de muda (ecdisis) en las poblaciones cultivadas es una importante herramienta de manejo para la transferencia de postlarvas desde los laboratorios hasta las camaroneras¹². Puesto que los cambios en los parámetros físico-químicos pueden afectar la sobrevivencia final, la fisiología y el comportamiento de los animales¹³.

Con el presente estudio se pretende evaluar la relación existente entre las etapas de muda y la prueba de estrés osmótico más comúnmente usada para determinar la calidad de las postlarvas producidas en laboratorio.

⁸ CAVALLI, R. *et al.* Ammonia toxicity as a criterion for the evaluation of larval quality in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. En: Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology. Vol. 125. No. 3. pp. 338.

⁹ CHENG, W.; LIU, C.; YAN, D. y CHEN, J. Hemolymph oxyhemolymph, protein, osmolaty and electrolyte levels of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* in relation to size and molt stage. En: Aquaculture. Vol. 221. No. 1-4. 2002. pp. 329.

¹⁰ CHEN, J.; LIN, M.; TING, Y, Y LIN, J. Survival, haemolymph osmolality and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles acclimated to different salinity and temperatures levels. En: Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 110. No. 3. 1995. pp. 253-258.

¹¹ MOURÃO, C. Influência da idade e da temperatura da água na transferência de pós-larvas do camarão marinho *litopenaeus vannamei* (boone, 1931) do sistema de larvicultura para o sistema de berçários intensivos. Trabajo de grado (Maestria en Acuicultura). Universidad federal se Santa Catarina. Centro de ciências agrarias. Florianópolis, 2002. pp. 28.

¹² OLIN, PP. y FAST, W. Penaeid PL harvest, transport, acclimation and stocking. En: Fast, A. W., Lester, L. J. (Eds) Marine Shrimp Culture: Principles and Praticles. Elsevier Science Publishers. 1992. pp. 310.

¹³ WAJSBROT, N. *et al.* Effect of dissolved oxygen and the molt stage on the acute toxicity of ammonia to juvenile Green Tiger prawn *Penaeus semisulcatus*. En: Environmental Toxicology and Chemistry. Vol. 9. No. 3. 1990. pp. 499.

2. OBJETIVOS

2.1. GENERAL

Evaluar la supervivencia de postlarvas de camarón (*Litopenaeus vannamei*) sometidas a la prueba de estrés osmótico y su relación con el estado de muda.

2.2. ESPECÍFICOS

- ❖ Establecer en cuál estado de muda ocurre el menor efecto para realizar la prueba de estrés osmótico.
- ❖ Identificar por medio del desarrollo branquial las edades postlarvales en las cuales se pueden realizar la prueba de estrés osmótico.
- ❖ Determinar en la prueba de estrés osmótico la relación entre el porcentaje de supervivencia de postlarvas de camarón blanco y sus estadios de muda.

3. MARCO REFERENCIAL

3.1. GENERALIDADES, HÁBITAT Y BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

“El camarón blanco es nativo de la costa oriental del Océano Pacífico, desde Sonora, México, Centro y Suramérica hasta Tumbes en Perú. Es una especie que se encuentra en hábitats marinos tropicales en temperaturas superiores a 20 °C durante todo el año. El ciclo de vida de *Penaeus vannamei* se encuentra dividido en 6 fases: embrionaria, larval, juvenil, adolescente, pre adulta y adulta. En la fase adulta viven y se reproducen en mar abierto, mientras que las postlarvas migran a las costas a pasar la etapa juvenil, en la etapa adolescente y pre adulta los animales son estuarinos. Durante la fase reproductiva, los machos maduran desde 20 g y las hembras desde 28 g a la edad de 6 y 7 meses. Cuando *P. vannamei* pesa entre 30 y 45 g, desova entre 100.000 y 250.000 huevos con diámetro de 0,22 mm. El proceso de incubación termina 16 horas después de la fertilización. En la fase larval, los individuos presentan fototropismo positivo, principalmente en nauplios cuando inician sus procesos natatorios. Durante la etapa naupliar, no se requiere de alimentación porque se nutren de su reserva embrionaria, mientras que en las siguientes etapas larvarias se alimentan del fitoplancton y zooplancton, siendo planctófagas por algún tiempo. Las postlarvas (PL) después de 5 días migran hacia la costa para alimentarse de detritos bénticos, gusanos, bivalvos y crustáceos”¹⁴.

3.2. POSICIÓN TAXONÓMICA

Pérez Farfante y Kensley¹⁵ describen la identificación taxonómica del camarón blanco de la siguiente manera:

Phylum: Arthropoda
Clase: Malacostraca
Orden: Decapoda

¹⁴ FAO. Programa de información de especies acuáticas. *Penaeus vannamei*. Programa de información de especies acuáticas. Texto de Briggs, M. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [En línea]. Roma. Atualizado 7 Abril 2006. <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/es#tcNA008C> [Citado 22 agosto 2013].

¹⁵ PÉREZ FARFANTE, I y KENSLEY, B. Keys and diagnoses for the families and genera. Penaeoid and sengestoid shrimps and prawns of the world. Mémoires du museum national d histoire naturelle. Paris : Editions du Muséum, 1997. p 233.

Suborden: Dendobranchiata
Superfamilia: Penaeoidea
Familia: Penaeidae
Género: *Litopenaeus*
Especie: *Vannamei*
Nombre Científico: *Litopenaeus vannamei*

3.3. CULTIVO DE CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) Y SU IMPORTANCIA ECONÓMICA

Conforme a Villarreal y Martínez citados por Rivera¹⁶, el cultivo de camarón a nivel mundial ha ido adquiriendo mayor importancia como complemento de la producción pesquera ya que esta última está llegando a su máximo de sustentabilidad. Más de las tres cuartas partes de la oferta mundial de camarón de cultivo provienen del continente asiático, destacándose Tailandia, China, e Indonesia, que proveen el 60% de la oferta mundial; otros proveedores importantes son India, Vietnam, Bangladesh y Ecuador¹⁷.

Rocha y Maia¹⁸, el incremento en la producción se debe al paquete tecnológico desarrollado, formulación de una alimentación balanceada, así como la aceptación de esta especie en el mercado interno.

Rosenberry¹⁹ y Treece²⁰ mencionan que *Litopenaeus vannamei* es uno de los peneidos más estudiados, siendo la especie de cultivo más importante a lo largo de la costa Este del Pacífico y algunas zonas de Asia. Esto último se debe a que este decápodo presenta características tales como requerimiento relativamente bajo de proteína en la dieta, (25 y 35%); sobrevivencia y crecimiento aceptables en altas densidades de cultivo, alcanza tallas comerciales en poco tiempo y posee un alto valor en el mercado.

¹⁶ RIVERA RODRÍGEZ, M C. Efecto de la salinidad sobre el crecimiento y sobrevivencia en postlarvas y juveniles de camarón blanco *Penaeus vannamei* (Boone, 1931), bajo condiciones de laboratorio. Trabajo de grado de Maestría en ciencias: área de acuicultura. Universidad de Colima. Facultad De Ciencias Marinas. Manzanillo, Col., Octubre de 1998. pp. 11.

¹⁷ Ibid., pp. 11.

¹⁸ ROCHA, I. PP.; MAIA, E. PP. Desenvolvimento tecnológico e perspectivas de crescimento de carcinicultura marinha brasileira. En: Anais da Aqüicultura Brasil 98, Recife. v 1 1998. pp.222.

¹⁹ ROSENBERY, R. World Shrimp Farming. Aquaculture Digest, San Diego, USA. 1994. pp.52.

²⁰ TREECE, G. D. 2000. Shrimp culture. En: Stickney, R. R. (Ed). Encyclopedia of aquaculture. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA, pp.838.

Según Galetti, citado por Sobrinho, “el cultivo de camarón marino comprende básicamente de dos fases: larvicultura, responsable por la producción de larvas, y el engorde, dedicado al crecimiento del camarón hasta la edad comercial. La larvicultura es realizada en laboratorios especializados, en general subdivididos en dos diferentes sectores: maduración y precría”²¹.

El dominio y perfeccionamiento de las técnicas de maduración, reproducción y larvicultura ha sido fundamental para garantizar la existencia del cultivo de camarón y para permitir el fortalecimiento de la producción de postlarvas de buena calidad, oferta y venta a las camaroneras, garantizando excelentes resultados en la producción²².

3.4. PRODUCCION DE POSTLARVAS

La mayor parte de las granjas acuícolas que se dedican a la engorda de camarones peneidos requieren de la siembra de organismos que se encuentren en sus primeros estadios de vida conocidos como larvas y postlarvas²³.

Para la obtención de postlarvas en los laboratorios de producción, se seleccionan reproductores que hayan alcanzado un peso entre 35 a 40 g, que presenten buenas características morfológicas y que estén libres de enfermedades o manchas de cualquier tipo. Los reproductores seleccionados se alimentan durante una semana, con alimento natural a base de conchas y calamar; transcurrido este periodo, se separan las hembras para realizar la inducción hacia el proceso de reproducción por medio de ablación, consistiendo en eliminar uno de los ojos del animal, para conseguir que las hembras ovulen continuamente, puesto que ahí se ubican los órganos inhibidores de la maduración. Después de 5 a 7 días las hembras inician el apareamiento y la producción de huevos para su posterior fertilización²⁴.

²¹ SOBRINHO, C, D. Estudo Do Crecimiento, Estabilidade Fisica, Quimica E Termogravimetrica Con Racoos Para Camarao Marinho *Litopenaeus vannamei*. Trabajo de grado de maestria em ciência y tecnologia de alimentos. Universidade Federal Da Paraíba Centro De Tecnologia. 2011. pp. 27.

²² PANORAMA DA AQUICULTURA. Carcinicultura Brasileira: O censo de 2003. Rio de Janeiro, RJ. Vol. 14, No. 82. 2004. pp. 66.

²³ MANIFESTACION DE IMPACTO AMBIENTAL MODALIDAD PARTICULAR. Laboratorio de reproducción larvaria y postlarvaria de camarón. pp. 1. [En línea]. Disponible en internet: <<http://sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/bcs/estudios/2007/03BS2007PD003.pdf>> [citado en Marzo de 2014]

²⁴ MANUAL SOBRE REPRODUCCIÓN Y CULTIVO DEL CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus vannamei*). Centro de desarrollo de la pesca y la acuicultura. El salvador. 2008. pp. 10.

Luego que los huevos son previamente fecundados, estos eclosionan e inician las fases larvarias del camarón, a la primera etapa después del nacimiento se le denomina fase naupliar, este estadio tiene a su vez 5 subestadios que duran aproximadamente dos días, en esta fase los organismos no requieren de ningún tipo de alimento porque se sostienen de sus reservas vitelinas, que las extraen del huevo²⁵.

Posteriormente se transforma en zoea que incluye tres subestadios, que duran entre cuatro y cinco días, durante los cuales el animal es exclusivamente fitófago, es decir, consume básicamente microalgas. La siguiente fase es mysis que se divide en tres subestadios, dura aproximadamente cuatro días y durante esta etapa los organismos son herbívoros y carnívoros ya que se alimentan con algas y artemia salina²⁶.

Finalmente se obtiene la postlarva, que nada igual que un adulto, y ya ha desarrollado sus pinzas o quelas que le permiten la captura del alimento, como la artemia o rotíferos. El desarrollo de la postlarva se calcula por los días que transcurren después de su metamorfosis de mysis a postlarva. Por ejemplo, para post larva de un día se denomina PL1 y para post larva de ocho días, PL 8²⁷.

3.5. ASPECTOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE POSTLARVAS DE CAMARÓN MARINO

Durante los últimos años, con el desarrollo de esta industria, ha crecido la necesidad, por parte de productores y compradores de semilla en asegurar la calidad de la misma; entendiéndose por calidad, el buen desempeño de los animales durante el cultivo, reflejado en la resistencia a condiciones adversas y a enfermedades, altos porcentajes de supervivencia y buen crecimiento. La salud de los camarones cultivados es fruto directo de su interacción con el ambiente y la presencia de agentes patogénicos²⁸.

²⁵ Ibid., pp. 14.

²⁶ Ibid., pp. 16.

²⁷ Ibid., pp. 20.

²⁸ MALDONADO, E. Evaluación de 4 métodos utilizados en la determinación de la calidad de postlarvas *Litopenaeus vannamei*. En: iv seminario internacional de acuicultura y primer congreso nacional de investigaciones acuícolas. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, 2003. pp. 1.

Raccota *et al.*, citado por Knoll²⁹ expone que el término calidad larval es ampliamente utilizado para referirse a la condición fisiológica durante el desempeño de cultivo. La investigación y el establecimiento de criterios universales para evaluar la calidad larval es una de las grandes preocupaciones, tanto en el nivel de la investigación como para el sector productivo.

Seiffert *et al.*, citado por Knoll³⁰ indica que una de las herramientas para probar la calidad y sanidad de los animales es la evaluación de la postlarva en cuanto a su comportamiento, nutrición, fisiología y salud.

Según Knoll³¹, en el ámbito comercial, la calidad postlarval es probada a través de pruebas de estrés, que indican la resistencia de las larvas a la variación brusca de salinidad. La utilización de mecanismos de evaluación en la calidad de postlarvas es fundamental en la selección de descendientes más resistentes a lo habitual en cultivos de ambientes abiertos.

De acuerdo con Knoll³², tanto en áreas investigativas como productivas, se han implementado cerca de 20 indicadores para determinar la calidad postlarval. Estos indicadores son definidos por cuatro categorías generales: morfológicas (deformidades en el rostrum, cuerpo torcido, daños y pérdidas de apéndices), etológicas (nado activo en contra de la corriente), productivas (intervalo de tallas, duración de estadios larvarios y asimilación alimentaria) y supervivencia en pruebas de esfuerzo. A pesar de todo, estas pruebas se ejecutan por separado y no proporcionan información adecuada para garantizar la calidad de las larvas y el cultivo en las camaroneras.

La prueba de estrés salina se aplica comúnmente en los laboratorios comerciales que producen postlarvas de camarón con fines de estimar su calidad; las postlarvas que tienen mayor supervivencia se consideran saludables o de mejor calidad.

²⁹ KNOLL, Rodrigo. Sistema de avaliação da qualidade de pós-larvas do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Trabajo de grado (maestría em Acuicultura). Universidade federal de Santa Catarina. Centro de ciências agrárias. Florianópolis/SC, 2010. pp. 15.

³⁰ *Ibid.*, pp. 15

³¹ *Ibid.*, pp. 16

³² *Ibid.*, pp. 16

3.6. PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA

Los parámetros de calidad de agua son de vital importancia en el cultivo de crustáceos, debido a que afectan de un modo u otro el comportamiento, la reproducción, el crecimiento y los rendimientos por unidad de área, durante el manejo y mantenimiento de los animales³³ (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros de calidad de agua para *L. vannamei*.

PARÁMETRO	INTERVALO IDEAL
Temperatura (°C)	23-30
Oxígeno Disuelto (mg.L ⁻¹)	6.0-10.0
Salinidad (mg.L ⁻¹)	15-35
Ph	8.1-9.0
Alcalinidad (mg.L ⁻¹)	100-140
Amonio total (mg.L ⁻¹)	0.1-1.0
Nitritos N-NO ₂ , (mg.L ⁻¹)	<0.5
Nitratos N-NO ₃ , (mg.L ⁻¹)	0.4-0.8
Sólidos suspendidos totales (mg.L ⁻¹)	50-150

Fuente: Comité estatal de sanidad acuícola e inocuidad de baja california.

3.7. MECANISMOS DE OSMORREGULACIÓN

Waterman³⁴ considera que hay una serie de efectos en el comportamiento postlarval producto de los cambios en los parámetros físico-químicos del agua; siendo uno de los principales, la regulación osmótica. Este proceso puede ser definido como la regulación en la concentración total de partículas iónicas del medio externo respecto de los fluidos del medio interno del organismo. En animales acuáticos, la osmorregulación es la diferencia del gradiente osmótico entre la hemolinfa y el medio externo³⁵.

³³ COMITÉ ESTATAL DE SANIDAD ACUICOLA E INOCUIDAD DE BAJA CALIFORNIA, A.C. (CESAIBC). Protocolo de sanidad para el cultivo de camarón blanco en el estado de baja california. pp. 41 [En línea]. Disponible en internet: <http://www.cesaibc.org/sitio/archivos/ProtocoloSanitario_200313154532.pdf> [Citado en 21 de agosto de 2013].

³⁴ WATERMAN, T. Osmotic and ionic regulation. The physiology of crustacea Vol.1 Metabolism and growth. En: Elsevier Science. Vol. 1. Capp. 9. 1960. pp. 333.

³⁵ OLIVA, M. Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en los mecanismos de osmorregulación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Bonne) expuestos a estrés hipo e hipersalino a corto y largo plazo. Trabajo de posgrado (Maestro en Ciencias). Centro De

Waterman³⁶ afirma que en la mayoría de los crustáceos es común el mantenimiento de una concentración de iones en el plasma sanguíneo distintos de un equilibrio pasivo con el medio externo. La regulación iónica se encuentra presente en crustáceos marinos en la cual la sangre es isosmótica respecto a la del medio.

La variación de salinidad se encuentra estrechamente relacionada con los cambios ambientales y la supervivencia de los organismos en relación con la capacidad de poder enfrentar fisiológicamente el estrés causado por la disminución o aumento en la salinidad. Esta capacidad está determinada en gran medida por los mecanismos de osmorregulación y en términos generales por la condición fisiológica de los organismos³⁷.

Evans *et al.* y Sakamoto *et al.*, citados por Oliva “señalan que la capacidad osmorreguladora depende de distintos mecanismos, entre ellos y de los más importantes es la bomba de Na^+ - K^+ localizada en la membrana basolateral de las branquias, la cual se encuentra acoplada a una ATPasa que la provee de energía. El incremento en la actividad de la Na^+ - K^+ ATPasa es un proceso de adaptación esencial durante el ciclo de vida del camarón³⁸”. Esta capacidad de los organismos se incrementa con el desarrollo larvario y especialmente al desarrollarse el epitelio branquial, principal estructura encargada de dichos procesos.

Siebers *et al.*, Sommer y Mantel, citados por Oliva³⁹ sostienen que en crustáceos ocurre un proceso similar cuando éstos son transferidos a un medio diluido, generando un eflujo de Na^+ y un influjo de agua desde el medio. Para mantener los niveles iónicos adecuados en el interior del organismo, en las branquias se activa la bomba de Na^+ - K^+ que intercambia el Na^+ presente en el interior de las branquias por K^+ del plasma. De acuerdo con Chausson y Regnault, citados por Oliva⁴⁰, la transferencia de Na^+ desde el exterior hacia el interior se lleva a cabo por medio de un mecanismo de intercambio de iones Na^+ por iones H^+ , localizado en la membrana apical de las branquias.

La actividad de la bomba Na^+ - K^+ ATPasa varía en función de la salinidad a la cual se aclimatan los crustáceos, siendo menor en aquellos aclimatados a 30 mg.L^{-1} y

Investigaciones Biológicas Del Noroeste, S. C. Área en acuicultura La Paz, B. C. S., (Abril de 2004). pp. 29.

³⁶ WATERMAN, *Opp.cit.* pp. 340.

³⁷ OLIVA, M. *Op. Cit.*, pp 31.

³⁸ *Ibid.*, pp. 23.

³⁹ *Ibid.*, pp. 24.

⁴⁰ *Ibid.*, pp. 24.

mayor a 10 mg.L⁻¹. Por otro lado, la actividad y síntesis de estas dos enzimas se incrementa conforme la larva se desarrolla y como consecuencia puede aumentar su capacidad osmorreguladora⁴¹.

Según Lignot *et al.*, citado por Oliva⁴², en crustáceos la actividad de la bomba Na⁺ - K⁺ ATPasa se puede incrementar a corto plazo (minutos-horas) como respuesta a la estimulación hormonal por Dopamina, mientras que a largo plazo (días-semanas) hay una mayor síntesis de proteína (ATPasa) como consecuencia de los cambios de salinidad. A corto plazo hay activación local de la bomba Na⁺ - K⁺ ATPasa y ocurren cambios en la permeabilidad de las membranas branquiales. A largo plazo se incrementa la síntesis de estas enzimas y posiblemente el número de células especializadas en el transporte de iones en las branquias.

De acuerdo con Berlind y Kamemoto; Mantel; Nan *et al.*; Harmantier Daures *et al.*; Eckhard *et al.*; Kiron y Diwan, citados por Oliva⁴³, este mecanismo está regulado por hormonas secretadas en el complejo glándula-sinusal/órgano X. De acuerdo con León⁴⁴ la glándula sinusal es un órgano neurohemal que funciona como almacén y sitio de liberación de muchas hormonas, así como también la hormona inhibidora de la muda MIH.

Cuando se cambia un animal de un medio con cierta salinidad a otro de menor, esto resulta en movimientos difusivos de agua e iones desde y hacia el interior del animal a través de las superficies permeables. En el momento que son colocados en medios diluidos, los animales con exoesqueleto rígido tienen limitada capacidad para dilatarse antes de que la presión interna alcance límites intolerables⁴⁵.

Por otro lado, Cheng *et al.*, citado por Souza⁴⁶ determina que la osmorregulación es directamente afectada durante las etapas de muda, encontrándose diferentes

⁴¹ Ibid., pp. 31.

⁴² Ibid., pp. 27.

⁴³ Ibid., pp. 27.

⁴⁴ LEÓN CARREÑO D, PP. Alteraciones metabólicas del camarón *Litopenaeus vannamei* en respuesta a la manipulación rutinaria bajo condiciones de cultivo y a la ablación del tallo ocular. Trabajo de grado (Maestro en Ciencias). Instituto politécnico nacional. Centro interdisciplinario de ciencias marinas. La paz, baja california sur, noviembre del 2000. pp.26.

⁴⁵ MARCILLO M, F. Pruebas de estrés de temperatura y salinidad en postlarvas de *peneidos vannamei* alimentadas con tres dietas distintas. Trabajo de grado (Acuicultor). Escuela politécnica del litoral. Facultad De Ingeniería Marítima Y Ciencias Del Mar. Guayaquil, Ecuador, 1991. pp. 25

⁴⁶ SOUZA, Fabiano. Op cit., pp. 12.

niveles de proteína en la hemolinfa y oxihemocianina en *Litopenaeus vannamei*, siendo mayor en estadios de premuda que en postmuda.

3.8. PROCESO DE ECDISIS

El ciclo de muda afecta muchos aspectos de la biología de los crustáceos, incluyendo la morfología del animal, el metabolismo celular, la fisiología y el comportamiento⁴⁷. Según Alfonso, citado por Mourão⁴⁸, cada proceso de muda que la larva experimenta implica cambios morfológicos y fisiológicos, que se tornan más complejos a medida que el animal se desarrolla.

El camarón está cubierto por una coraza de quitina, que forma como en otros artrópodos un verdadero esqueleto. Para que se realice el crecimiento es necesario que el animal se desprenda de esa cubierta o exuvio, proceso denominado muda o ecdisis. Se ignora el número de veces que se repite este proceso a lo largo de la vida del camarón, ya que al desprenderse durante la ecdisis totalmente del exoesqueleto quitinoso, no queda en su cuerpo ninguna huella o señal notoria del proceso⁴⁹.

Este proceso es una fuente intrínseca de variaciones etológicas, fisiológicas e inmunitarias. Dichas variaciones, sumadas a la pérdida de la cutícula (primera barrera defensiva en los crustáceos), son algunos de los factores que probablemente influyen en la resistencia y/o susceptibilidad de los crustáceos a los patógenos⁵⁰.

De acuerdo con Fast y Lester, citado por Souza⁵¹, el proceso de muda en peneidos puede ocurrir en momentos de horas o incluso semanas. En larvas y postlarvas los estadios y subestadios de muda pueden presentarse en cuestión de horas y en adultos se puede alcanzar en un periodo de tres semanas para

⁴⁷ NICOVITA CAMARON DE MAR. investigadores capturan imágenes para un análisis práctico de las etapas de muda en el camarón marino [en línea]. Disponible en internet: <http://www.alicorpp.com.pe/portal/page?_pageid=34,79788&_dad=portal&_schema=PORTAL> [citado en octubre 2013]

⁴⁸ MOURÃO, C., 2002., Op Cit. pp. 10.

⁴⁹ MANIFESTACION DE IMPACTO AMBIENTAL MODALIDAD PARTICULAR. Op Cit. pp. 27.

⁵⁰ ECHEVERRIA, F *et al.* WSSV y ciclo de muda en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. contribuciones del CENAIM durante el VI congreso Ecuatoriano de Acuicultura. Enero 2002. pp. 1.

⁵¹ SOUZA, Fabiano. Efeito da redução da salinidade sobre os estágios de muda durante o processo de aclimação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*. Trabajo de grado (Maestría em Acuicultura). Universidad Federal De Santa Catarina. Centro de ciências pecuárias. Florianópolis-SC, 2005. pp. 12

completar el ciclo, eso sí la temperatura fuera considerada óptima para su desarrollo. Durante el cultivo de larvas en los laboratorios, las postlarvas pueden encontrarse estresadas durante los cambios en los parámetros fisicoquímicos, lo que conduciría a una variabilidad en la sobrevivencia final del cultivo y junto con los procesos de aclimatación en los diferentes estadios de muda pueden afectar la fisiología y el comportamiento de las postlarvas.

Wajsbrodt *et al.*, citado por Souza⁵², explican que los camarones en los estadios de post y premuda son más sensibles al estrés que en los estadios de intermuda. Según Hunter y Uglow, citado por Souza⁵³, los camarones en diferentes etapas de muda tienen diferentes permeabilidades y explica que el exoesqueleto más duro debe proporcionar una reducción de la permeabilidad.

Souza⁵⁴ afirma que debido a la gran diferencia en la salinidad de la larvicultura (35 mg.L⁻¹) en relación a la salinidad de los estanques (10-15 mg.L⁻¹), pueden ocurrir frecuentes mudas sincronizadas durante el transporte, debido al estrés que pasan las postlarvas durante estos procedimientos de preparación en la transferencia del laboratorio a las camaroneras, con consecuentes problemas en la aclimatación en las camaroneras y en algunos casos, mortalidad durante el transporte y aclimatación. Como consecuencias, más allá de la sustitución de las postlarvas que se impuso en el laboratorio, que sin duda genera pérdida al laboratorio, existe incertidumbre en los productores en relación a la supervivencia de los estanques de engorde.

Vijayan *et al.*,⁵⁵ indican que para el acuicultor, la etapa más crítica está después o antes de la ecdisis; es durante esta etapa que el estrés tiene su impacto más adverso. *Penaeus indicus* suele mudar en la noche (94%) entre las 12:00 am y las 4:00 am, estos mudan en los estratos más profundos; comportamiento visto como mecanismo para evitar el canibalismo mientras están en condición vulnerable. Por consiguiente, las etapas de muda deben ser consideradas en cualquier manejo que produzca estrés, así como son el transporte, tratamientos terapéuticos o cosecha viva.

⁵² Ibid., pp. 12.

⁵³ Ibid., pp. 12.

⁵⁴ Ibid., pp. 13.b

⁵⁵ VIJAYAN, K.K., Sunilkumar Mohamed, K., Diwan, A.D. Studies on moult staging, moulting duration and moulting behaviour in indian white shrimp *Penaeus indicus* Milne Edwards (decapoda penaeidae). En: Journal of Aquaculture in Tropics. Vol. 12. No. 1. 1997. pp. 54.

3.9. ETAPAS DE MUDA EN PENEIDOS

Los camarones peneidos mudan en intervalos de pocos días o semanas. Su ciclo de muda está dividido en seis etapas (Figura 1): Postmuda inicial (Etapa A), postmuda final (Etapa B), intermuda (Etapa C), premuda inicial (Etapa D0-D1), premuda final (Etapa D2-D3) y ecdisis (Etapa E). Para determinar las etapas de muda se realiza observación microscópica a los cambios morfológicos ocurridos en los urópodos de los camarones⁵⁶.

3.9.1. Etapa A: Esta etapa sucede inmediatamente después de la ecdisis, se observa la matriz celular completamente pigmentada en las bases de las cerdas.

3.9.2. Etapa B: La matriz celular se retrae de las bases de las cerdas y se reconoce fácilmente un espacio claro en las bases.

3.9.3. Etapa C: La matriz está ausente de las bases de las cerdas y los pigmentos forman aparentemente una línea epidermal en las bases de los nódulos de las cerdas.

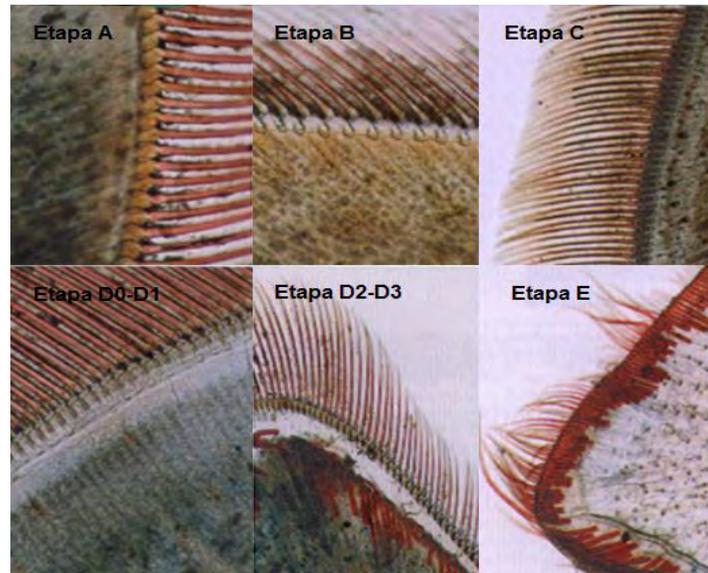
3.9.4. Etapa D0-D1: El pigmento se retrae de las bases de los nódulos de las cerdas, dejando la cutícula vieja.

3.9.5. Etapa D2-D3: Se observa la nueva cutícula en desarrollo.

3.9.6. Etapa E: Despojo del exoesqueleto, ocurre en la noche en menos de un minuto, lo cual se hace muy difícil encontrar animales en la etapa de muda verdadera. (En la imagen muestra las nuevas cerdas que fueron expulsadas de la matriz).

⁵⁶ NICOVITA CAMARON DE MAR. Op. Cit., pp. 2.

Figura 1. Ciclo de muda en peneidos. Post-muda inicial (Etapa A), Post-muda final (Etapa B), Entremuda (Etapa C), Pre-muda inicial (Etapa D0-D1), Pre-muda inicial (Etapa D2-D3), Ecdisis (Etapa E).



Fuente: Nicovita Camarón de Mar, 2004.

3.10. EDAD Y DESARROLLO BRANQUIAL

El estado de desarrollo branquial debe ser examinado, puesto que ofrece una buena idea del momento en el que las postlarvas son capaces de tolerar cambios de salinidad, los anteriores eventos ocurren con frecuencia cuando los camarones son transferidos a las instalaciones de engorde. Cuando las lamelas branquiales se ramifican, aproximadamente entre PL9 a PL10, son generalmente capaces de tolerar cambios bastante rápidos de salinidad (con salinidades de agua superiores a 5ppm, toleran cambio de 1 ppm.^h; por debajo de 5ppm, pueden tolerar el cambio de 0.01 ppm.^h) y se pueden aclimatar fácilmente a las condiciones de engorde. Cuando las lamelas branquiales permanecen sin ramificar, los camarones no deben ser sometidos a grandes y rápidos cambios salinos, y no deben ser considerados preparados para ser transferidos desde los tanques de postlarvas.⁵⁷

⁵⁷ MANEJO SANITARIO Y MANTENIMIENTO DE LA BIOSEGURIDAD DE LOS LABORATORIOS DE POSTLARVAS DE CAMARON BLANCO (*Penaeus vannamei*) EN AMERICA LATINA. Op cit., pp. 67.

Kramer y Yagi *et al.*, citados por Mourão⁵⁸ consideran que el grado de tolerancia a los factores ambientales difieren de acuerdo con el estadio de los organismos; muchas especies estuarinas, como los camarones, poseen mecanismos adaptativos capaces de compensar cambios de temperatura y salinidad dentro del intervalo definido para la especie y su fase de desarrollo. La edad de las postlarvas influye directamente sobre la habilidad de éstas para aclimatarse a bajas salinidades.

Barbieri y Ostrensky, citados por Souza⁵⁹ afirman que la edad de las postlarvas influye en su capacidad de osmorregulación. De acuerdo con Artiles *et al.*, citado por el mismo autor⁶⁰, en el experimento realizado con *L. schimitii*, dirigido a contar los filamentos ramificados y determinar el desarrollo branquial de las postlarvas, fue encontrado menor desarrollo branquial en la edad de PL12 con relación a PL16; se observaron entre 3 a 7 ramificaciones en el último filamento branquial en los individuos PL12 y en ejemplares PL16 se observaron siempre más de 8 ramificaciones en el último filamento.

Por otro lado Mantel y Former, citado por Souza⁶¹, postlarvas de Peneideos en estadios entre PL10 a PL20 presentan gran capacidad para realizar balance iónico en relación a su peso. Macgraw *et al.* y Samocha *et al.*, citados por el mismo autor⁶² realizaron experimentos de estrés con niveles de salinidad en diferentes edades de postlarvas y encontraron una mayor tolerancia en PL7 en relación a PL1 en la especie *Litopenaeus vannamei*.

Racotta *et al.* y Peregrino., citados por Knoll⁶³ determinaron que el desarrollo branquial completo ocurre al término de los estadios PL9 a PL10, con la formación total de las lamelas branquiales; es este más un criterio de evaluación, pues las branquias tienen como función principal la capacidad de realizar el intercambio de sales y de absorber oxígeno disuelto.

3.11. PRUEBAS DE ESTRÉS

En los años recientes, el problema de encontrar un procedimiento fácil para evaluar la calidad de la postlarva producida en laboratorio ha hecho indispensable

⁵⁸ MOURÃO, C. Op cit., pp.12.

⁵⁹ SOUZA, Fabiano. Op cit., pp.13.

⁶⁰ Ibid, pp.13.

⁶¹ Ibid, pp.13.

⁶² Ibid, pp.13.

⁶³ KNOLL, Rodrigo. Op cit., pp.17.

el disponer de un método fiable que permita esta estimación. La mayoría de los criterios son visuales tales como comportamiento de nado, desarrollo morfológico de la postlarva, nivel de ramificación de las branquias, presencia de lípidos en el hepatopáncreas, amplitud del sexto segmento en comparación con la longitud del intestino y los niveles de estrés de la postlarva mediante la observación de cromatóforos entre otros. Las respuestas de los organismos ante las pruebas de estrés pueden variar en dependencia de los parámetros ambientales⁶⁴.

De acuerdo con Lignot *et al.*,⁶⁵ las pruebas de estrés surgen como alternativa viable para este fin; entre las estrategias que usualmente se ocupan como estresores son los cambios de salinidad y pH. Este autor manifiesta que el estrés se define como una alteración fisiológica (bioquímica, citológica o de comportamiento) medible, que puede ser inducida por cambio medioambiental, el cual hace vulnerable a la población u organismo sometido a este cambio. Los bioensayos de estrés salino son aplicables una vez que la larva posee su estructura branquial definitiva (PL 6), la aplicación de estas pruebas incrementan la resistencia a los cambios de salinidad a medida que aumenta su estado fisiológico. Cabe resaltar que uno de los aspectos a tener en cuenta para la aplicabilidad de estas técnicas es que no se deben realizar cuando las postlarvas están mudando, puesto que las larvas se encuentran excesivamente estresadas durante esta etapa⁶⁶. Sin embargo, se tiene certeza empírica de lo dicho anteriormente sin ninguna investigación que lo compruebe.

La prueba de estrés más común es aquella en que se transfieren 50 a 100 larvas directamente en agua dulce por 30 minutos y luego se regresan a la salinidad inicial (normalmente 30 ppt), luego de 30 minutos; se cuentan las larvas muertas y se estima la sobrevivencia. Supervivencias a esta prueba del 80% se considera aceptable. Existen otras pruebas de estrés como las realizadas con formalina que se emplea concentraciones entre el 37% y 40% de la solución en un litro de agua y durante una hora los organismos son expuestos ante este químico⁶⁷; sin embargo la prueba a utilizar dentro de los laboratorios de cultivo queda a criterio del técnico o empresa que evalúa la larva⁶⁸.

⁶⁴ SAMOCHA T. *et al.* Op cit., pp.2.

⁶⁵ LIGNOT *et al.* Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. En: Aquaculture. Vol. 191. No. 1-3. 2000. pp. 209-245.

⁶⁶ MANEJO SANITARIO Y MANTENIMIENTO DE LA BIOSEGURIDAD DE LOS LABORATORIOS DE POSTLARVAS DE CAMARON BLANCO (*Penaeus vannamei*) EN AMERICA LATINA. Direccion de recursos pesqueros. Documento técnico de pesca 450. Roma, 2004. pp.69.

⁶⁷ ARTILES *et al.* Evaluación de la calidad de postlarvas de camarón blanco *Penaeus smichi* mediante diferentes pruebas de estrés. En: Revista de Investigaciones Marinas. Vol. 20. No. 1-3. 1999. pp. 2.

⁶⁸ NICOVITA CAMARON DE MAR, Evaluación y siembra de postlarva de camarón marino. [en línea]. Disponible en internet:

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. LOCALIZACIÓN

“Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Camarones Marinos-LCM, ubicado en la ciudad de Florianópolis del estado de Santa Catarina precisamente en la localidad de Barra da Lagoa, ubicado entre los paralelos de 27°10 y 27°50 de latitud Sur y entre los meridianos 48°25 y 48°35 de longitud Oeste (Figura 2). La temperatura media mensual es 24°C en enero y 16°C en julio. El clima es definido como mesotérmico húmedo, con lluvias distribuidas durante todo el año. La pluviosidad presenta índice de precipitación anual de 1600 mm al norte de la isla y 1400 mm al sur; lo anterior justifica un clima con humedad relativa anual del 85%, presentando una media de 140 días de lluvias por año”⁶⁹.

Figura 2. Localización del Laboratorio de Camarones Marinos.



Fuente: Página web informativa, InfoEscola. 2013. Disponible en internet: <http://www.infoescola.com/brasil/ilha-de-santa-catarina/>.

http://www.alicorpp.com.pe/ohs_images/nicovita/boletines/larvicultura/bole_9911_01.pdf [citado en 7 de octubre 2013].

⁶⁹ Caracterización Climática De Florianópolis-General. [Sistema de información]. Disponible en internet: <http://www.eletrosul.gov.br/casaeficiente/es/home/conteudo.php?cd=32>.

4.2. MATERIALES Y EQUIPOS

4.2.1. Materiales: se utilizaron vasos de precipitado de 1 L, nasa de 500 micras, papel aluminio, crisoles de porcelana, tubos Falcón de 15 ml, bandejas plásticas de 3 L, portaobjetos y cubreobjetos, pipeta de 100 ml, disco secchi y tanques de cultivo de 50 m³.

4.2.2. Equipos: se empleó microscopio binocular marca Zeiss, pH metro (YSI PH 100), oxímetro (YSI 550), refractómetro marca Bellingham Stanley, estufa de secado y balanza analítica marca Bioprecisa.

4.3. INSTALACIONES

El Laboratorio de Camarones Marinos de la Universidad Federal de Santa Catarina tiene un área aproximada de 30 ha, y cuenta con diferentes zonas productivas, entre ellas reproducción, maduración, desove, aclimatación, larvicultura y precría.

El experimento se realizó en el área de precría, donde el lote de producción se dispuso en un solo tanque de cultivo con volumen de 50 m³ (Figura 3). A partir de este tanque se recolectaron las respectivas muestras de postlarvas desde la edad de PL7 a PL17, el tanque fue equipado con sistema de aireación, calentador de 6000 kW y tuberías de abastecimiento de agua marina y continental.

Figura 3. Tanque de cultivo para la producción de postlarvas.



4.4. MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizó un total de 4500 postlarvas de *Litopenaeus vannamei* provenientes de 425 reproductores, obtenidos en el Laboratorio de Camarones Marinos-LCM (Figura 4), manejando una relación hembra: macho 1:1 con peso individual de $35 \pm 7,2$ g. Se trabajó con postlarvas en edades desde PL7 hasta PL17, las que se mantuvieron y mezclaron aleatoriamente en el lote de producción utilizado, sometiéndolas a la prueba de estrés osmótico en cada uno de los periodos de muda establecidos. Para dicha prueba se utilizó 3300 animales, 660 para determinar los estadios de muda y 330 individuos para identificar su desarrollo branquial.

Figura 4. Producción de postlarvas *Litopenaeus vannamei* en el laboratorio de camarones marinos.



a) Sala de maduración b) Reproductor de *L. vannamei* c) Sala de larvicultura.

4.5. MÉTODO DE COLECTA

Las muestras de postlarvas se tomaron diariamente del lote de producción durante la fase de evaluación correspondiente; este proceso se realizó con ayuda de una nasa (Figura 5). A partir de las muestras recolectadas se determinó su estado general, en relación al estadio, periodo de muda, desarrollo branquial, sometimiento a pruebas de estrés y peso seco. Del mismo modo, se examinó que las postlarvas estuvieran libres de enfermedades, observando la limpieza de las branquias, en el caso de presentar necrosis o bacterias filamentosas las postlarvas se descartaron.

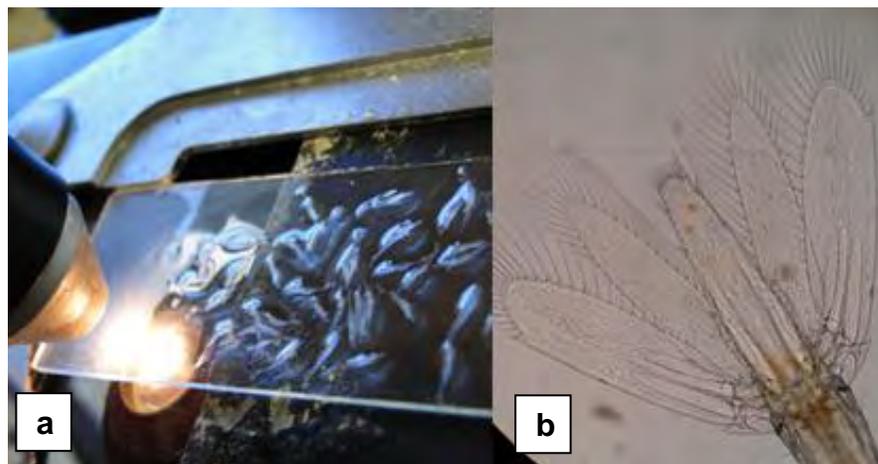
Figura 5. Toma de muestras de postlarvas *Litopenaeus vannamei*.



4.6. DETERMINACIÓN DE LOS ESTADÍOS DE MUDA

Se escogieron tres muestras de 20 postlarvas diariamente en edades desde PL7 hasta PL17, estas se depositaron en tubos Falcón con alcohol al 10%, posteriormente se realizó el análisis de las muestras *in situ*; el análisis se realizó con la ayuda del microscopio óptico en 10X y 40X observando la morfología de los urópodos para la clasificación de los estadios de muda (Figura 6).

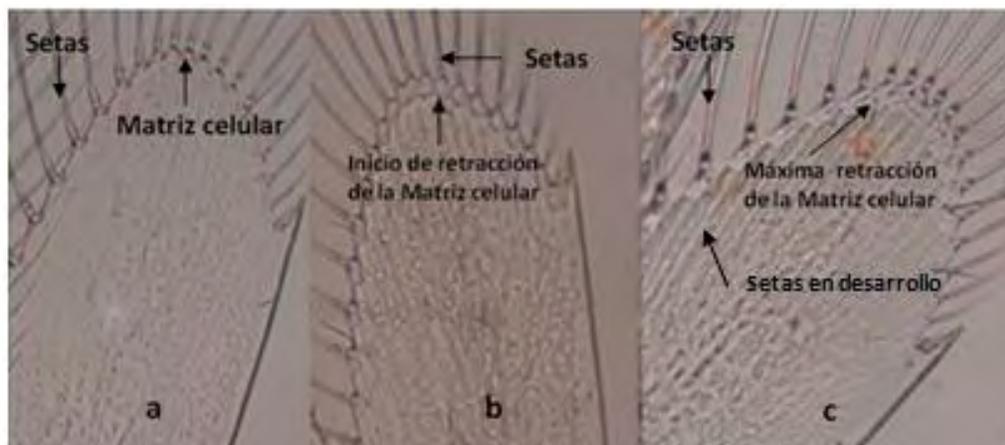
Figura 6. Observación de la morfología de los uropodos de postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei* para determinar su ciclo de muda.



a) Observación de postlarvas en microscopio b) Uropodo

Posteriormente, se determinó para cada edad los 3 estadios de muda de acuerdo a Robertson *et. al.*, citado por Souza⁷⁰, como se observa en la Figura 7. En el primer estadio de muda denominado intermuda (IM) se observó una sola matriz celular o epidermis, seguido de un segundo estadio denominado premuda inicial (PrMI) el cual se caracterizó por un leve desprendimiento de la cutícula de la matriz celular, sin tener una total separación de la epidermis y la última etapa de muda denominada premuda final (PrMF) se identificó por la total separación de la matriz celular observando unas nuevas setas en desarrollo. Estas características se observaron en cada de los estadios postlarvales evaluados (PL7 a PL17).

Figura 7. Caracterización de los estadios de muda de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.



a) Intermuda (IM) **b)** Premuda inicial (PrMI) **c)** Premuda final (PrMF).

4.7. INDICÉ DE DESARROLLO BRANQUIAL

Se tomaron tres muestras de 10 postlarvas de cada estadio, posteriormente se observó por medio de microscopio el desarrollo de lóbulos branquiales y sus ramificaciones; a continuación se contó la cantidad de divisiones de cada filamento branquial y se determinó el Índice de desarrollo branquial de la población según Artiles *et al.*,⁷¹ aplicando la siguiente fórmula:

⁷⁰ SOUZA, Fabiano. Op cit., pp.16.

⁷¹ ARTILES *et al.* Op cit., pp. 3.

$$DBI = RF \div N^{\circ} \text{ FILAMENTOS } (1)$$

$$DBP = DBI \div N^{\circ} \text{ LARVAS } (2)$$

Dónde:

DBI: Desarrollo branquial de cada individuo.

RF: Numero de divisiones de cada filamento.

DBP: Desarrollo branquial de la población analizada.

4.8. PRUEBA DE ESTRÉS OSMÓTICO

La prueba de estrés osmótico se realizó en los tres estadíos de muda de cada una de las diferentes edades de postlarvas escogidas, entre PL7 hasta PL17. Cuando se determinó el estadío de muda y la edad de la población, se tomaron por medio de pipeta de 100 ml tres muestras de 100 postlarvas del lote de producción, las cuales se mantuvieron con salinidad de 35 mg.L^{-1} ; las postlarvas fueron contadas y depositadas por triplicado en vasos de precipitado de 1 L de capacidad, el agua contenida en este recipiente se mantuvo con salinidad de 0 mg.L^{-1} , sometiéndolas de esta forma a cambio brusco de salinidad (Figura 8).

Figura 8. Toma de muestras y conteo de postlarvas de camarón blanco.



a) Muestreo de postlarvas **b)** Conteo de postlarvas por medio volumetrico

Las postlarvas se mantuvieron en los vasos de precipitado por 30 minutos, posteriormente se regresaron a la salinidad inicial (35 mg.L^{-1}) durante otros 30 minutos (Figura 9). Al término de este tiempo se contó el número de postlarvas sobrevivientes en cada recipiente y la resistencia de las postlarvas ante la prueba de estrés la cual fue analizada mediante la supervivencia expresada en porcentaje (Anexo 1); las larvas sobrevivientes a la prueba no se devolvieron al tanque de cultivo, siendo automáticamente descartadas.

Figura 9. Prueba de estrés a postlarvas de camarón en cada estadio de muda.



4.9. MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS

Diariamente se realizó la medición de los parámetros de calidad de agua de cultivo como oxígeno disuelto y temperatura (sonda multi-paramétrica YSI), también se tomó pH (pH metro), salinidad (refractómetro) y transparencia (disco de Secchi). Estos parámetros fueron medidos dos veces al día a las siete de la mañana y cinco de la tarde con el fin de saber si las postlarvas se encontraban con los requerimientos óptimos para su desarrollo (Anexo 2).

4.10. PESO Y TASA DE CRECIMIENTO ESPECÍFICO

Se tomó del lote de cultivo tres submuestras de 50 postlarvas tanto al inicio como al final del experimento; con esta información se estimó la tasa de crecimiento

específica con el fin de determinar si los animales se encontraban en estado de desarrollo normal. Las submuestras se depositaron en un crisol con papel aluminio; la muestra fue previamente deshidratada durante 24 horas con la ayuda de la estufa de secado a temperatura constante de 60°C, posteriormente se determinó el peso seco empleando balanza analítica.

La Tasa de crecimiento específica (TEC) se determinó de acuerdo a Heinsbrock⁷² con la siguiente fórmula:

$$TEC = \frac{(\ln Pf - \ln Pi)}{t} \times 100 \quad (3)$$

Dónde:

Pf: Peso final

Pi: Peso inicial

t: Tiempo

4.11. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se aplicó un diseño completamente aleatorizado con sub-muestreo y arreglo factorial 3x11, para 33 tratamientos con tres réplicas cada uno, en donde el Factor 1 (F1) fue el estadio de muda (intermuda, premuda inicial y premuda final) y el Factor 2 (F2) la edad de desarrollo (PL7 a PL17); la unidad experimental estuvo conformada por un beaker de 1 L de agua y 100 postlarvas en cada una de las edades y en cada estadio de muda definidos; en el análisis, se utilizó el método combinado negativo para aleatorizar la distribución de los tratamientos.

Para la comparación de los valores de supervivencia de las postlarvas ante la prueba de estrés atendiendo a la edad y a las etapas de muda, los datos consignados como un índice fueron transformados mediante el modelo *arco seno* \sqrt{y} (Anexo 3) y posteriormente se realizó la verificación de los supuestos estadísticos para la variable supervivencia, aplicando la prueba Z de asimetría, la cual demostró que los datos corresponden a una distribución simétrica ($p > 0,05$) cercana a la normal; en cuanto al supuesto de homogeneidad de varianzas, se pudo probar la hipótesis de que las varianzas de los tratamientos no tienen

⁷²HEINSBROEK, L. Growth and feeding of fish. Integration course: Fish culture Department of fish culture and fisheries, agricultural University, Wageningen, The Netherlands, 1990. pp. 93. Citado por: CONTRERAS, M.T. Evaluación del crecimiento de juveniles del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) alimentado con desechos del procesado del calamar. Trabajo de grado (Maestría En Ciencias: Área Acuicultura). Universidad de Colima. Manzanillo, Col, 1999. pp. 24.

diferencias significativas ($p > 0,05$), mediante la prueba de Bartlett, dado que se trata de muestras que provienen de una misma población; también se verificó el supuesto de independencia, mediante la prueba de Durbin-Watson, según la cual fue posible establecer que las muestras son independientes ($p > 0,05$). Con la anterior información, se asegura la posibilidad de aplicar el análisis de varianzas para comparar la supervivencia de los diferentes tratamientos (Anexo 4).

Una vez verificados los supuestos estadísticos se procedió a aplicar la prueba ANOVA multifactorial para determinar el efecto de los factores sobre la supervivencia de las postlarvas sometidas a estrés osmótico agudo (Anexo 5). En los casos en los cuales se encontraron diferencias significativas entre los grupos, se realizó una prueba de comparación múltiple de Tukey, con el fin de establecer diferencias significativas entre las medias y así poder determinar el valor más alto en la variable evaluada. Todas las pruebas se efectuaron utilizando una significancia $\alpha = 0,05$, en el software Statgraphics Centurion XV y Microsoft Excel 2010.

El diseño experimental estuvo representado por el siguiente modelo matemático:

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + \beta_k + (\gamma\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijk} + \delta_{ijkl} \quad (4)$$

Dónde:

- y_{ijkl} = Variable respuesta
- μ = Es la media poblacional
- α_i = Es el efecto del i-ésimo tratamiento
- γ_j = Efecto del j-ésimo nivel del Factor 1
- β_k = Efecto del k-ésimo nivel del Factor 2
- $(\gamma\beta)_{jk}$ = Efecto de la interacción entre los niveles de los dos factores
- ε_{ijk} = Es el error experimental
- δ_{ijkl} = Es el error de submuestreo

La distribución de factores y tratamientos se manejó de acuerdo a la Tabla 2:

Tabla 2. Factores y tratamientos del experimento.

Factor 1	Factor 2										
	PL7	PL8	PL9	PL10	PL11	PL12	PL13	PL14	PL15	PL16	PL17
Intermuda (IM)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11
Premuda Inicial (PrMI)	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20	T21	T22
Premuda Final (PrMF)	T23	T24	T25	T26	T27	T28	T29	T30	T31	T32	T33

De acuerdo con lo anterior, los tratamientos fueron distribuidos de la siguiente manera:

T1: IM y PL7	T12: PrMI y PL7	T23: PrMF y PL7
T2: IM y PL8	T13: PrMI y PL8	T24: PrMF y PL8
T3: IM y PL9	T14: PrMI y PL9	T25: PrMF y PL9
T4: IM y PL10	T15: PrMI y PL10	T26: PrMF y PL10
T5: IM y PL11	T16: PrMI y PL11	T27: PrMF y PL11
T6: IM y PL12	T17: PrMI y PL12	T28: PrMF y PL12
T7: IM y PL13	T18: PrMI y PL13	T29: PrMF y PL13
T8: IM y PL14	T19: PrMI y PL14	T30: PrMF y PL14
T9: IM y PL15	T20: PrMI y PL15	T31: PrMF y PL15
T10: IM y PL16	T21: PrMI y PL16	T32: PrMF y PL16
T11: IM y PL17	T22: PrMI y PL17	T33: PrMF y PL17

4.11.1. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

Hipótesis nula: $H_0: p_i = p_j; i \neq j; i, j = 1, 2, 3, \dots, 33$. No existen diferencias significativas entre las proporciones de postlarvas sobrevivientes, sometidas a estrés osmótico agudo bajo diferentes etapas de muda y estadios de edad.

Hipótesis alterna: $H_1: p_i \neq p_j; i \neq j; i, j = 1, 2, 3, \dots, 33$. Por lo menos uno de los tratamientos presenta diferencias significativas entre las proporciones de postlarvas sobrevivientes, sometidas a estrés osmótico agudo bajo diferentes etapas de muda y estadios de edad.

4.11.2. VARIABLE EVALUADA

Supervivencia: Variable expresada en porcentaje que indica los individuos vivos en un periodo de tiempo y se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% S = \left(\frac{N_f}{N_i} \right) \times 100 \quad (5)$$

Dónde:

S : Supervivencia

N_i : Número inicial de animales

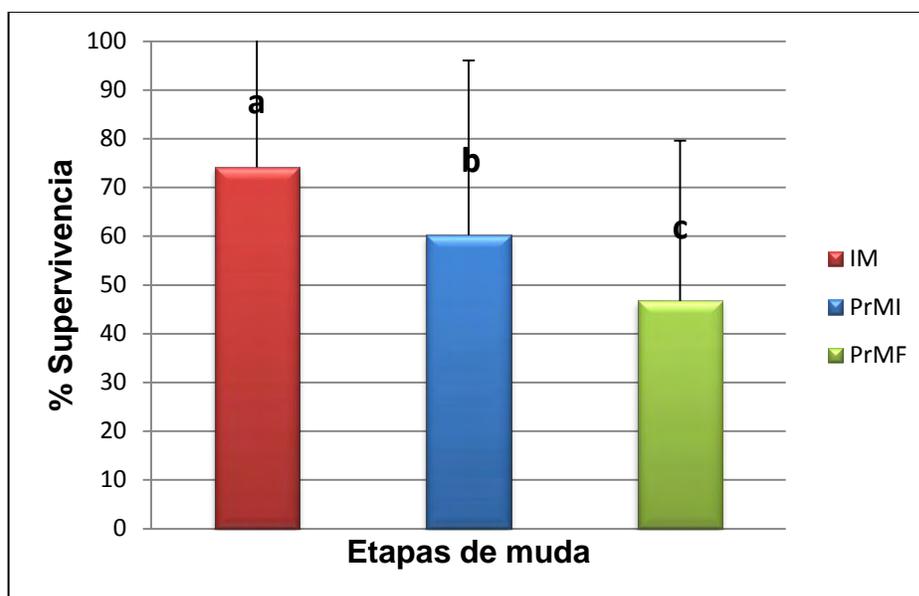
N_f : Número final de animales

5. RESULTADOS

5.1. ETAPAS DE MUDA

Los resultados de supervivencia obtenidos de la prueba de estrés osmótico realizada en las diferentes etapas de muda de las postlarvas se presentan en la Figura 10, registrando promedio de supervivencia del 74,12% en la etapa de intermuda, 60,24% en la etapa de premuda inicial y 46,73% en la etapa de premuda final, indicando que la supervivencia más alta se presentó en la etapa de intermuda y los menores valores se obtuvieron en las etapa de premuda inicial y premuda final.

Figura 10. Porcentaje de supervivencia de postlarvas sometidas a prueba de estrés osmótico durante sus etapas de muda.



IM: intermuda, PrMI: Premuda inicial PrMF: Premuda final

Según el análisis de varianza se determinó que entre las etapas de muda existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en base a los porcentajes de supervivencia de las postlarvas al ser sometidas a la prueba de estrés osmótico (Tabla 3).

Tabla 3. Prueba de Tukey para el factor 1 (Etapas de muda).

Factor1	Media LS	Grupos Homogéneos
Premuda Final	0,726394	X
Premuda Inicial	0,907182	X
Intermuda	1,10955	X

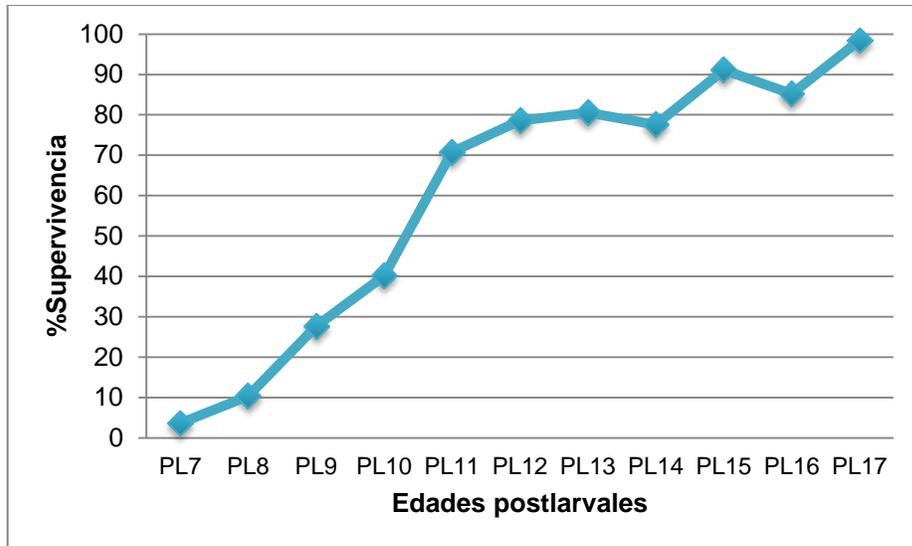
5.2. EDAD Y DESARROLLO BRANQUIAL

En la Tabla 4 se muestra el desarrollo branquial y el porcentaje de supervivencia de las postlarvas evaluadas, con valor inicial de 3,67% para PL7, finalizando con 98,44% para PL17; también se indica el conteo de filamentos branquiales en cada una de las edades, observando un desarrollo inicial de cuatro filamentos para PL7 y la presencia de 14 filamentos para PL17. De igual forma se observan los valores del índice de desarrollo branquial individual (DBI), con un valor inicial de 0,50 para PL7 y 0,58 para PL11 y el índice de desarrollo poblacional (DBP) con 0,017 para PL7 y 0,029 para PL11; a partir de PL12 en adelante no se calcularon estos índices puesto que la cantidad de ramificaciones a partir de estas edades son muy abundantes y no permiten su conteo. En la Figura 11 se presenta la supervivencia de las postlarvas ante la prueba de estrés osmótico en cada una de las edades evaluadas.

Tabla 4. Comportamiento de la resistencia de las postlarvas según el desarrollo branquial al ser sometidas a la prueba de estrés.

Edad	% Supervivencia	No. Filamentos	RF	DBI	DBP
PL7	3,67	4	2	0,50	0,017
PL8	10,33	5	2	0,40	0,013
PL9	27,67	6	4	0,67	0,022
PL10	40,11	7	6	0,86	0,029
PL11	70,78	8	7	0,88	0,029
PL12	78,56	9	Altamente ramificadas		
PL13	80,56	10	Altamente ramificadas		
PL14	77,56	11	Altamente ramificadas		
PL15	91,11	12	Altamente ramificadas		
PL16	85,22	13	Altamente ramificadas		
PL17	98,44	14	Altamente ramificadas		

Figura 11. Supervivencia de las postlarvas según la edad de desarrollo al ser sometidas a la prueba de estrés.



El análisis de varianza presentado en la Tabla 5, se registró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los estadios postlarvales, indicando según la prueba de Tukey que las edades de PL7 a PL11 presentaron diferencias significativas con una media de supervivencia relativamente baja, cuyos valores estuvieron entre 3,67% a 77,56% respectivamente; entre los estadios postlarvales PL11 a PL16 no se observan diferencias significativas claras y entre los estadios PL15 y PL17 presentaron diferencias significativas entre sí, mostrando las medias de supervivencia más altas en PL17 con 98,44% y PL16 con 91,11%.

Tabla 5. Prueba de Tukey para el factor 2 (Edad de las postlarvas).

Factor 2	Media %	Grupos Homogéneos
PL7	3,67	X
PL8	10,33	X
PL9	27,67	X
PL10	40,11	X
PL11	70,78	X
PL14	78,56	XX
PL12	80,56	XXX
PL13	77,56	XXX
PL16	91,11	XX
PL15	85,22	X
PL17	98,44	X

5.3. INTERACCIÓN ENTRE LAS ETAPAS DE MUDA Y LA EDAD DE LAS POSTLARVAS

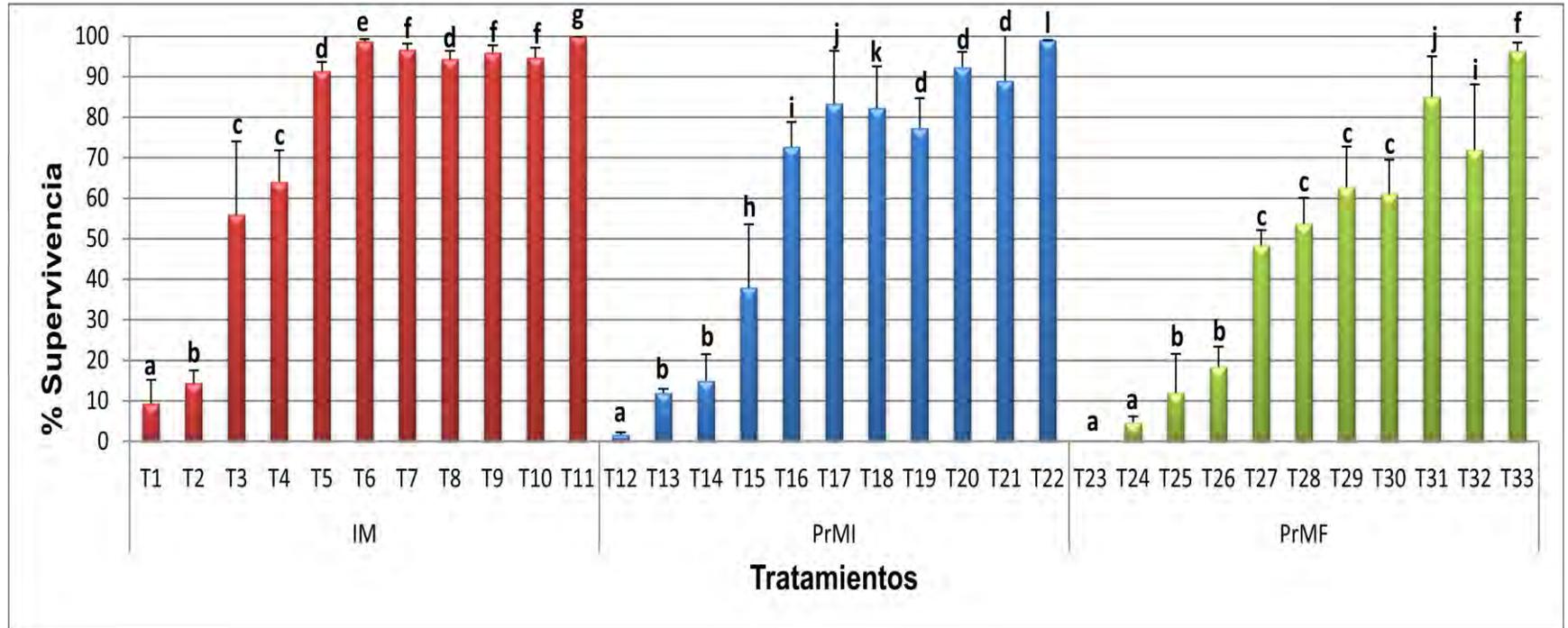
En la Figura 12 se presenta el comportamiento entre la interacción de los factores determinando unos valores de supervivencia para intermuda, de 9,33% a 100% desde la edad de PL7 hasta PL17; para el caso de premuda inicial los valores de supervivencia estuvieron entre 1,67% a 99% respectivamente y de igual forma en premuda final se presentaron valores que van de 0% a 96,3% de supervivencia de acuerdo a las edades evaluadas.

En la Tabla 6, se observa que el análisis de varianza multifactorial arroja diferencias significativas ($p < 0,05$) entre grupos de tratamientos (interacción entre muda y edad), determinando que en las etapas de premuda final y premuda inicial para las edades de PL7 a PL17 se presentan bajos valores de supervivencia en relación a la fase de intermuda que presentó supervivencias mucho más altas. Los mejores valores de supervivencia se obtuvieron en los tratamientos T5, T6, T7, T8, T9, T10 y T11, mostrando porcentajes entre 91 al 100%.

Tabla 6. ANOVA multifactorial para supervivencia por tratamiento.

Tratamiento	Muda-Edad	Media %	Grupos Homogéneos
23	PrMF-PL7	0,00	X
12	PrMI-PL7	1,67	XX
24	PrMF-PL8	4,67	XX
1	IM-PL7	9,33	XX
25	PrMF-PL9	12,00	X
13	PrMI-PL8	12,00	XX
2	IM-PL8	14,30	XX
14	PrMI-PL9	15,00	XX
26	PrMF-PL10	18,30	XX
15	PrMI-PL10	38,00	XX
27	PrMF-PL11	48,30	XX
28	PrMF-PL12	53,60	XX
3	IM-PL9	56,00	XXX
30	PrMF-PL14	61,00	XXXX
29	PrMF-PL13	62,60	XXXX
4	IM-PL10	64,00	XXXX
16	PrMI-PL11	72,60	XXXX
32	PrMF-PL16	72,00	XXXX
19	PrMI-PL14	77,30	XXXXX
18	PrMI-PL13	82,30	XXXXX
17	PrMI-PL12	83,30	XXXXX
31	PrMF-PL15	85,00	XXXXX
21	PrMI-PL16	89,0	XXXXX
5	IM-PL11	91,30	XXXXX
20	PrMI-PL15	92,30	XXXXX
8	IM-PL14	94,30	XXXXX
10	IM-PL16	94,60	XXXX
9	IM-PL15	96,00	XXXX
33	PrMF-PL17	96,30	XXXX
7	IM-PL13	96,60	XXXX
6	IM-PL12	98,60	XXX
22	PrMI-PL17	99,00	XX
11	IM-PL17	100,00	X

Figura 12. Interacción de la edad y el estado de muda sobre la supervivencia de postlarvas de *L. vannamei* sometidas a la prueba de estrés osmótico.



5.4. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL CULTIVO

En la Tabla 7 se muestran los parámetros físicoquímicos medidos en el lote de producción, entre los cuales se encuentran temperatura, oxígeno, salinidad, pH y transparencia. El comportamiento de los parámetros medidos diariamente se muestra en las Figuras 13 a 16.

Tabla 7. Parámetros físicoquímicos medidos en el tanque de producción.

PARAMETROS	PROMEDIO Y D.E
Temperatura (°C)	29,30±0,93
Oxígeno (mg.L ⁻¹)	5,73±0,25
Salinidad (mg.L ⁻¹)	35±0,00
pH	8,18±0,16
Transparencia (cm)	37,18±2,79

Figura 13. Comportamiento del oxígeno disuelto durante el periodo de estudio.

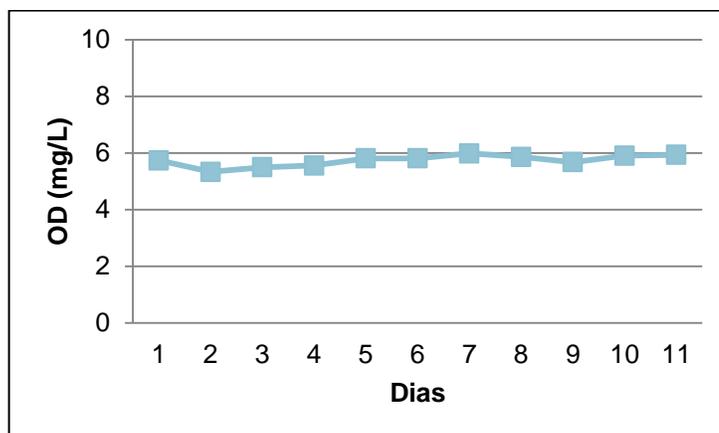


Figura 14. Comportamiento de la temperatura durante el periodo de estudio.

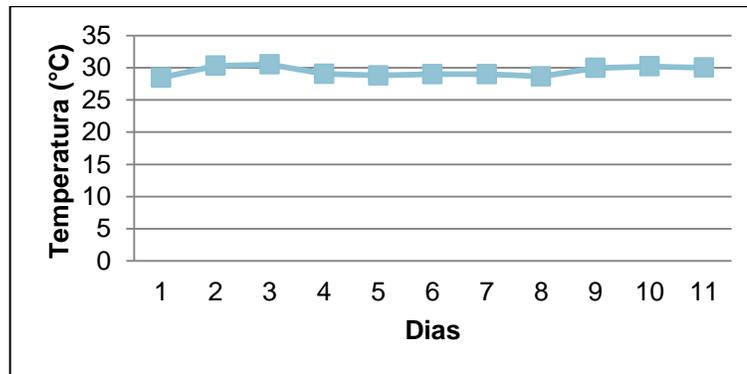


Figura 15. Comportamiento del pH durante el periodo de estudio.

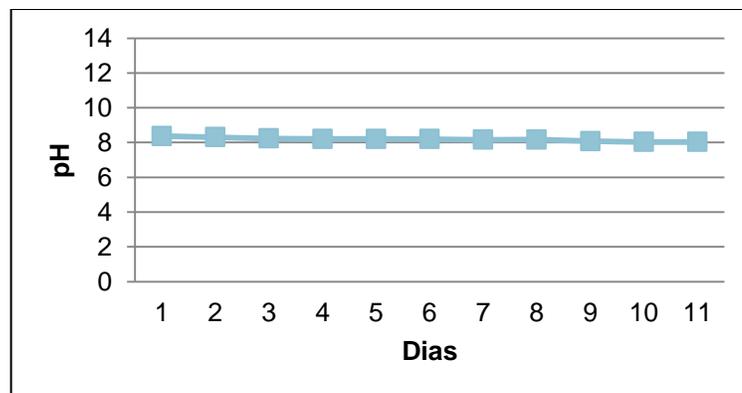
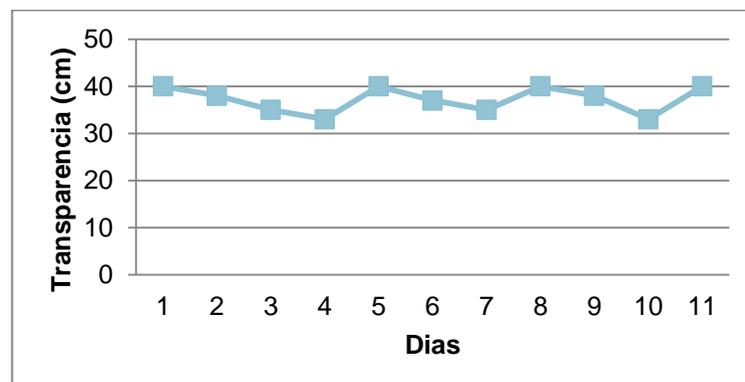


Figura 16. Comportamiento de la transparencia durante el periodo de estudio.



5.5. PESO Y TASA DE CRECIMIENTO ESPECÍFICO

Durante el periodo de estudio las postlarvas presentaron una tasa de crecimiento simple del 41%, lo que significa que los animales incrementaron diariamente su masa corporal viéndose reflejado en la variable peso, presentando un promedio de peso seco inicial de $0,18 \pm 0,027$ mg en estadio de PL7 y peso seco final de $15,42 \pm 0,267$ mg en PL 17 (Tabla 8 y 9).

Tabla 8. Peso seco inicial de las postlarvas.

N° larvas	W filtros (g)	W crisol (g)	W filtro+w húmedo (g)	W seco filtro 24 Hr (g)	Peso inicial (mg)
50	0,1119	44,1092	0,7965	44,2291	0,160
50	0,1124	41,1899	0,8053	41,3126	0,206
50	0,1124	44,3400	0,7996	44,4604	0,160
Promedio					0,18
Desviación					0,027

Tabla 9. Peso seco final de las postlarvas.

N° larvas	W filtros (g)	W crisol (g)	W filtro+w húmedo (g)	W seco filtro 24 Hr (g)	Peso inicial (mg)
50	0,1115	44,0487	0,9038	44,9461	15,718
50	0,1116	41,8532	0,895	42,732	15,344
50	0,1126	43,1176	0,8777	43,9902	15,200
Promedio					15,421
Desviación					0,267

6. DISCUSIÓN

Pocos son los estudios que se han realizado hasta el momento sobre el comportamiento y supervivencia que muestran las postlarvas al aplicarles la prueba de estrés osmótico con relación a su edad y estado de muda; con esta investigación obtuvieron respuestas a muchos de los interrogantes que se presentan al realizar este tipo de pruebas en los laboratorios de larvas de *L. vannamei*.

En los análisis realizados para observar la supervivencia de las postlarvas en el factor 1 (etapas de muda), se estableció que la etapa de intermuda presentó la mejor media, comprobando así que es en esta etapa el mejor momento para realizar la prueba de estrés. De acuerdo con lo expuesto por Cruz⁷³, los anteriores resultados se deben a que las postlarvas al encontrarse en las etapas de premuda inicial y final poseen un exoesqueleto blando, lo que las hace más susceptibles, sensibles y menos resistentes a cualquier cambio ambiental; en el caso de la intermuda este es un estadio en el cual todas las capas del exoesqueleto están presentes dándole consistencia dura y gruesa, igualmente en esta etapa el animal acumula reservas, genera células y tejidos durante su desarrollo postlarvario lo cual ayuda a las postlarvas a ser más resistentes.

Wajsbrot *et al.*, citado por Souza⁷⁴, afirma que los camarones en etapas de póst y premuda son más sensibles al estrés que en la etapa de intermuda; además Chan *et al.*, citado por Oliva⁷⁵, confirma que en esta etapa las postlarvas consumen mayor proporción de alimento, presentando mayores niveles de reservas alimentarias lo cual reflejaría mayor resistencia ante la prueba de estrés osmótico.

En el análisis para el factor 2 (edad), el desarrollo branquial determina que a mayor edad mayor es la presencia de filamentos branquiales y mayor es la supervivencia, de igual forma el índice de desarrollo branquial individual (DBI) y poblacional (DBP) son directamente proporcionales a la edad de las postlarvas; es evidente que conforme se incrementa la edad de la postlarva, la supervivencia y la

⁷³ CRUZ, JAZMIN. Efecto de la Ablación del Pedúnculo Ocular sobre Variables Reproductivas, Inmunológicas y Metabólicas en Hembras Reproductoras de *Macrobrachium americanum*. Trabajo de grado (Maestría en recursos naturales y medio ambiente). Instituto Politécnico Nacional. Mexico, 2011. pp. 77.

⁷⁴ SOUZA, Fabiano. Op. Cit. pp. 12.

⁷⁵ OLIVA, M. Op. Cit. pp. 80.

resistencia al estrés osmótico aumenta; de acuerdo con Samocha *et al.*,⁷⁶ esto es debido a que su capacidad osmorreguladora se incrementa con la edad.

Aquacop *et al.*,⁷⁷ determina que las pruebas de estrés son aplicables una vez la larva posee su estructura branquial definida (PL 6), incrementando su resistencia a los cambios de salinidad a medida que aumenta su estado fisiológico. Al realizar la prueba de estrés a edad intermedia se presentó sobrevivencia relativamente baja desde PL7 a PL10, con valores de 3,67% a 40,11%, con desarrollo branquial de 4 a 7 filamentos branquiales sin observar un completo desarrollo en base a sus ramificaciones. Según Rees *et al.*,⁷⁸ a edades tempranas, la capacidad de osmorregulación de las postlarvas es deficiente debido a que las estructuras que realizan dicha función (branquias) no están completamente ramificadas y su área de intercambio no le es suficiente para compensar un choque osmótico o todavía no pueden realizar intercambio iónico eficiente. Esto concuerda con lo mencionado por Aquacop *et al.*,⁷⁹ en el sentido de que la osmorregulación de tipo hiper-hipo-osmótico no se desarrolla hasta que las estructuras branquiales cuenten con cierto nivel de actividad de la bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATPasa}$.

Entre la interacción de la edad y las fases de muda de las postlarvas sobre la supervivencia determinada por la prueba de estrés osmótico, se observa que los dos factores son dependientes, ya que al aplicar la prueba en edades tempranas (PL7 a PL11) el porcentaje de supervivencia es variable debido a que en la etapa de intermuda sus valores son más altos mientras que en etapas de premuda final e inicial dichas supervivencias son mucho más bajas. Este comportamiento se repite en edades más avanzadas (PL12 a PL17), obteniendo bajos porcentajes de supervivencia en etapas de premuda final e inicial y mayores valores en la etapa de intermuda.

Los valores de las medias estadísticas de la interacción entre los dos factores (etapas de muda y edades postlarvales) ascienden a medida que aumenta la edad postlarval, por lo que se determinó que los mejores tratamientos para realizar dichas pruebas de estrés que demuestren la calidad de las postlarvas son en la etapa de intermuda y en las edades de PL12 a PL17, resaltando el tratamiento 11

⁷⁶ SAMOCHA, *et al.* A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae. En: Aquaculture. Vol.165. No. 3. 1998. pp. 239.

⁷⁷ AQUACOP, G.; MOULLAC, L. Y DAMEZ, D. Modélisation de la résistance au chocs de salinité des postlarves de *Penaeus vannamei*. En: Aquatic Living Ressources. Vol. 4. 1991. pp. 169-173.

⁷⁸ REES, J.; CURE, K.; PIYATIRATITIVORAKUL, S.; SORGELOOS, PP. y MENASVETA PP. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae an experimental approach based on Artemia enrichment. En: Aquaculture. Vol. 122. No. 3. 1994. pp. 193-207.

⁷⁹ AQUACOP, G.; Moullac, L. y Damez, D. Op. Cit. pp. 170.

(fase de intermuda y edad PL17) que presentó la mejor supervivencia con respecto a la resistencia ante la prueba de estrés osmótico.

Vega *et al.*,⁸⁰ explican que hay diversos estudios en los cuales se ha realizado el cese parcial o total de alimentación en determinados estadios de muda en peneidos, toda vez que se ha demostrado que el consumo de alimento y reservas alimenticias son altas en la etapa de intermuda y bajas las etapas de premuda final e inicial, dentro de una población de camarones no todos se encuentran en las mismas condiciones fisiológicas a la vez, debido a los diferentes ritmos biológicos de cada individuo, uno de estos ritmos biológicos es el fenómeno de la muda.

Ceccaldi,⁸¹ indica que esta conducta puede deberse al hecho de que en el proceso de despojarse del exoesqueleto, algunas estructuras como la boca, el esófago y parte del estómago dejan de ser funcionales. Estos órganos poseen una capa de quitina que es una continuación de las capas externas, está cubierta quitinosa en el momento de la muda, se desprende junto con el antiguo exoesqueleto impidiendo que se sigan realizando las funciones normales de prensión, tránsito y molienda del alimento. El mismo autor,⁸² también explica que durante el proceso de muda las branquias quedan inutilizadas por la misma causa y las postlarvas no vuelven a respirar hasta que estas comienzan a adquirir la rigidez necesaria. De esta manera se confirma lo explicado por Cheng *et al.*, citado por Souza⁸³, que la osmorregulación es directamente afectada durante las etapas de muda debido al desprendimiento de las capas quitinosas del exoesqueleto como de los órganos respiratorios.

Según Vega *et al.*,⁸⁴ este proceso de desprendimiento de las capas quitinosas del sistema digestivo comienza durante la premuda final, en el cual, el animal no puede comer desde ese momento y comienza a utilizar las grasas y azúcares que tiene de reserva para llevar con éxito las etapas subsecuentes de la muda como lo es la construcción del nuevo exoesqueleto.

⁸⁰ VEGA, F.; NOLASCO, H.; CIVERA, R.; GONZÁLEZ, R. Y OLIVA, M. Alternativa para la alimentación del camarón en cultivo: el manejo de la muda. En: Cruz, L.; Ricque, D.; Tapia, M.; Olvera, M. y Civera, R. (Editores). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.

⁸¹ CECCALDI, H. Anatomy and physiology of the digestive system. En: Abramo, L; Conklin, D. y Akiyama, D. (Editores). Crustacean Nutrition Vol.6. 1997. pp.277.

⁸² CECCALDI, H. Op. Cit. pp. 289.

⁸³ SOUZA, Fabiano. Op Cit., pp. 12.

⁸⁴ VEGA, F.; FERNÁNDEZ, I.; PRECIADO, R.; OLIVA, M.; TOVAR, D. y NOLASCO, H. The activity of the digestive enzymes during the molting stages of the arched swimming *Callinectes arcuatus* Ordway, 1863 (Crustacea:Decapoda:Portunidae). En: Bulletin of Marine Science. Vol. 65. No 1. 1999. pp. 1-9.

En el caso de los parámetros fisicoquímicos medidos en el periodo de estudio estuvieron dentro de los rangos óptimos para la especie *L. vannamei*. De acuerdo con Vinatea⁸⁵, el oxígeno debe mantener concentraciones no menores a 4,9 mg.L⁻¹; según Limsuwan⁸⁶, el pH adecuado en cultivo de larvas de camarón debe estar en rango de 7,5 a 8,5. Bezerra *et al.*,⁸⁷ indica que la temperatura entre 27 a 31 °C y la salinidad debe presentar valores entre los 20 a 35 mg.L⁻¹.

Según Mourão⁸⁸ en su estudio “Influencia de la edad y la temperatura del agua en la transferencia de postlarvas de camarón marino” reportaron peso inicial para postlarvas en estadio PL6 de 0,20mg y peso promedio final en PL18 de 16,20mg a temperatura de 28°C. Se debe tener en cuenta que no solo la temperatura es el parámetro que influye en el crecimiento y desarrollo de las postlarvas si no las demás variables fisicoquímicas y biológicas de la unidad de cultivo. Indica también Scelzo *et al.*,⁸⁹ que tasas de crecimiento entre 0,2 y 12mg son considerados adecuados en el cultivo de postlarvas.

⁸⁵ VINATEA, L. Princípios químicos da qualidade de água em aquicultura. Editora. Universidad Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 1997. pp. 166.

⁸⁶ NICOVITA. Cultivo intensivo del camarón blanco. [En línea]. Disponible en internet: <http://www.nicovita.com.pe/cdn/content/cms/archivos/documentos/doc_268_1.pdf> [citado en 9 de enero 2014].

⁸⁷ BEZERRA, A., SILVA, J., MENDES, P. Seleção de variáveis em modelos matemáticos dos parâmetros de cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. En: Pesquisa agropecuária. Brasília. vol. 42. N. 3. 2007. pp.387.

⁸⁸ MOURÃO, C. Op. Cit. pp. 20.

⁸⁹ SCELZO, M.A.; HERNANDEZ, J. E. Culture experiments of native species of penaeid shrimps in earthen ponds in Margarita Island, Venezuela, feeding on commercial diets. En: Aquaculture. vol.1, N.1. 1999. pp 366.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1. CONCLUSIONES

El momento ideal para realizar la prueba de estrés osmótico a postlarvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) es en la fase de intermuda, debido a que en esta etapa se obtuvieron los mayores porcentajes de supervivencia.

El desarrollo branquial permitió definir las edades postlarvales por medio del conteo de filamentos o lobulos branquiales, a mayor numero de filamentos mayor es la edad postlarval iniciando con 4 lobulos para PL7 y finalizando con 14 lobulos para PL17.

Existe interacción entre la edad y las etapas de muda de las postlarvas, ya que una postlarva a pesar de encontrarse en edad avanzada (PL12 a PL17) puede presentar baja supervivencia si la población se encuentra en estado de premuda inicial o final y alta supervivencia al encontrarse en estado de intermuda.

Los mejores tratamientos para realizar la prueba de estrés osmótico en base a la interacción de la edad y las etapas de muda son el T5 hasta el T11, destacando este último el cual presentó la mejor media estadística y cuya interacción corresponde al estadio PL17 y etapa de intermuda.

7.2. RECOMENDACIONES

Los resultados de esta investigación son los primeros reportados y que profundizan en la prueba de estrés osmótica en relación con las edades y estadios de muda, por lo cual pueden contribuir en los protocolos para la comercialización de postlarvas de camarón blanco (*L. vannamei*), pudiendo utilizarse a la hora de realizar la compra y venta de los organismos en cualquier laboratorio de producción.

Dentro de los protocolos para determinar la calidad de las postlarvas se debe tener en cuenta el ciclo biológico de la muda del camarón ya que al representar bajas supervivencias en la prueba de estrés no se demuestra totalmente que el lote de producción sea de mala calidad.

Se debe seguir realizando este tipo de investigaciones que ayuden a estandarizar procesos de cultivo de camarón optimizando los criterios de manejo y producción de postlarvas.

BIBLIOGRAFÍA

ABIAYAD, S.; MELARD, C. Y KESTEMONT, P. Effects of n-3 fatty acids in Eurasian Perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. En: Aquaculture. Vol. 5 No.2. 1997. p.168.

AQUACOP, G.; MOULLAC, L. Y DAMEZ, D. Modélisation de la résistance au chocs de salinité des postlarves de *Penaeus vannamei*. En: Aquatic Living Resources. Vol. 4. 1991. p. 169-173.

ARTILES *et al.* Evaluación de la calidad de postlarvas de camarón blanco *Penaeus smichi* mediante diferentes pruebas de estrés. En: revista de investigaciones marinas. Vol. 20. No. 1-3. 1999. p. 7.

BRAY, W. Y LAWRENCE A. New concepts in seedstock production. Learning to determine quality. En: International symposium on commercial production of shrimp larvae. Mazatlán, México. 1991. p.16.

Caracterización Climática De Florianópolis-General. [Sistema de información]. Disponible en internet: <<http://www.eletrosul.gov.br/casaeficiente/es/home/conteudo.php?cd=32>>.

CAVALLI, R. *et al.* Ammonia toxicity as a criterion for the evaluation of larval quality in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. En: Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology. Vol. 125. No. 3. p. 333-343.

CECCALDI, H. Anatomy and physiology of the digestive system. En: Abramo, L; Conklin, D. y Akiyama, D. (Editores). Crustacean Nutrition Vol.6. 1997. p.261-291.

CHARMANTIER, G. *et al.* Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two Decapod Crustaceans. *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. En: The Biological Bulletin. Vol. 175. No. 1. 1988. p. 102-110.

CHEN, J.; LIN, M.; TING, Y, Y LIN, J. Survival, haemolymph osmolality and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles acclimated to different salinity and temperatures levels. En: Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 110. No. 3. 1995. p. 253-258.

CHENG, W.; LIU, C.; YAN, D. y CHEN, J. Hemolymph oxyhemolymph, protein, osmolaty and electrolyte levels of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* in relation to size and molt stage. Aquaculture. Vol. 221. No. 1-4. 2002. p. 325–339.

CRUZ, JAZMIN. Efecto de la Ablación del Pedúnculo Ocular sobre Variables Reproductivas, Inmunológicas y Metabólicas en Hembras Reproductoras de *Macrobrachium americanum*. Trabajo de grado (Maestría en recursos naturales y medio ambiente). Instituto Politécnico Nacional. México, 2011. p. 77.

ROSAS, C. *et al.* Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. En: Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 249. No. 2. 2000. p. 181-198.

DE LA CRUZ, A.S. Prueba de resistencia a baja salinidad de las postlarvas de *Penaeus schmitti*. En: Revista de investigaciones marinas. Vol. 13. No. 2. 1992. p. 152-158.

ESPINAL, C.; MARTÍNEZ, H. Y GONZÁLEZ, F. La Cadena del Camarón de Cultivo en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Observatorio Agrocadenas Colombia. Bogotá. 2005. p. 23.

ECHEVERRIA, F *et al.* WSSV y ciclo de muda en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Contribuciones del CENAIM durante el VI congreso Ecuatoriano de Acuicultura. Enero 2002. p. 1.

FAO. Programa de información de especies acuáticas. *Penaeus vannamei*. Programa de información de especies acuáticas. Texto de Briggs, M. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [En línea]. Roma. Actualizado 7 Abril 2006. Disponible en internet: <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/es#tcNA008C> [Citado 22 agosto 2013].

HEINSBROEK, L. Growth and feeding of fish. Integration course: Fish culture Department of fish culture and fisheries, agricultural University, Wageningen, The Netherlands, 1990. p. 93. Citado por: CONTRERAS, M.T. Evaluación del crecimiento de juveniles del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) alimentado con desechos del procesado del calamar. Trabajo de grado (Maestría En Ciencias: Área Acuicultura). Universidad de Colima. Manzanillo, Col, 1999. p. 24.

KNOLL, Rodrigo. Sistema de avaliação da qualidade de pós-larvas do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Trabajo de grado (maestría em Acuicultura). Universidade federal de Santa Catarina. Centro de ciências agrarias. Florianópolis/SC, 2010. p 15.

LEÓN CARREÑO D, P. Alteraciones metabólicas del camarón *Litopenaeus vannamei* en respuesta a la manipulación rutinaria bajo condiciones de cultivo y a la ablación del tallo ocular. Trabajo de grado (Maestro en Ciencias). Instituto politécnico nacional. Centro interdisciplinario de ciencias marinas. La paz, baja california sur, noviembre del 2000. p.26.

LIGNOT *et al.* Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. En: Aquaculture. Vol. 191. No. 1-3. 2000. p. 209-245.

MALDONADO, E. Evaluación de 4 métodos utilizados en la determinación de la calidad de postlarvas *Litopenaeus vannamei*. En: iv seminario internacional de acuicultura y primer congreso nacional de investigaciones acuícolas. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, 2003. p.1

MANIFESTACION DE IMPACTO AMBIENTAL MODALIDAD PARTICULAR. Laboratorio de reproducción larvaria y postlarvaria de camarón [en línea]. Disponible en internet: <<http://sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/bcs/estudios/2007/03BS2007PD003.pdf>> [citado en septiembre de 2013]

MARCILLO M, F. Pruebas de estrés de temperatura y salinidad en postlarvas de *peneidos vannamei* alimentadas con tres dietas distintas. Trabajo de grado (Acuicultor). Escuela politécnica del litoral. Facultad De Ingenieria Marítima Y Ciências Del Mar. Guayaquil, Ecuador, 1991. p. 25

MEYER, A. y PARRA, E. Vitalidad de nauplios obtenidos de reproductores de *Penaeus vannamei* alimentados con diferentes dietas. En: IX Reunión de Avances en Investigación en Ciencias. PICP, Universidad de Colima. México. 1996. p. 125-130.

MOURÃO, C. Influência da idade e da temperatura da água na transferência de pós-larvas do camarão marinho *litopenaeus vannamei* (boone, 1931) do sistema de larvicultura para o sistema de berçários intensivos. Trabajo de grado (Maestria en Acuicultura). Universidad federal se Santa Catarina. Centro de ciências agrarias. Florianópolis, 2002. p. 28

NICOVITA. Cultivo intensivo del camarón blanco. [En línea]. Disponible en internet: <http://www.nicovita.com.pe/cdn/content/cms/archivos/documentos/doc_268_1.pdf> [citado en 9 de enero 2014].

NICOVITA CAMARON DE MAR, Evaluación y siembra de postlarva de camarón marino. [En línea] Disponible en internet: <http://www.alicorp.com.pe/ohs_images/nicovita/boletines/larvicultura/bole_9911_01.pdf> [citado en 7 de octubre 2013]

NICOVITA CAMARON DE MAR. Investigadores capturan imágenes para un análisis práctico de las etapas de muda en el camarón marino [en línea]. Disponible en internet:

<http://www.alicorp.com.pe/portal/page?_pageid=34,79788&_dad=portal&_schema=PORTAL> [citado en octubre 2013]

OLIN, P. y FAST, W. Penaeid PL harvest, transport, acclimation and stocking. En: Fast, A. W., Lester, L. J. (Eds) Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. Elsevier Science Publishers. 1992. p. 301 – 320.

OLIVA, M. Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en los mecanismos de osmorregulación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Bonne) expuestos a estrés hipo e hipersalino a corto y largo plazo. Trabajo de posgrado (Maestro en Ciencias). Centro De Investigaciones Biológicas Del Noroeste, S. C. Área en acuicultura La Paz, B. C. S. 2004. p. 29.

OGLE, J.; BEAUGEZ, K. Y MELLWAIN, T. Survival of *Penaeus vannamei* Postlarvae with Low-Salinity Water. En: J. Shellfish-res. Vol. 7. No.1. 1987. p. 172-173.

PANORAMA DA AQUICULTURA. Carcinicultura Brasileira: O censo de 2003. Rio de Janeiro, RJ. Vol. 14, No. 82. 2004. p. 66.

PÉREZ FARFANTE, I y KENSLEY, B. Keys and diagnoses for the families and genera. Penaeoid and sengestoid shrimps and prawns of the world. Mémoires du museum national d histoire naturelle. Paris: Editions du Muséum, 1997. p 233.

REES, J.; CURE, K.; PIYATIRATITIVORAKUL, S.; SORGELOOS, P. y MENASVETA P. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae an experimental approach based on *Artemia* enrichment. En: Aquaculture. Vol. 122. No. 3. 1994. p. 193-207.

RIVERA RODRÍGEZ, M C. Efecto de la salinidad sobre el crecimiento y sobrevivencia en postlarvas y juveniles de camarón blanco *Penaeus vannamei* (Boone, 1931), bajo condiciones de laboratorio. Trabajo de grado de Maestría en ciencias: área de acuicultura. Universidad de Colima. Facultad De Ciencias Marinas. Manzanillo, Col., Octubre de 1998. p. 11

ROCHA, I. P.; MAIA, E. P. Desenvolvimento tecnológico e perspectivas de crescimento de carcinicultura marinha brasileira. En: Anais da Aqüicultura Brasil 98, Recife. Vol. 1. 1998. p.213 – 229.

ROSENBERRY, R. World Shrimp Farming. Aquaculture Digest, San Diego, USA. 1994. p.52

SAMOCHA T. *et al.* A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae. En: Aquaculture. Vol. 165. No. 3. 1998. p. 233-242.

SOBRINHO, C, D. Estudo Do Crescimento, Estabilidade Fisica, Quimica E Termogravimetrica Con Racoos Para Camarão Marinho *Litopenaeus vannamei*. Trabajo de grado de maestria em ciência y tecnologia de alimentos. Universidade Federal Da Paraíba Centro De Tecnologia. 2011. p.27.

SOUZA, Fabiano. Efeito da redução da salinidade sobre os estágios de muda durante o processo de aclimação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*. Trabajo de grado (Maestria em Acuicultura). Universidad Federal De Santa Catarina. Centro de ciências pecuárias. Florianópolis-SC, 2005. p. 12

TREECE, G. D. 2000. Shrimp culture. En: Stickney, R. R. (Ed). Encyclopedia of aquaculture. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA, p.798-868.

VEGA, F.; FERNÁNDEZ, I.; PRECIADO, R.; OLIVA, M.; TOVAR, D. y NOLASCO, H. The activity of the digestive enzymes during the molting stages of the arched swimming *Callinectes arcuatus* Ordway, 1863 (Crustacea: Decapoda: Portunidae). En: Bulletin of Marine Science. Vol. 65. No 1. 1999. p. 1-9.

VEGA, F.; NOLASCO, H.; CIVERA, R.; GONZÁLEZ, R. Y OLIVA, M. Alternativa para la alimentación del camarón en cultivo: el manejo de la muda. En: Cruz, L.; Ricque, D.; Tapia, M.; Olvera, M. y Civera, R. (Editores). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.

VIJAYAN, K.K., SUNILKUMAR MOHAMED, K., DIWAN, A.D. Studies on moult staging, moulting duration and moulting behaviour in indian white shrimp *Penaeus indicus* Milne Edwards (decapoda *penaeidae*). En: Journal of Aquaculture in Tropics. Vol 12. No. 1. 1997. p. 53-64.

VINATEA, L. Princípios químicos da qualidade de água em aquicultura. Editora. Universidad Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 1997. p. 166.

WAJSBROT, N. *et al.* Effect of dissolved oxygen and the molt stage on the acute toxicity of ammonia to juvenile Green Tiger prawn *Penaeus semisulcatus*. En: Environmental Toxicology and Chemistry. Vol. 9. No. 3. 1990. p. 497–504.

WATERMAN, T. Osmotic and ionic regulation. The physiology of crustacea Metabolism and growth. En: Elsevier Science. Vol.1. Cap. 9. 1960. p. 317-339.

ANEXOS

Anexo 1. Registro de supervivencia de postlarvas sometidas a prueba de estrés en las tres etapas de muda.

Fecha	Prueba	N° @	Replicas	Edad/Día	Estadio Muda Y Supervivencia		
					IM	PrMI	PrMF
25/11/2013	1	100	1	PL7	5		
		100	2	PL7	16		
		100	3	PL7	7		
	2	100	1	PL7		2	
		100	2	PL7		2	
		100	3	PL7		1	
	3	100	1	PL7			0
		100	2	PL7			0
		100	3	PL7			0
26/11/2013	1	100	1	PL8	18		
		100	2	PL8	12		
		100	3	PL8	13		
	2	100	1	PL8		13	
		100	2	PL8		12	
		100	3	PL8		11	
	3	100	1	PL8			6
		100	2	PL8			5
		100	3	PL8			3
27/11/2013	1	100	1	PL9	38		
		100	2	PL9	56		
		100	3	PL9	74		
	2	100	1	PL9		8	
		100	2	PL9		16	
		100	3	PL9		21	
	3	100	1	PL9			5
		100	2	PL9			8
		100	3	PL9			23

Anexo 1. Continuación.

28/11/2013	1	100	1	PL10	69		
		100	2	PL10	55		
		100	3	PL10	68		
	2	100	1	PL10		47	
		100	2	PL10		47	
		100	3	PL10		20	
	3	100	1	PL10			19
		100	2	PL10			13
		100	3	PL10			23
29/11/2013	1	100	1	PL11	90		
		100	2	PL11	94		
		100	3	PL11	90		
	2	100	1	PL11		66	
		100	2	PL11		74	
		100	3	PL11		78	
	3	100	1	PL11			44
		100	2	PL11			50
		100	3	PL11			51
30/11/2013	1	100	1	PL12	99		
		100	2	PL12	99		
		100	3	PL12	98		
	2	100	1	PL12		96	
		100	2	PL12		70	
		100	3	PL12		84	
	3	100	1	PL12			47
		100	2	PL12			54
		100	3	PL12			60
1/12/2013	1	100	1	PL13	95		
		100	2	PL13	98		
		100	3	PL13	97		
	2	100	1	PL13		78	
		100	2	PL13		75	
		100	3	PL13		94	
	3	100	1	PL13			51
		100	2	PL13			69
		100	3	PL13			68

Anexo 1. Continuación.

2/12/2013	1	100	1	PL14	92		
		100	2	PL14	95		
		100	3	PL14	96		
	2	100	1	PL14		69	
		100	2	PL14		83	
		100	3	PL14		80	
	3	100	1	PL14			60
		100	2	PL14			53
		100	3	PL14			70
3/12/2013	1	100	1	PL15	94		
		100	2	PL15	97		
		100	3	PL15	97		
	2	100	1	PL15		88	
		100	2	PL15		94	
		100	3	PL15		95	
	3	100	1	PL15			75
		100	2	PL15			85
		100	3	PL15			95
4/12/2013	1	100	1	PL16	92		
		100	2	PL16	97		
		100	3	PL16	95		
	2	100	1	PL16		76	
		100	2	PL16		95	
		100	3	PL16		96	
	3	100	1	PL16			54
		100	2	PL16			77
		100	3	PL16			85
5/12/2013	1	100	1	PL17	100		
		100	2	PL17	100		
		100	3	PL17	100		
	2	100	1	PL17		99	
		100	2	PL17		99	
		100	3	PL17		99	
	3	100	1	PL17			94
		100	2	PL17			98
		100	3	PL17			97

Anexo 2. Registro de parámetros físico-químicos.

Fecha	Hora	O2	T (°C)	Salinidad (mg.L ⁻¹)	pH	secchi (cm)
25/11/2013	07:00	6,07	28,3	35	8,32	40
	17:00	5,4	28,6		8,42	
26/11/2013	07:00	5,21	32	35	8,19	38
	17:00	5,45	29		8,28	
27/11/2013	07:00	5,54	29,1	35	8,14	35
	17:00	5,45	28,5		8,27	
28/11/2013	07:00	5,39	29,5	35	8,13	33
	17:00	5,72	28,5		8,19	
29/11/2013	07:00	5,89	28,8	35	8,14	40
	17:00	5,81	31,1		8,02	
30/11/2013	07:00	5,99	29,3	35	8,05	37
	17:00	5,63	30,7		8,02	
01/12/2013	07:00	5,87	29	35	8,05	35
	17:00	6,09	28,9		8,11	
02/12/2013	07:00	5,87	28,9	35	8,04	40
	17:00	5,85	29,2		8,02	
03/12/2013	07:00	5,8	30,1	35	8,04	38
	17:00	5,55	29,8		8,03	
04/12/2013	08:00	5,8	29	35	8,7	33
	17:00	6,01	28,8		8,2	
05/12/2013	07:00	5,82	28,7	35	8,3	40
	17:00	6,04	28,7		8,2	
PROMEDIO		5,73	29,30	35,00	8,18	37,18
DESVIACIÓN		0,25	0,93	0,00	0,16	2,79

Anexo 3. Datos de supervivencia transformados con *arco seno* \sqrt{y} .

Factor 1	Factor 2	Replicas	%Supervivencia	Arcsen Raíz(X%)
PM-I	PL7	5,00	0,050	0,226
PM-I	PL7	16,00	0,160	0,412
PM-I	PL7	7,00	0,070	0,268
PM-I	PL8	18,00	0,180	0,438
PM-I	PL8	12,00	0,120	0,354
PM-I	PL8	13,00	0,130	0,369
PM-I	PL9	38,00	0,380	0,664
PM-I	PL9	56,00	0,560	0,846
PM-I	PL9	74,00	0,740	1,036
PM-I	PL10	69,00	0,690	0,980
PM-I	PL10	55,00	0,550	0,835
PM-I	PL10	68,00	0,680	0,970
PM-I	PL11	90,00	0,900	1,249
PM-I	PL11	94,00	0,940	1,323
PM-I	PL11	90,00	0,900	1,249
PM-I	PL12	99,00	0,990	1,471
PM-I	PL12	99,00	0,990	1,471
PM-I	PL12	98,00	0,980	1,429
PM-I	PL13	95,00	0,950	1,345
PM-I	PL13	98,00	0,980	1,429
PM-I	PL13	97,00	0,970	1,397
PM-I	PL14	92,00	0,920	1,284
PM-I	PL14	95,00	0,950	1,345
PM-I	PL14	96,00	0,960	1,369
PM-I	PL15	94,00	0,940	1,323
PM-I	PL15	97,00	0,970	1,397
PM-I	PL15	97,00	0,970	1,397
PM-I	PL16	92,00	0,920	1,284
PM-I	PL16	97,00	0,970	1,397
PM-I	PL16	95,00	0,950	1,345
PM-I	PL17	100,00	1,000	1,571
PM-I	PL17	100,00	1,000	1,571
PM-I	PL17	100,00	1,000	1,571
PrMI	PL7	2,00	0,020	0,142
PrMI	PL7	2,00	0,020	0,142
PrMI	PL7	1,00	0,010	0,100

Anexo 3. (Continuación)

PrMI	PL8	13,00	0,130	0,369
PrMI	PL8	12,00	0,120	0,354
PrMI	PL8	11,00	0,110	0,338
PrMI	PL9	8,00	0,080	0,287
PrMI	PL9	16,00	0,160	0,412
PrMI	PL9	21,00	0,210	0,476
PrMI	PL10	47,00	0,470	0,755
PrMI	PL10	47,00	0,470	0,755
PrMI	PL10	20,00	0,200	0,464
PrMI	PL11	66,00	0,660	0,948
PrMI	PL11	74,00	0,740	1,036
PrMI	PL11	78,00	0,780	1,083
PrMI	PL12	96,00	0,960	1,369
PrMI	PL12	70,00	0,700	0,991
PrMI	PL12	84,00	0,840	1,159
PrMI	PL13	78,00	0,780	1,083
PrMI	PL13	75,00	0,750	1,047
PrMI	PL13	94,00	0,940	1,323
PrMI	PL14	69,00	0,690	0,980
PrMI	PL14	83,00	0,830	1,146
PrMI	PL14	80,00	0,800	1,107
PrMI	PL15	88,00	0,880	1,217
PrMI	PL15	94,00	0,940	1,323
PrMI	PL15	95,00	0,950	1,345
PrMI	PL16	76,00	0,760	1,059
PrMI	PL16	95,00	0,950	1,345
PrMI	PL16	96,00	0,960	1,369
PrMI	PL17	99,00	0,990	1,471
PrMI	PL17	99,00	0,990	1,471
PrMI	PL17	99,00	0,990	1,471
PrMF	PL7	0,00	0,000	0,000
PrMF	PL7	0,00	0,000	0,000
PrMF	PL7	0,00	0,000	0,000
PrMF	PL8	6,00	0,060	0,247
PrMF	PL8	5,00	0,050	0,226
PrMF	PL8	3,00	0,030	0,174
PrMF	PL9	5,00	0,050	0,226
PrMF	PL9	8,00	0,080	0,287
PrMF	PL9	23,00	0,230	0,500

Anexo 3. (Continuación)

PrMF	PL10	19,00	0,190	0,451
PrMF	PL10	13,00	0,130	0,369
PrMF	PL10	23,00	0,230	0,500
PrMF	PL11	44,00	0,440	0,725
PrMF	PL11	50,00	0,500	0,785
PrMF	PL11	51,00	0,510	0,795
PrMF	PL12	47,00	0,470	0,755
PrMF	PL12	54,00	0,540	0,825
PrMF	PL12	60,00	0,600	0,886
PrMF	PL13	51,00	0,510	0,795
PrMF	PL13	69,00	0,690	0,980
PrMF	PL13	68,00	0,680	0,970
PrMF	PL14	60,00	0,600	0,886
PrMF	PL14	53,00	0,530	0,815
PrMF	PL14	70,00	0,700	0,991
PrMF	PL15	75,00	0,750	1,047
PrMF	PL15	85,00	0,850	1,173
PrMF	PL15	95,00	0,950	1,345
PrMF	PL16	54,00	0,540	0,825
PrMF	PL16	77,00	0,770	1,071
PrMF	PL16	85,00	0,850	1,173
PrMF	PL17	94,00	0,940	1,323
PrMF	PL17	98,00	0,980	1,429
PrMF	PL17	97,00	0,970	1,397

Anexo 4. Supuestos Estadísticos.

Verificación de Normalidad

Prueba	Estadístico	Valor-P
Chi-Cuadrado	61,7273	0,00000697119
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0,903067	2,05636E-8
Valor-Z para asimetría	1,28235	0,199718

Verificación de Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Bartlett	2,0515	0,151936

Verificación de independencia

R-Cuadrada = 96,8807 por ciento
R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 95,3683 por ciento
Error estándar del est. = 0,097762
Error medio absoluto = 0,0584444
Estadístico Durbin-Watson = 2,51357 (P=0,2063)

Anexo 5. Análisis de Varianza para Supervivencia con la interacción entre factores.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	P-valor
Tratamientos	19,5913	32	0,612227	64,06	0,0000*
A:Factor1	2,42484	2	1,21242	126,86	0,0000*
B:Factor2	16,6876	10	1,66876	174,60	0,0000*
Interacciones AB	0,47884	20	0,023942	2,51	0,0028*
Error experimental	0,630789	66	0,0095574		
Total	20,222	98			

*Existen diferencias significativas ($p < 0,05$)