

# Estado Actual y Perspectivas de las Investigaciones Realizadas con el Camarón Blanco del Golfo de Mexico *Penaeus Setiferus*: Bases Fisiológicas y Nutricionales para su Cultivo

CARLOS ROSAS<sup>1</sup>, GABRIELA GAXIOLA,<sup>1</sup> ADOLFO SÁNCHEZ<sup>2</sup>,  
CRISTINA RE<sup>5</sup>, ADRIANA PAREDES<sup>1</sup>, CRISTINA PASCUAL<sup>1</sup>, PEDRO  
P. GALLARDO<sup>1</sup>, LUIS A. SOTO<sup>3</sup>, ELVIRA ALFONSO<sup>4</sup>, EUGENIO DÍAZ<sup>4</sup>,  
 TSAI GARCÍA<sup>4</sup> y LAIDA RAMOS<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Biología Marina Experimental, Lab. Ecofisiología, Fac. de Ciencias,  
UNAM. Apdo post 69

Cd. del Carmen, Campeche, México

<sup>2</sup>El Colegio de la Frontera Sur Unidad Campeche  
Calle 10 No.

Campeche, Camp. México

<sup>3</sup>Lab. Ecología del Bentos  
ICMyL UNAM

México 04510, D.F., México

<sup>4</sup>Centro de Investigaciones Marinas

Universidad de la Habana

Cuba, Ave. 1a.2808

Miramar, La Habana, Cuba

<sup>5</sup>Centro Regional de Investigaciones Pesqueras de Lerman, Campeche

Instituto Nacional de la Pesca

Km 5 carretera Campeche-Lerma S/N

Lerma, Campeche

Desde hace seis años el grupo de Biología Marina Experimental de la Facultad de Ciencias de la UNAM ha venido desarrollando una serie de investigaciones tendientes a cubrir algunos de los aspectos de la fisiología y la nutrición de *Penaeus setiferus* con el fin de estimular el uso de esta especie para el desarrollo de la camaronicultura de la Región. Por razones prácticas, los estudios se han dividido de acuerdo a las distintas fases del ciclo de vida de la especie. Los requerimientos de lípidos totales, el efecto del color de la luz, el efecto de la inclusión de adultos de *Artemia franciscana* y el efecto de diferentes tipos de alimento comercial sobre la maduración de las hembras de *P. setiferus* han sido determinados. Así mismo el efecto de la temperatura sobre la degeneración y la regeneración de los espermátóforos de los machos y el efecto de la electroestimulación sobre la calidad espermática han sido investigados. Un esquema de alimentación para las fases larvarias de *P. setiferus* ha sido propuesto. Este esquema incluye las concentraciones de diatomeas, flagelados, nauplios de *Artemia*, alimento microparticulado, alimento microencapsulado y quistes de

*Artemia*. Así mismo y con base en dietas purificadas, se estudiaron los requerimientos de proteínas, lípidos y carbohidratos para postlarvas. Los requerimientos de proteínas para juveniles también fueron investigados.

Aunque otros problemas han sido identificados, los síndromes de degeneración y melanización que afectan la calidad reproductiva de los machos en cautiverio aún siguen siendo los más importantes. Estos síndromes restringen fuertemente las capacidades reproductivas de los machos, haciendo complicada la obtención masiva de nauplios. La forma de atacar este problema y las investigaciones futuras son analizadas en el presente trabajo. A la fecha se pueden producir postlarvas de alta calidad y es posible engordar adecuadamente las postlarvas y los juveniles de *P. setiferus*. Otros parámetros ambientales deben ser estudiados también. La forma de enfrentarlos y el futuro de nuevas investigaciones son también abordados.

PALABRAS CLAVE: Camarones, Fisiología, Larvas, Nutrición, Reproductores, *Penaeus setiferus*,

### **Current Research and Perspectives with the White Shrimp of the Gulf of Mexico, *Penaeus Setiferus*: Physiological and Nutritional Bases for its Culture**

For six years the group of Experimental Marine Biology of the Sciences Faculty of the UNAM has developing some projects to cover some aspects of the physiology and the nourishment of the white shrimp *Penaeus setiferus* in order to stimulate the use of this species for the shrimp culture in Atlantic coast of México. For practical reasons, the studies have been divided according to the different phases of the life cycle of the species. The requirements of lipids, the effect of the color of the light, the effect of the adults of *Artemia franciscana* in the broodstock diet, and the effect of different types of commercial food on the spawning of the females of *P. setiferus* have been determined. Also the effect of the temperature on the degeneration and the regeneration of the spermatophore of the males and the effect of the electrostimulation on the spermatic quality have been investigated. A feeding schedule for the larvae culture of *P. setiferus* has been proposed. This schedule includes the concentrations of diatoms, flagellateds, artemia nauplii, microparticulated food, microencapsulated food and artemia cysts. Also and based on purified diets, were studied the protein, lipids and carbohydrates requirements for postlarvae. The protein requirements for juvenile also they were investigated.

Though other problems have been identified, the degeneration and melanization syndromes that affect the reproductive quality of the males in captivity remain as the main research problem. These syndromes restricts

strongly the reproductive capabilities of the males, making complicated the massive production of shrimp nauplii. The form of resolv this problem and the future investigations are analyzed in the present work.

To date the culture of larvae is possible to produce high-quality postlarvae, and it is possible to fatten adequately the postlarvae and the juveniles of *P. setiferus*, following the nutritional requirements. Other environmental parameter shoulds be studied also. The form of facing them and the new investigations future are also approached.

**KEY WORDS:** Broodstock, Larvae, Nutrition, Physiology, *Penaeus setiferus*, shrimp

### INTRODUCCIÓN

El camarón blanco del Golfo de México *Penaeus setiferus* es una de las especies de camarones importantes del Atlántico de América. Esta especie se distribuye desde el sur de Nueva York hasta la Península de Yucatán, en la plataforma Continental adyacente a la Laguna de Términos, Campeche (Williams, 1984).

Desde el punto de vista biológico pesquero es una de las especies mejor estudiadas debido principalmente a la importancia económica de las capturas comerciales (Nance *et al.*, 1989). Así mismo, numerosas investigaciones han sido dedicadas a los aspectos ecológicos de las postlarvas y los juveniles de esta y otras especies que, como *P. aztecus*, comparte las lagunas costeras y los estuarios del Golfo de México (para revisión véase a Minello *et al.*, 1989 ). Gracias a estos estudios se conocen muchos aspectos de la biología de la especie tales como las características morfológicas de los reproductores (King, 1948), las épocas de desove, el tipo de fecundación, las características de las larvas, los hábitos y el hábitat de las postlarvas, de los juveniles y los adultos, las migraciones de algunas de las poblaciones, y los efectos de algunas enfermedades y parásitos (para revisión véase a Muncy, 1984). En años recientes se ha puesto especial énfasis en el estudio de las condiciones asociadas con el reclutamiento de las postlarvas a las zonas de crianza y en los efectos de los factores ambientales que determinan la distribución de los camarones durante diferentes etapas de su ciclo de vida (Benfield y Aldrich, 1992 ; McTigue y Zimmerman, 1991; Wenner y Beatty, 1993).

Esta información y la experiencia generada por la industria del cultivo de camarón a nivel mundial permite ver a *P. setiferus* como una especie potencial para el desarrollo de esta actividad en el Golfo de México. Estudios recientes han demostrado que postlarvas de *P. setiferus* crecen adecuadamente en sistemas de cultivo intensivo produciendo rendimientos de entre 5 y 6 ton/ha/cosecha (Sandifer *et al.*, 1993). Aunque estos cultivos han llamado la atención con

respecto al potencial acuícola de la especie existen numerosas interrogantes referentes a las distintas etapas del sistema de producción, incluyendo la reproducción controlada, la cría de larvas que permita obtener postlarvas de alta calidad, los requerimientos nutricionales de postlarvas y juveniles, los parámetros ambientales más adecuados para el cultivo, las densidades de siembra etc., que hagan al cultivo de esta especie un sistema de producción rentable y confiable (Hopkins *et al.*, 1993; Sandifer *et al.*, 1993).

Como producto de un esfuerzo de varias instituciones, desde 1990 y hasta la fecha, nuestro grupo de trabajo ha estado realizando una serie de investigaciones tendientes a resolver algunas de las interrogantes que existen sobre el cultivo de *Penaeus setiferus* tomando en consideración los aspectos de la reproducción, cría de larvas, y cultivo de postlarvas y juveniles. Durante esta etapa se ha puesto especial énfasis a los estudios de fisiología y nutrición, parte de los cuales han sido publicados en revistas de circulación internacional (Gallardo *et al.*, 1995 ; Martínez *et al.*, 1997; Rosas, *et al.*, 1993; Rosas *et al.*, 1995a, b y c; Rosas *et al.*, 1996 a y b; Rosas *et al.*, 1997 a, b y c). El presente trabajo tiene como principal objetivo presentar un compendio de los resultados obtenidos a la fecha y mostrar las líneas de investigación que se han generado. El problema asociado con la degeneración del aparato reproductor el cual impide la producción masiva de nauplios ha sido considerado como prioritario. Por esta razón en el presente trabajo se ha puesto especial énfasis tanto en los resultados obtenidos como en las investigaciones que se han diseñado para profundizar en el conocimiento de este fenómeno.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Origen de los organismos

Para la realización del presente estudio se han utilizado reproductores capturados en la plataforma continental adyacente a la Laguna de Términos, Campeche, México, a partir de los cuales se han obtenido las larvas, postlarvas y los juveniles necesarios para el desarrollo de los experimentos. En todos los casos los reproductores han sido transportados al laboratorio en bolsas de plástico con agua de mar, atmósfera saturada de oxígeno y temperatura de 25°C. En todos los casos los reproductores se colocaron en tanques con agua de mar natural a  $35 \pm 1$  o/oo,  $\text{pH} > 8.28 \pm 2^\circ\text{C}$  y un nivel de oxígeno mayor de 6 mg/l. El agua de mar fue previamente filtrada por filtro de arena (20  $\mu\text{m}$ ) y de cartucho (5 $\mu\text{m}$ ) y recambiada a razón del 200% el volumen de los tanques/día. El fotoperiodo del área de maduración se ajustó en 14 horas de luz y 10 de obscuridad, manteniéndose un intervalo de entre 30 y 120 lux/cm<sup>2</sup>.

### Reproducción

*Requerimientos de Lípidos Totales para la maduración de las hembras de P.*

*setiferus* — Se utilizaron 40 hembras de entre 37 a 59 g de peso húmedo las cuales se distribuyeron en cuatro tanques redondos de 1,200 l, en donde permanecieron por 48 h con el fin de reducir el estrés provocado por la captura. Después de este tiempo las hembras fueron unilateralmente ablacionadas, siguiendo la técnica propuesta por Primavera (1978). Todas las hembras se encontraban inmaduras (estadio II). Las hembras se sometieron a tres niveles de lípidos y un tratamiento control. Se elaboraron dietas isoproteicas (62% de proteínas) con niveles de 12.9, 15.7 y 19.8% de lípidos. Este alimento se proporcionó a razón del 5% del peso corporal y en combinación con alimento fresco (15% del peso corporal) el cual consistió de una mezcla en partes iguales de calamar (*Loligo sp*), ostión (*Crassostrea virginica*) y oligoquetos (*Pontodrilus bermudensis*). Las dietas se elaboraron de acuerdo a Gaxiola (1991). Durante los 30 días que duró el experimento el alimento se proporcionó cuatro veces al día (08, 12, 16 y 20 h). Las heces producidas, las exubias y los factores fisicoquímicos (temperatura, salinidad, pH y Oxígeno disuelto) se registraron una vez al día. Diariamente y después de las 1900 hr se registró el estadio de maduración de las hembras siguiendo el criterio de grosor, color y forma de los ovocitos alojados a lo largo del ovario (Primavera, 1978; Ramos y González, 1983; Saldaña, 1992). Los criterios para evaluar el efecto de las dietas fueron el número de desoves/hembra/semana y la frecuencia de exubias/hembra/semana.

*Efecto de la inclusión de adultos vivos de Artemia franciscana en la alimentación de las hembras adultas en maduración de P. setiferus* — Se utilizaron 40 hembras entre 41 y 61g de peso vivo las cuales se distribuyeron en cuatro tanques redondos de 1,200 l, manteniéndose de forma similar al experimento descrito anteriormente. Todas las hembras se encontraban inmaduras (estadio II). Las hembras se sometieron a tres niveles de inclusión de adultos de *Artemia franciscana* y un tratamiento control. La biomasa de *A. franciscana* se utilizó como sustituto de alimento fresco. Los niveles de sustitución fueron de 5, 10, y 15% del alimento fresco. El alimento fresco consistió de partes iguales de calamar (*Loligo sp*), ostión (*Crassostrea virginica*) y oligoquetos (*Pontodrilus bermudensis*). La biomasa de *A. franciscana* fue obtenida al cultivar nauplios en tanques de 200 l con agua de mar natural. A los nauplios de *A. franciscana* se les proporcionó el alga *Spirulina maxima* como alimento. Los adultos fueron cosechados entre el día 11 y 15 de haberse iniciado el cultivo. Los criterios para evaluar el efecto de la inclusión de los adultos de *A. franciscana* fueron el número de desoves/hembra/semana y la frecuencia de exubias/hembra/semana. Así mismo se evaluó el índice gonadosomático, el índice hepatosomático y los niveles de lípidos totales en el hepatopáncreas, músculo, hemolinfa y gónadas (Gelabert, et al., 1998).

*Papel de la glándula digestiva en el metabolismo energético del camarón blanco Penaeus setiferus: transformaciones mecánicas y bioquímicas del alimento ingerido* — Se utilizaron treinta y nueve machos maduros ( $37.57 \pm 0.54$  g de peso vivo) de *P. setiferus* capturados en la plataforma continental adyacente a la Laguna de Términos, Campeche, México los cuales fueron aclimatados a las condiciones del laboratorio por 24 horas antes de ser expuestos a cualquier condición experimental. Los animales permanecieron en agua de mar (32‰) y en temperatura de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH mayor de 8 y un nivel de oxígeno disuelto mayor de 5 mg/l.

Para determinar el papel de la glándula digestiva en el metabolismo energético de los camarones se procedió a realizar una serie de mediciones entre las que se incluyeron el consumo de oxígeno de los animales, el consumo de oxígeno de la glándula digestiva, las variaciones de al glucosa en la hemolinfa y las variaciones del glucógeno en la glándula digestiva. Estas mediciones se realizaron tanto en animales con 24 horas de ayuno como durante los procesos involucrados en la alimentación. Para hacer esto un grupo de 12 animales fue colocado en un respirómetro de flujo en el cual se hicieron las mediciones del consumo de oxígeno tanto en ayuno como durante la alimentación. Otros 23 animales fueron mantenidos en un tanque de 1,000 l desde donde fueron muestreados. El protocolo experimental consistió en la realización de mediciones simultáneas de las variables fisiológicas y bioquímicas en ayuno (tiempo 0), y a la 1, 2, 4, 6, 8 y 24 h después de haber alimentado. Los detalles del procedimiento experimental se encuentran en Rosas *et al.*, (1995b).

*Efecto de la temperatura en la degeneración y la regeneración de los espermatozoides de los machos adultos de P. setiferus* — Los machos adultos de *P. setiferus* fueron capturados entre los meses de mayo y julio de 1994 en la zona costera adyacente a la Laguna de Términos, Campeche, México. Los camarones se trasladaron al laboratorio en bolsas de plástico con atmósfera saturada de oxígeno y a baja temperatura ( $25^\circ\text{C}$ ). En el laboratorio los animales se colocaron en un tanque de 3.65 m de diámetro el cual fue suministrado con agua de mar pasada por filtro de arena ( $20\mu\text{m}$ ) y cartucho ( $5\mu\text{m}$ ). Se proporcionó un fotoperiodo de 14 h luz y 10 h obscuridad, con un gradiente de iluminación con niveles máximos de 90-120 lux/cm<sup>2</sup>. Durante 24 h los organismos fueron alimentados a razón del 20% de la biomasa con calamar (*Loligo* sp) y oligochaeto (*Pontotrilus bermudensis*) 50:50, en 3 tomas/día (0800, 1400 y 2000 hrs).

El presente estudio se dividió en dos partes. La primera de ella se llevó a cabo para evaluar el efecto de la temperatura en el tiempo de degeneración del espermatozoide. Para esto se probó el efecto de la exposición a 26 y 30°C. Esta última fue probada en dos ocasiones 30°C (A) y 30°C (B). La temperatura de 26°C se mantuvo con un enfriador de titanio. El efecto de la temperatura sobre la

regeneración de los espermatozoides fue el objetivo del segundo experimento. Los animales fueron expuestos a 25, 30 y 33°C. Los 25°C fueron mantenidos con agua enfriada y los 33°C mediante el uso de calentadores de inmersión.

La degeneración del espermatozoide se determinó a partir de las variaciones de la calidad espermática, el índice gonadosomático (I.G.) y los cambios estructurales del aparato reproductor. Se extrajo el espermatozoide para obtener la calidad espermática, que se evaluó a través del conteo de células espermáticas y de su viabilidad. La viabilidad fue obtenida del número de células teñidas con azul de Tripán el cual se preparó con una solución salina al 8% (Betancourt-Bravo *et al.*, 1996). Las células anormales fueron reconocidas por la presencia de malformaciones de la cabeza ó la ausencia del spike (Leung-Trujillo y Lawrence, 1987).

Los muestreos para evaluar la degeneración se realizaron al tiempo 0, a los 10 días y luego cada 5 días por un periodo de 25 días. La evolución de la estructura de los tejidos se evaluó mediante histología. El aparato reproductor de los animales se dividió en tres secciones: testículos, vaso deferente y ampulla terminal. Cada sección fue procesada usando las técnicas propuestas por Bell y Lightner (1989) y teñidas con hematoxilina eosina. Se utilizaron los estados propuestos por Chamberlain *et al.* (1983) para clasificar los distintos grados de melanización observados en los camarones. El estado de melanización se clasificó de acuerdo a la coloración externa:

- i) Camarones sanos con ampullas blancas
- ii) Inicio de la infección; color café claro en algunos puntos del ampulla
- iii) Infección avanzada en el ampulla terminal; desarrollo, con color café y oscurecimiento gradual de los bordes hacia el centro a tejido totalmente oscuro y
- iv) Infección extrema caracterizada por la melanización del tracto reproductor completo incluyendo los testis.

El efecto de la temperatura sobre la regeneración se determinó en animales electroestimulados. Se utilizaron 15 camarones distribuidos al azar en tres tanques de 500 L, mantenidos en 25, 30 y 33°C. Se utilizó el mismo tipo de agua de mar que la usada en el experimento anterior. Al inicio del experimento todos los animales fueron electroeyaculados y marcados siguiendo el método descrito por Rosas *et al.* (1993). En este caso después de la estimulación se aplicó localmente una cantidad no cuantificada de eritromicina (Pfizer). La calidad espermática de estos espermatozoides fue considerada como inicial ó tiempo cero. Los camarones fueron revisados diariamente para verificar la regeneración usando como criterio las siguientes características: sin espermatozoide (1), con espermatozoide (2) y con espermatozoide maduro (3). Los camarones regenerados fueron nuevamente estimulados y colocados en su respectivo tanque. Se

evaluaron las diferentes respuestas a la electroestimulación siguiendo el criterio (Rosas et al., 1993): expulsión total, expulsión parcial y sin expulsión de una ó ambas ámpulas.

### Cría de Larvas

*Determinación del esquema de alimentación para el cultivo de larvas* — Las larvas utilizadas en el presente estudio fueron obtenidas a partir de hembras maduradas en condiciones de laboratorio e inseminadas artificialmente. Cada experimento fue desarrollado con larvas provenientes de un sólo desove. Los nauplios ( $N_{IV-V}$ ) obtenidos del tanque de eclosión fueron concentrados en un recipiente de 20 l en el cual se determinó el número de organismos. Para probar los distintos niveles de algas y nauplios de *Artemia* se utilizaron recipientes de plástico de 8 litros de capacidad. En estos recipientes, el volúmen inicial de siembra fue de 4 l, en el cual se ajustó una densidad de 100 Nauplios (N)/ml. La densidad inicial se verificó mediante 10 muestreos realizados en cada uno de los 15 tanques experimentales utilizados. Estos tanques fueron colocados en semi-obscuridad para evitar que la luminosidad pudiera alterar las densidades experimentales de algas. Durante todos los experimentos se utilizó agua de mar natural, la cual se mantuvo en  $36 \pm 1\%$ ,  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH de  $8.5 \pm 0.2$  y una concentración mayor de 5 mg  $\text{O}_2/\text{l}$ . Antes de usarse, el agua de mar se filtró con arena, filtros de cartucho (5  $\mu\text{m}$ ) y se esterilizó con luz ultravioleta. Diariamente durante el experimento se adicionó a cada tanque un litro de agua de mar para asegurar una buena calidad del agua e ir reduciendo la densidad de las larvas, la cual se mantuvo, a partir de  $M_1$  en una densidad de 50 larvas/l. Entre Mysis I ( $M_1$ ) y Postlarva 5 ( $PL_5$ ) diariamente el agua de los tanques fue cambiada parcialmente (50%).

Para determinar la concentración óptima de diatomeas las larvas de *P. setiferus* fueron alimentadas con 5 concentraciones distintas de algas (10, 20, 30, 40 y 50  $\times 10^3$  cel/ml), cada una de las cuales contó con tres repeticiones. En todos los tratamientos y entre Protozoa I ( $P_1$ ) y  $PL_1$  se mantuvieron constantes las concentraciones de *T. chuii* ( $2 \times 10^3$  cel/ml). Los nauplios de *Artemia* se proporcionaron a razón de 1 N/ml en todos los tratamientos a partir de  $M_1$  y hasta  $PL_5$ . Para determinar la concentración óptima de los flagelados las larvas fueron alimentadas con 5 niveles de *T. chuii* (0, 1, 2, 3, y 4  $\times 10^3$  cel/ml), cada una de las cuales contó con tres repeticiones. Para suministrar las diatomeas, se consideraron los resultados obtenidos en el primer experimento. Así, entre  $P_1$  y  $P_{III}$  las diatomeas se proporcionaron a razón de 30  $\times 10^3$  cel/ml, aumentándose a 40  $\times 10^3$  cel/ml entre  $M_1$  y  $PL_5$ . Nuevamente los nauplios de *Artemia* se suministraron a razón de 1 N/ml. Para conocer la concentración óptima de

nauplios de *Artemia* las larvas fueron alimentadas con 5 diferentes niveles de concentración (0.1, 0.5, 1.0, 1.5 y 2 N/ml), cada uno de los cuales contó con tres repeticiones. Las larvas utilizadas en este experimento fueron sembradas en los tanques en P<sub>III</sub> y a una densidad de 50 larvas/l. Las diatomeas se suministraron en P<sub>I-III</sub> a razón de  $30 \times 10^3$  cel/ml aumentándose a partir de M<sub>I</sub> a  $40 \times 10^3$  cel/ml. Los flagelados se mantuvieron constantes en  $2 \times 10^3$  cel/ml en el estadio de protozoa y en  $3 \times 10^3$  cel/ml en Mysis. Los detalles del cultivo de las algas utilizadas se encuentran en Gallardo *et al.*, (1995). Se utilizó el índice de desarrollo de Villegas y Kanazawa (1979), la tasa de crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{día}$ ), la sobrevivencia en PL1 y la sobrevivencia después de un cambio brusco de salinidad (IC) para determinar los niveles óptimos de concentración de algas para las larvas de *P. setiferus* (Gallardo *et al.*, 1995).

*Efecto del tipo de alimento sobre el consumo de oxígeno y la tasa de ingestión de las larvas de P. setiferus* — Así mismo se utilizaron al consumo de oxígeno y a la tasa de ingestión como indicadores del estado fisiológico y de la estrategia alimentaria de los organismos alimentados con los diferentes tipos de alimento. Se utilizó un microrespirómetro Stratkelvin 781 acoplado a un electrodo de alta sensibilidad. El consumo de oxígeno de las larvas fue medido individualmente en cámaras de 120  $\mu\text{l}$  con agua de mar filtrada y esterilizada con UV. La tasa de ingestión se determinó por diferencia entre la concentración de células antes y después de un período de alimentación de 8 horas (Rosas *et al.*, 1995a).

### **Requerimientos Nutricionales de las Postlarvas de *P. setiferus*: Requerimiento de Proteínas**

*Crecimiento y sobrevivencia* — Para esta fase del estudio se utilizaron postlarvas (PL10) (1.7 mg de peso vivo) de *P. setiferus* obtenidas de larvas provenientes de hembras desovadas en el laboratorio. Se utilizaron 600 camarones los cuales fueron distribuidos en 12 grupos de 50 animales (1.7 PL/L), al azar y en tanques de plástico de 30 l. El agua de mar fue previamente filtrada ( $5\mu\text{m}$ ) y esterilizada (UV). Durante los 20 días que duró el experimento los animales se mantuvieron entre 27 y 29°C y entre 35 y 37 ‰. Los niveles de oxígeno se mantuvieron por arriba de 5 mg/l y el pH fue mayor de 8.

El grupo de 12 tanques fue separado al azar en 4 diferentes niveles de proteína dietética de 40, 50, 60 y 65%, cada uno con tres repeticiones. La ración diaria fue proporcionada *ad libitum*, variando entre 120 y 100% de la biomasa individual por día. Las dietas fueron elaboradas con ingredientes purificados utilizando a la Caseína como fuente de proteínas. El tamaño de partícula de alimento varió entre 250 y 879  $\mu\text{m}$ . Después del periodo experimental los camarones fueron contados y pesado con el fin de determinar la sobrevivencia y el crecimiento,

respectivamente. El peso final de cada tratamiento fue comparado mediante un ANOVA de una vía con repetición, utilizando un valor de  $p < 0.05$  para diferenciar entre tratamientos. Los resultados de sobrevivencia fueron comparados también con un ANOVA el cual se aplicó sobre los datos porcentuales utilizando la transformación arc seno (Zar, 1974).

*Respuesta fisiológica : Consumo de oxígeno y excreción nitrogenada* — Una vez concluido el experimento de crecimiento un grupo de 20 PL de cada tratamiento fue separado con el fin de conocer el efecto del nivel de proteínas sobre el metabolismo nitrogenado y el metabolismo respiratorio. Los detalles de las formas en que se midió el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada de los animales se encuentran en Rosas *et al.* (1995b) y Rosas *et al.* (1996). Con los datos de las mediciones del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada se calcularon el incremento de calor aparente (ICA = calculado de la diferencia entre el consumo de oxígeno de los animales alimentados y en ayuno), la excreción nitrogenada post-alimentaria (ENPA = calculada como la diferencia entre la excreción de amonio de los animales alimentados y en ayuno), y la razón O:N (calculada de la razón atómica entre el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada en animales alimentados y en ayuno).

### **Requerimientos Nutricionales de los Juveniles de *P. setiferus*: Requerimiento de Proteínas**

*Crecimiento y sobrevivencia* — Siguiendo un protocolo similar al desarrollado con las postlarvas, se determinó el requerimiento de proteínas de los juveniles tempranos de *P. setiferus*. Para la realización de este experimento se utilizaron 225 juveniles con un peso promedio inicial de  $0.19 \pm 0.1$  g de peso vivo obtenidos de larvas provenientes de hembras desovadas en el laboratorio. Los animales se colocaron en 25 tanques de plástico de 30 L (9 animales/tanque). A cada tanque se le asignó un nivel de proteína dietética de entre los siguientes niveles: 10, 20, 30, 40 y 50%. Cada tratamiento contó con 5 repeticiones. Durante los 45 días que duró el experimento el agua de mar se mantuvo en  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , pH de  $8.5 \pm 0.1$ , salinidad de  $36 \pm 2\text{‰}$  y un nivel de oxígeno disuelto mayor de 5 mg/l. Las dietas fueron elaboradas con ingredientes purificados utilizando a la Caseína como fuente de proteínas.

El crecimiento fue evaluado a través de la variación del peso en cada tratamiento el cual fue registrado a diferentes tiempos, tanto al comienzo del experimento como a los 15, 25, 35 y 45 días. La tasa instantánea de crecimiento (G) fue definida como:

$$G = \ln (Wf/Wo)$$

donde Wf es el peso final y Wo es el peso al comienzo del experimento. El resultado de la multiplicación de la tasa de crecimiento (g peso vivo/día) por la

sobrevivencia fue usado como un indicador del rendimiento obtenido por los animales en cada condición experimental.

*Respuesta fisiológica* — Consumo de oxígeno y excreción nitrogenada. Una vez concluido el experimento de crecimiento un grupo de 15 juveniles de cada tratamiento fue separado con el fin de conocer el efecto del nivel de proteínas sobre el metabolismo nitrogenado y el metabolismo respiratorio. Se utilizó un respirómetro de flujo como el descrito en Rosas *et al.* (1995b) ajustado a cámaras de 250 ml. Con los datos de las mediciones del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada se calcularon el incremento de calor aparente (ICA = calculado de la diferencia entre el consumo de oxígeno de los animales alimentados y en ayuno), la excreción nitrogenada post-alimentaria (ENPA = calculada como la diferencia entre la excreción de amonio de los animales alimentados y en ayuno), y la razón O:N (calculada de la razón atómica entre el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada en animales alimentados y en ayuno).

#### **Efecto del Oxígeno Disuelto sobre la Fisiología Energética de Postlarvas y Juveniles de *P. setiferus***

*Nivel crítico de oxígeno para postlarvas (PL10-18) de *P. setiferus* expuestas a diferentes salinidades* — El nivel crítico de oxígeno (NCO) ha sido definido como la concentración de oxígeno a partir de la cual el consumo de oxígeno se hace dependiente de la concentración de oxígeno disuelto (OD) (Fry, 1947; Vernberg, 1983). Con el fin de conocer el NCO para postlarvas de *P. setiferus*, se diseñó un experimento en el cual se midió el consumo de oxígeno de las postlarvas en relación a una disminución del oxígeno disuelto, en cámaras respirométricas cerradas conectadas a un electrodo de alta sensibilidad. Los animales fueron expuestos a diferentes salinidades, utilizando un protocolo de aclimatación de 5 o/oo /día. Los detalles del procedimiento experimental se encuentran en Rosas *et al.* (1997a).

*Efecto del oxígeno disuelto y la salinidad sobre el consumo de oxígeno, la excreción nitrogenada y la presión osmótica de juveniles de *Penaeus setiferus** — El presente estudio fue diseñado con el fin de conocer los efectos de hipoxia prolongada sobre a) el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada, y b) el sustrato metabólico (O:N), en juveniles de *P. setiferus* expuestos a diferentes salinidades y diferentes condiciones de alimentación: ayuno de 24h y recién alimentados. Así también se corroboró la amplia capacidad osmorreguladora reportada anteriormente (MacFarland y Lee, 1963) y el efecto de la hipoxia severa sobre la capacidad osmorreguladora y el contenido de agua total de los juveniles de esta especie.

Los juveniles de *P. setiferus* utilizados en el presente estudio fueron obtenidos a partir de larvas criadas en condiciones controladas. En todos los casos las larvas fueron cultivadas en agua de mar natural con  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , salinidad de  $35 \pm 2\text{‰}$  y aireación constante. Una vez que los animales llegaron al estadio de PL<sub>15</sub> (15 días después de la última muda metamórfica) fueron distribuidos al azar en dos grandes grupos, uno de los cuales fue aclimatado a  $15\text{‰}$  y el otro se mantuvo en  $35\text{‰}$  de salinidad. La salinidad de  $15\text{‰}$  fue obtenida a partir de la dilución del agua de mar ( $36\text{‰}$ ) con agua destilada industrial. La aclimatación del primer grupo se llevó a cabo considerando un cambio gradual de  $5\text{‰}$  por día (McFarland y Lee, 1963). Una vez aclimatados los animales fueron distribuidos en tanques de plástico ( $0.28 \text{ m}^2$ ) a razón de 11 camarones/tanque (12 tanques/salinidad). Los tanques se conectaron a un sistema cerrado de flujo continuo de agua de mar ( $280 \text{ ml/min}$ ) y con aireación constante en el cual permanecieron los animales por un lapso de 60 días en distintos niveles de oxígeno disuelto. Los camarones fueron expuestos a cuatro diferentes niveles de oxígeno disuelto (OD): 2, 3, 4 y 5.8 (control) mg/l y a las dos salinidades de aclimatación. Cada nivel de OD contó con tres repeticiones. Para lograr un adecuado control de los niveles de  $\text{O}_2$  se utilizó un sistema de intercambio de gases (nitrógeno por oxígeno) similar al descrito por Seidman y Lawrence (1985) y Allan y Maguire (1991). En estas condiciones los animales permanecieron por 60 días. Durante este tiempo fueron alimentados con alimento pelletizado con 50% de proteína (PL<sub>15</sub>-PL<sub>35</sub>) y 40% de proteína (Juveniles) (Gaxiola, 1994; Rosas et al., 1995a). El consumo de oxígeno de los juveniles de *P. setiferus* ( $0.523 \pm 0.076 \text{ g ps}$ ) fue medido individualmente en un respirómetro de flujo (Martinez-Otero y Díaz-Iglesia, 1975; Rosas et al., 1995b) el cual fue conectado a una columna de intercambio de gases con el fin de controlar los niveles de OD. El flujo en el respirómetro fue de  $33 \text{ ml/min}$ . Se utilizaron 20 cámaras respirométricas de plástico de 250 ml en las cuales fueron colocados los animales 24 horas antes de realizar cualquier medición. Simultáneamente a las mediciones del consumo de oxígeno se tomaron muestras de agua a las cuales se les midió la concentración de  $\text{N-NH}_3$  mg/l. La excreción de amonio se determinó a partir de la diferencia entre la concentración de amonio a la entrada y a la salida de cada cámara y fue multiplicada por la tasa de flujo de agua. La concentración de amonio se midió con un electrodo específico conectado a un multianalizador de iones (ORION 720 A). La relación oxígeno:nitrógeno se calculó a partir de la expresión atómica del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada tanto de los animales en ayuno como en el pico de máxima actividad metabólica después de alimentarlos. El primer experimento fue diseñado con el fin de corroborar la capacidad osmorreguladora de los juveniles de *P. setiferus*, siguiendo el mismo procedimiento descrito por McFarland y Lee (1963). Un lote de 320 juveniles

fueron expuestos a cambios de la salinidad de entre 35‰ y 1‰ con intervalos de 5‰ : 160 animales (20 por cada salinidad) fueron expuestos a cambios bruscos y 160 (20 por cada salinidad) a cambios graduales de la salinidad. Posteriormente se analizó la presión osmótica de los camarones procedentes de los distintos niveles de OD y salinidad utilizados en los experimentos de consumo de oxígeno y excreción nitrogenada. En todos los casos la hemolinfa fue extraída por punción cardíaca utilizando una jeringa de insulina y sin anticoagulante. La presión osmótica de la hemolinfa fue analizada individualmente en un micro-osmómetro (20 µl/muestra) (3MO-Plus; Advanced Instruments, Inc.). El porcentaje de agua de los camarones de ambos grupos experimentales fue obtenido a partir de la diferencia entre el peso húmedo (antes de la extracción de la hemolinfa) y el peso seco. Los detalles del procedimiento experimental se encuentran en Rosas *et al.* (en prep. a).

*Efecto del oxígeno disuelto sobre el balance energético y la sobrevivencia de juveniles de Penaeus setiferus* — El presente estudio se realizó con el fin de establecer el efecto del OD sobre: a) el crecimiento y la sobrevivencia, y b) los mecanismos de regulación de los destinos de la energía asimilada a través de la evaluación de algunos de los elementos del balance energético de los camarones.

Se utilizaron 374 postlarvas de 27 días (PL27), con n peso inicial de  $35 \pm 0.006$  mg ps obtenidas a partir de un solo desove. El peso inicial de los camarones fue obtenido de una muestra de 50 postlarvas capturadas al azar del grupo de animales experimentales. Una vez determinado el peso húmedo los 50 camarones fueron sacrificados y secados hasta obtener peso constante. El resto de los animales se colocaron al azar en 24 tanques de 70 l con una superficie de 0.28 m<sup>2</sup> y a una densidad promedio de 50 animales/m<sup>2</sup> (14 animales/tanque; Martinez, *et al.*, 1997). Los camarones fueron expuestos a 4 diferentes niveles de OD de 2, 3, 4 y 5.5 mg/l. Cada concentración contó con seis repeticiones.

Se utilizó agua de mar natural previamente filtrada por arena (20µl) y filtros de cartucho (5µm). Durante el periodo experimental la temperatura del agua se mantuvo en  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , la salinidad en  $36 \pm 2$  o/oo, y el pH en  $8 \pm 1$ . Los niveles de OD se mantuvieron constantes de acuerdo con el diseño experimental durante los 50 días. La tasa de crecimiento (mg/día) fue relacionada con la sobrevivencia a través del índice de rendimiento (PI) el cual fue definido como:

$$\text{PI} = \text{WR} \times \text{S}$$

donde PI es la tasa de crecimiento en mg/día y S es el valor fraccionado de la sobrevivencia. El PI fue utilizado como un indicador productivo de las diferentes condiciones experimentales. Se utilizó el valor de  $23.96 \pm 0.72$  joules/g ps para convertir los datos de crecimiento en unidades de producción (P; joules/g ps por día).

Una vez concluido el experimento de crecimiento se procedió a determinar el efecto del OD sobre el consumo de oxígeno de *P. setiferus*. Las mediciones del

consumo de oxígeno se realizaron en 20 camarones/tratamiento provenientes del experimento de crecimiento. Los animales utilizados tenían un intervalo de peso entre 0.6 y 1.5 g ps. La energía asimilada (As) fue calculada utilizando la ecuación balanceada (j/g por día):

$$As = P + R$$

donde P es la producción de biomasa, y R la respiración (Lucas, 1993). Los detalles del procedimiento experimental se encuentran en Rosas *et al.* (en prep.).

## RESULTADOS

### Reproducción

*Requerimientos de Lípidos Totales para la maduración de las hembras de P. setiferus* — Las hembras alimentadas con los diferentes niveles de lípidos comenzaron a madurar en la segunda semana experimental. En la primera semana las hembras mudaron en todos los tratamientos. Los primeros desoves fueron observados a partir del día número 12,11, 12 y 12 para los tratamientos control, A, B y C, respectivamente. Se observó que los animales del tratamiento A (12.9% de lípidos) maduraron y desovaron con mayor frecuencia que los animales mantenidos en los demás tratamientos (Tabla 1). No se observaron diferencias significativas en la frecuencia de las hembras en los distintos tratamientos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Efecto de los niveles de lípidos dietéticos sobre la cantidad de desoves y mudas de las hembras de camarón blanco *Penaeus setiferus* parcialmente ooclectomizadas. Valores dados en Promedio  $\pm$  E.S.

Dieta	Lípidos %	Desoves Hem/Semana	Mudas Hem/Semana	N
Control	13.6	0.54 $\pm$ 0.19	0.52 $\pm$ 0.18	7
A	12.9	0.48 $\pm$ 0.18	0.62 $\pm$ 0.11	7
B	15.7	0.33 $\pm$ 0.11	0.53 $\pm$ 0.12	7
C	19.8	0.32 $\pm$ 0.15	0.55 $\pm$ 0.16	7

*Efecto de la inclusión de adultos vivos de Artemia franciscana en la alimentación de las hembras adultas en maduración de P. setiferus: a) IG, IH y Cinética de acumulación de lípidos* — Durante los 15 días en que se proporcionó la biomasa de *Artemia*, se observó que los reproductores de *P. setiferus* la aceptaron bien como alimento ya que la biomasa de *Artemia* fue consumida rápida y vorazmente. Así mismo durante los experimentos no se observó canibalismo asociado a

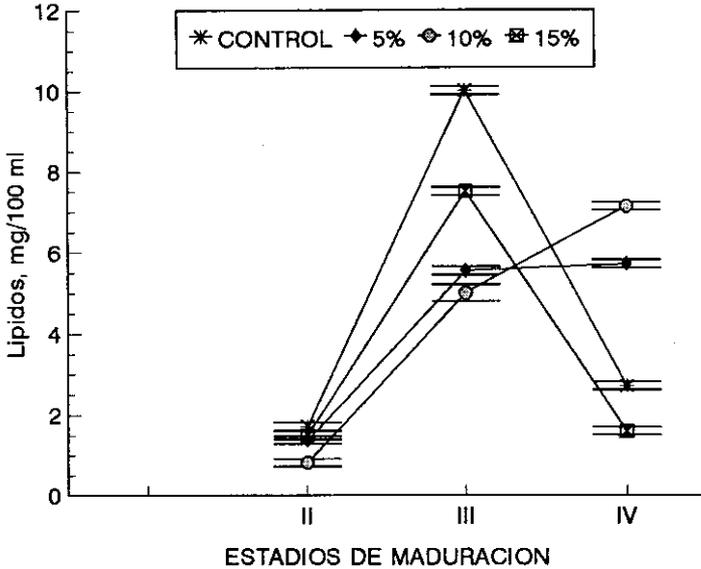
ninguno de los tratamientos experimentales, el cual pudiera ser considerado como respuesta a la falta de alimento. En los cuatro tratamientos se observó que el índice gonadosomático (IG) aumentó en relación a la maduración, con los valores más bajos en el estadio II y el más alto en el estadio IV (Tabla 2). En contraste, el índice hepatosomático (IH) mostró un incremento entre el estadio II y III para después disminuir en el estadio IV (Tabla 2). El mayor IG se observó en los animales alimentados con 15% de *Artemia* y los menores en el grupo testigo y en los alimentados con 5% de *Artemia*. Esta misma tendencia se observó con los IH (Tabla 2;  $p < 0.05$ ).

**Tabla 2.** Índices gonadosomáticos y hepatosomáticos durante la maduración de las hembras de *P. setiferus* alimentadas con diferentes proporciones de biomasa de *Artemia franciscana* adulta

Tratamiento	Estado de Maduración	Índices	
		Hepatosómico	Gonadosomático
Testigo	II	2.59	1.41
	III	4.03	5.67
	IV	3.25	7.16
5 %	II	2.62	1.39
	III	3.39	3.76
	IV	2.75	7.91
10 %	II	3.22	2.08
	III	2.00	6.64
	IV	3.99	9.35
15 %	II	10.91	2.05
	III	13.62	9.77
	IV	12.74	12.33

*Lípidos Totales en hemolinfa* — Un aumento en los lípidos en la hemolinfa fue observado entre el estadio II y III en todos los tratamientos (Figura 1). En el estadio III la mayor concentración fue observada en el grupo control seguido de 15, 5 y 10% ( $p < 0.05$ ). Mientras que en los animales del grupo control y 15% la concentración de lípidos disminuyó en el estadio IV, en los camarones alimentados con 5 y 10% los lípidos en la hemolinfa se mantuvieron constantes

(5%) ó aumentaron (10%) en los animales maduros.

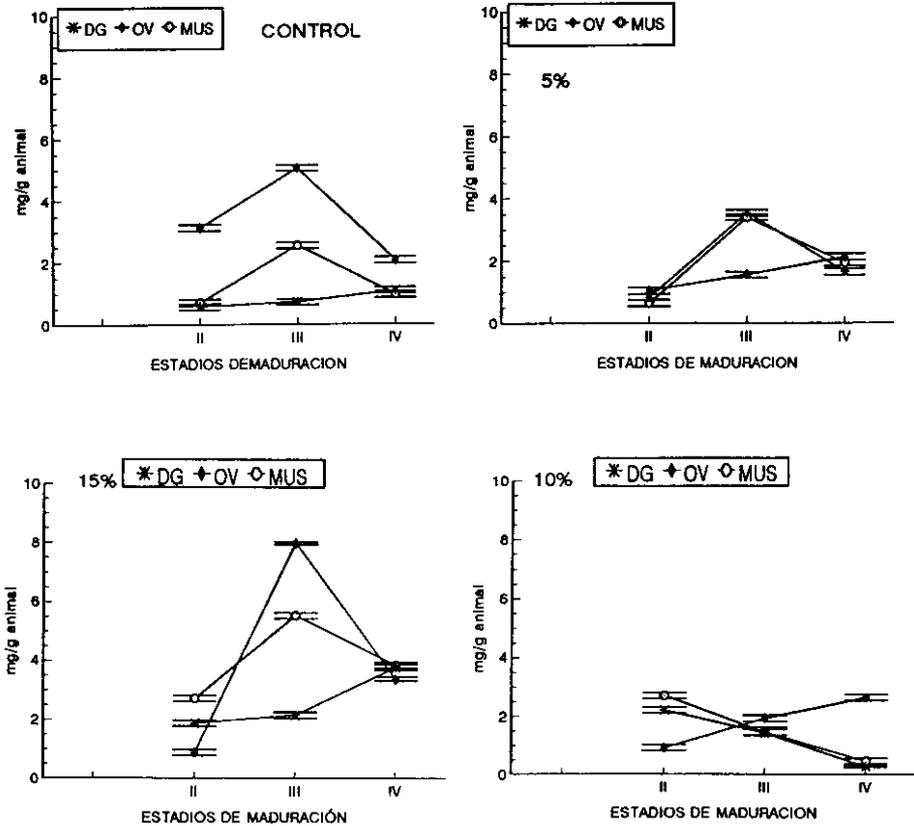


**Figura 1.** Efecto de los niveles de lípidos de la dieta en la concentración de lípidos en la hemolinfa de hembras adultas de *P. setiferus* en relación con la maduración ovárica.

*Lípidos totales en la glándula digestiva, ovarios y músculo* — En el grupo control los lípidos en la glándula digestiva se mantuvieron prácticamente constantes a lo largo de los estadios de maduración de los camarones ( $p > 0.05$ ) (Figura 2). Una concentración significativamente mayor de lípidos fue observada en los ovarios y en el músculo de los camarones en el estadio III ( $p < 0.05$ ). Se observó que los niveles de lípidos en ovarios y músculo en el estadio IV disminuyeron a valores similares a los observados en el estadio II (Figura 2). En los animales alimentados con 5% de *Artemia* los lípidos del músculo y la glándula digestiva aumentaron significativamente entre los estadios II y III ( $p < 0.05$ ). En el estadio IV estos lípidos disminuyeron en relación a los niveles observados en el estadio III. En el estadio IV las lípidos de los ovarios resultaron

ser mayores a los observados en el estadio III (Figura 2). En los animales alimentados con 10% de biomasa de *Artemia* se observó que los lípidos del ovario aumentaron en relación al cambio en los estadios del desarrollo gonadal con los valores menores en el estadio II y los mayores en el estadio IV. En contraste se observó que los lípidos de la glándula digestiva y el músculo disminuyeron en relación con el avance de los estadios de maduración con los valores más altos en el estadio II y los menores en el estadio IV (Figura 2). En los animales alimentados con 15% de biomasa de *Artemia* los lípidos del ovario aumentaron significativamente entre los estadios II y III de maduración. Valores intermedios fueron obtenidos en el estadio IV (Figura 2). Un comportamiento similar fue observado en los lípidos musculares de estos animales. Los lípidos de la glándula digestiva aumentaron en relación al desarrollo gonadal de los camarones con los valores menores en el estadio II y los mayores en el estadio IV (Figura 2). Entre tratamientos la mayor cantidad de lípidos destinados a los ovarios fue observado en los animales alimentados con 15% de biomasa de *Artemia*.

*Indicadores productivos* — En la Tabla 3 se muestra el efecto de la inclusión de la biomasa de *Artemia* sobre los indicadores productivos de la maduración de las hembras de *P. setiferus*. El mayor número de huevos/desove/hembra fueron obtenidos en el grupo testigo (146,300) y en los animales alimentados con 10% de *Artemia* (146,500). Estos valores resultaron ser estadísticamente superiores a los observados en los camarones alimentados con 15% (137,800) y con 5% (89,500) (Tabla 3). El promedio del número de desoves/hembra/mes resultó mayor en los animales alimentados con 5% de biomasa de *Artemia* (1.42) que el observado en el grupo testigo y en 15% (1.0). Un valor de 0.71 desoves/hembra/mes fue observado en los camarones alimentados con 10% de *Artemia*. El mayor número de exubias se observó en los animales alimentados con 10 y 15% (25 y 24/tratamiento, respectivamente) y el menor en los camarones alimentados con 5% de biomasa de *Artemia* (15 exubias/tratamiento). Un valor intermedio de 20 exubias/tratamiento fue observado en los camarones del grupo testigo (Tabla 3). En los cuatro tratamientos el % de hembras desovadoras fue del 57% (Tabla 3).



**Figura 2.** Efecto de los niveles de lípidos de la dieta en la concentración de lípidos la glándula digestiva (DG), ovario (OV) y músculo de hembras adultas de *P. setiferus* en relación con la maduración ovárica.

**Tabla 3.** Efecto de la inclusión de biomasa de *Artemia franciscana* adulta en los indicadores productivos de la maduración de las hembras del camarón blanco *P. setiferus*

Tratamiento	Huevos/desove	Desoves Hembra/mes	Mudas Tanque/mes	% de animales desovados
<b>Testigo</b>	146,300	1.0	20	57
±	10,240	0.06		
<b>5%</b>	89,554	1.42	15	57
±	7,164	0.11		
<b>10%</b>	146,500	0.71	25	57
±	9,522	0.05		
<b>15%</b>	137,784	1.00	24	57
±	11,022	0.08		

*Papel de la glándula digestiva en el metabolismo energético del camarón blanco Penaeus setiferus: transformaciones mecánicas y bioquímicas del alimento ingerido* — El metabolismo respiratorio y los niveles de glucosa y glucógeno en la hemolinfa cambiaron con el tiempo después de haber alimentado a los animales (Tabla 4). La tasa de consumo de oxígeno fue máxima entre 1 y 4 horas después de alimentar, que la observada en los animales en ayuno. El ICA resultó ser 8.5% de la energía ingerida en el alimento. El consumo de oxígeno regresó a sus niveles de ayuno 24 horas después de haber alimentado. El peso de la glándula digestiva aumentó después de 1 hora de 0.62 a 1.28 g de peso vivo/animal, para después disminuir gradualmente entre la 2a y 6a hora después de alimentar. El consumo de oxígeno de la glándula digestiva se mantuvo constante entre el tiempo 0 y 1 h después de alimentar, observándose un incremento gradual el cual llegó a su máximo 6 horas después de haber alimentado a los animales (Tabla 4). El consumo de oxígeno de la glándula digestiva regreso a sus valores de ayuno 8 horas después de haber alimentado a los animales. La glucosa en la hemolinfa aumentó significativamente desde la primera hora y se mantuvo sin cambios significativos por las siguientes 6 horas, pasando de 1.66 mmol/l en los animales en ayuno a 5.45 mmol/l en los animales alimentados. Después de 24 horas los niveles de glucosa regresaron a valores similares a los de ayuno (1.28 mmol/l) (Tabla 4). El glucógeno de la glándula digestiva aumentó gradualmente hasta alcanzar su nivel máximo 6 horas después de haber alimentado a los camarones. El valor máximo obtenido resultó ser 10.2 veces mayor que el registrado en los animales en ayuno (Tabla 4).

*Efecto de la temperatura en la degeneración y la regeneración de los espermatozoides de los machos adultos de P. setiferus* — Los 135 camarones utilizados fueron machos adultos de *P. setiferus* sexualmente maduros con pesos mayores de 30 g (Tabla 5). Los espermatozoides de todos los animales se encontraron en buen estado y sin necrosis ó melanización aparente.

*Degeneración del espermatozoides* — Durante el periodo experimental no se observaron cambios significativos del peso de los camarones mantenidos en 26°C ( $p > 0.05$ ). En contraste, en los camarones mantenidos en 30°C (A) y (B) el peso final fue significativamente menor al peso inicial, con una pérdida final de 12 y 7%, A y B respectivamente ( $p < 0.05$ ) (Tabla 5). En 26°C y 30°C (A) el I.G. no cambio significativamente en relación al tiempo de exposición, aunque se observó una tendencia a obtener valores menores después de los 30 días de exposición (Tabla 5). En los animales mantenidos en 30°C (B), el IG, resultó ser significativamente mayor al obtenido en los animales muestreados al inicio del experimento ( $p < 0.05$ ; Tabla 5).

**Tabla 4.** Consumo de oxígeno (VO<sub>2</sub>), concentraciones de glucosa en hemolinfa y concentraciones de glucógeno en glándula digestiva del camarón blanco *Penaeus setiferus* en relación al tiempo de alimentación. Valores como promedio ± ES entre paréntesis.

Tiempo, Horas	ANIMALES INTACTOS			GLÁNDULA DIGESTIVA		
	VO <sub>2</sub> mg O <sub>2</sub> /g psic/h	Glucosa mmol/L	Peso húmedo g	VO <sub>2</sub> mg O <sub>2</sub> /g psic/h	Glucógeno mg/100 g ph	
0	1.01	1.66	0.62	1300	1.70	
1	1.56	5.46	1.28	1310	2.08	
2	1.25	5.71	1.02	1507	4.10	
4	1.45	5.67	0.80	---	12.06	
6	1.12	5.45	0.92	2027	17.41	
8	---	---	---	1250	---	
24	0.93	1.28	0.59	---	0.74	
N por medición	6	3	3	3	3	
N Total	6	18	---	15	---	

psic= peso seco libre de cenizas, ph = peso húmedo.

**Tabla 5.** Efecto de la temperatura en el peso húmedo (g) e índice gonadosomático (%) de los machos adultos de *P. satiferus*. Valores en Promedio  $\pm$  E.S.

DIA	Temperatura					
	26°C		30°C (A)		30°C (B)	
	Peso (g)	IG	Peso (g)	IG	Peso (g)	IG
0	38.7 <sup>a</sup>	2.38 <sup>a</sup>	33.6 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	30.7 <sup>a</sup>	2.1 <sup>a</sup>
$\pm$	1.1	0.1	0.4	0.04	1.4	0.7
10	37.4 <sup>a</sup>	2.15 <sup>a</sup>	37.4 <sup>a</sup>	2.11 <sup>a</sup>	35.6 <sup>b</sup>	2.21 <sup>a</sup>
$\pm$	1.2	0.09	0.2	0.03	0.8	0.03
15	39.1 <sup>a</sup>	2.01 <sup>a</sup>	32.2 <sup>b</sup>	2.32 <sup>a</sup>	33.1 <sup>b</sup>	2.28 <sup>a</sup>
$\pm$	0.9	0.08	0.7	0.09	0.7	0.05
20	37.9 <sup>a</sup>	2.01 <sup>a</sup>	29.2 <sup>b</sup>	2.09 <sup>a</sup>	33.3 <sup>c</sup>	1.98 <sup>a</sup>
$\pm$	0.9	0.05	0.1	0.15	0.7	0.04
25	38.2 <sup>a</sup>	1.81 <sup>b</sup>	29.6 <sup>b</sup>	2.27 <sup>a</sup>	28.6 <sup>c</sup>	2.25 <sup>a</sup>
$\pm$	1.1	0.09	0.6	0.05	1.2	0.03
30	37.9 <sup>a</sup>	2.04 <sup>a</sup>	---	---	---	---
$\pm$	1.9	0.13	---	---	---	---

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos (p > 0.05)

El total de células espermáticas de los animales mantenidos en 26°C varió entre 8 y 15 millones de células/espermatóforo ( $p < 0.05$ ; Tabla 6), con valores mayores a los 15 días de iniciado el experimento. No se observaron diferencias significativas en el total de células espermáticas entre el día 15 y el día 30 (Tabla 6). Al inicio, del total de células el 98.3% correspondió a las normales y el resto a las anormales. Después de 30 días de exposición a esa temperatura el 88% de las células fueron normales y el 12% anormales. No se observaron células muertas.

La calidad espermática de los espermatóforos de los camarones expuestos a 30°C (A) disminuyó en relación al tiempo de exposición (Tabla 6), lo cual representó una reducción del 27% en el total de células espermáticas. Las células normales se redujeron en un 34% después de 25 días de exposición a esa temperatura. En contraste, las células anormales aumentaron en un 10.4% ( $p < 0.05$ ). La proporción de células muertas aumentó significativamente con valores de 0.13% al inicio a 2.4% al final del experimento ( $p < 0.05$ ). En los camarones expuestos a 30°C (B) también la cantidad espermática disminuyó en relación al tiempo de exposición (Tabla 6). Las células normales se redujeron en un 92%, mientras que las células anormales aumentaron en 6 veces. Las células muertas pasaron de 0 a 185,000 cel/espermatóforo en los 25 días que duró el experimento ( $p < 0.05$ ) (Tabla 6). La melanización fue afectada por la temperatura. En 26°C solo un animal presentó síntomas de melanización (2.5%), mientras que en 30°C A y B la melanización llegó a ser del 20 y 10% de los animales respectivamente.

*Descripción histológica* — En el análisis histológico se compararon las secciones de tejido del testículo y del ámpula terminal, de machos normales contra melanizados. La observación de las estructuras melanizadas muestra que el proceso de oscurecimiento se confinó sobre todo, a la superficie del tejido en el ámpula terminal y en los lóbulos de los testículos cuando los camarones han sido dañados. En un camarón severamente afectado, se observó el proceso de la melanización más allá de la superficie de los lóbulos, logrando distinguir deterioro en la membrana intertubular y trastornos dentro del lumen de los conductos seminíferos. La melanina se observó como gránulos pardos o café amarillosos, en la superficie del ámpula y en los lóbulos de los testículos.

*Regeneración del espermatóforo* — Al inicio del experimento se observó que la electroestimulación produjo que el 6.6% expulsara el espermatóforo totalmente, mientras que el 70% expulsó parcialmente el contenido de una o ambas ámpulas. Un 23.3% no respondió al estímulo. En los animales mantenidos en 25°C la primera regeneración en el 100% promedió 192 h. Una nueva regeneración se observó 144 h después de la segunda electroeyaculación en el 20% de los animales (Tabla 7). En 30°C se observó hasta una tercera regeneración (Tabla 7).

Tabla 6. Calidad espermática (millones de células/espermátóforo) de machos adultos de *P. setiferus* expuestos por 25 y 30 días a 26 y 30°C, respectivamente. Promedio  $\pm$  ES.

Día	Células Normales	%	Células anormales	%	Células muertas	%	Células Totales
<b>26°C</b>							
0	8.662 <sup>a</sup>	98	0.178 <sup>a</sup>	1.6	----	----	8.841 <sup>a</sup>
$\pm$	1.110		0.009				1.16
10	7.240 <sup>a</sup>	90	0.765 <sup>b</sup>	10.0	----	----	8.005 <sup>a</sup>
$\pm$	1.390		0.014				1.450
15	15.064 <sup>b</sup>	94.3	0.900 <sup>b</sup>	5.6	----	----	15.964 <sup>b</sup>
$\pm$	2.58		0.031				2.690
20	11.432 <sup>b</sup>	87.2	1.693 <sup>c</sup>	12.8	----	----	13.125 <sup>b</sup>
$\pm$	1.800		0.081				1.700
25	12.469 <sup>b</sup>	94.6	0.712 <sup>b</sup>	5.4	----	----	13.180 <sup>b</sup>
$\pm$	2.300		0.033				2.530
30	10.950 <sup>b</sup>	89.9	1.225 <sup>b</sup>	10.1	----	----	12.175 <sup>b</sup>
$\pm$	2.690		0.015				2.780

Tabla 6 (continuo)

Día	Células Normales	%	Células anormales	%	Células muertas	%	Células Totales
30°C (A)							
0	8.194a	91.8	0.696a	7.8	0.028a	0.31	8.917a
±	1.960		0.016		0.002		2.030
10	8.012a	85.8	1.325b	14.2	-----	-----	9.337a
±	1.14		0.033		----		1.200
15	2.855b	80.5	0.687a	19.4	0.003b	0.080	3.545b
±	1.180		0.039		0.0002		1.500
20	10.17a	68.9	0.300a	2.03	0.428c	2.90	14.742c
±	0.45		0.012		0.036		0.580
25	5.346a	82.7	1.047b	16.1	0.078a	1.20	6.464a
±	1.990		0.058		0.006		1.090

Tabla 6 (continuo)

Día	Células Normales	%	Células normales	%	Células anormales	%	Células Totales
<b>30°C (B)</b>							
0	2.686a	93.9	0.174a	6.1	----	----	2.860a
±	0.580		0.006				0.580
10	8.858b	93.7	0.594b	6.2	----	----	9.452c
±	2.040		0.021				2.090
15	4.331a	97.8	0.096c	2.1	----	----	4.427b
±	1.510		0.004				0.540
20	2.588a	37.0	3.544d	50.6	0.834a	12.4	6.994b
±	1.17		0.620		0.038		0.570
25	0.240c	16.3	1.045e	71.1	0.185b	12.6	1.470d
±	0.015		0.073		0.007		0.083

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )

El 75% de los camarones regeneraron por primera vez en 152 h, el 50% por segunda vez en 216 h y el 33% por tercera vez en 264 h. El tiempo de regeneración a esta temperatura fue menor al observado en los animales mantenidos en 25°C. En 33°C el 80% de los animales regeneraron por primera y única vez a las 144 h (Tabla 7). En los animales mantenidos en 25°C se observó un aumento progresivo del total de células asociado con las correspondientes regeneraciones del espermátforo (Tabla 8). Las células anormales presentaron un comportamiento irregular con los valores más altos (56%) después de la primera regeneración y los menores al inicio del experimento. Después de haber regenerado dos veces, el total de células espermáticas resultó ser 10 veces mayor (23.1 millones células/espermátforo), con el 93.8% de células normales y el 6.2% de células anormales (Tabla 8). En 30°C la cantidad de células normales aumentó en relación a las regeneraciones con valores desde 1.36 millones de células/espermátforo hasta 47.1 millones de células/espermátforo, inicio y tercera regeneración, respectivamente (Tabla 8). Se observó una reducción del 57% en la proporción de células normales entre la primera y segunda regeneración. La mayor cantidad de células anormales fue observada en la primera regeneración, las cuales representaron el 56% del total de células espermáticas (Tabla 8). En la tercera regeneración las células anormales representaron el 5.6% del total de las células espermáticas observadas. En 33°C el número de células normales se redujo de 3.82 a 0.46 millones de células/espermátforo, mientras que las células anormales aumentaron de 1 a 1.6 millones células/espermátforo. La proporción entre células normales y anormales también cambió de 79% normales y 20.4% anormales al inicio a 17.3% normales y 60.2% anormales después de la primera regeneración. El total de células espermáticas se redujo en un 45% después de la primera regeneración.

**Tabla 7.** Tiempo (h) de regeneración del espermátforo de los machos adultos de *P. setiferus* electroestimulados y expuestos a 25, 30 y 33°C.

	Temperatura					
	25°C.		30°C.		33°C.	
<b>No. de regeneraciones</b>	1	2	1	2	3	1
<b>Tiempo de regeneration (H)</b>	192	336	152	216	264	144
<b>% de animals regenerados</b>	100	20	80	20	20	80

**Tabla 8.** Efecto de la temperatura en la calidad espermática (millones de células/espermetóforo) y la frecuencia de regeneración de los machos adultos de *P. setiferus* después de la estimulación eléctrica. Promedio  $\pm$  E.S.

Temperatura	Numero de Regeneraciones	Células Normales	% Células Normales	Células Anormales	% Células Anormales	Células Totales
25°C, N = 5	Inicial	2.27 <sup>a</sup> $\pm$ 0.31	92	0.195 <sup>a</sup> 0.008	8	2.47 <sup>a</sup> $\pm$ 0.26
25°C, N = 5	1	3.86 $\pm$ 0.99 <sup>a</sup>	44	4.96 $\pm$ 0.39 <sup>b</sup>	56	8.82 $\pm$ 0.86 <sup>b</sup>
25°C, N = 1	2	21.68 <sup>b</sup>	94	1.43 <sup>c</sup>	6	23.11 <sup>c</sup>
30°C, N = 5	Inicial	1.360 $\pm$ 0.066 <sup>a</sup>	85	0.23 $\pm$ 0.009 <sup>a</sup>	15	1.59 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
30°C, N = 4	1	1.300 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup>	30	3.08 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>	70	4.38 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>
30°C, N = 1	2	4.550	74	1.58	26	6.13
30°C, N = 1	3	47.10	94	2.78	6	49.9
33°C, N = 5	Inicial	3.82 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	80	1.005 $\pm$ 0.062 <sup>a</sup>	20	4.83 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>
33°C, N = 4	1	0.46 $\pm$ 0.003 <sup>b</sup>	22	1.600 $\pm$ 0.210 <sup>b</sup>	78	2.06 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )

### **Cría de Larvas**

#### *Determinación del esquema de alimentación para el cultivo de larvas*

*(Chaetoceros\_ceratosporum): Crecimiento* — La tasa de crecimiento de P<sub>I</sub> a P<sub>III</sub> de *P. setiferus* alimentadas con *C. ceratosporum* mostró los mayores valores en 20, 30, 40 y 50 x 10<sup>3</sup> cel/ml. Entre éstos valores no se observaron diferencias significativas por lo que un valor promedio de 381 µm/día pudo ser calculado. El crecimiento observado entre los estadios de M<sub>I</sub> y M<sub>III</sub> registró sus mayores valores en 40 x 10<sup>3</sup> cel/ml (p < 0.05;). Este valor resultó ser 30% mayor que el observado en 20, 30 y 50 x 10<sup>3</sup> cel/ml. Entre P<sub>I</sub> y PL<sub>I</sub> la tasa de crecimiento máxima se obtuvo en 20, 30, 40 y 50 x 10<sup>3</sup> cel/ml los cuales resultaron ser 15% mayores que el observado en 10<sup>3</sup> cel/ml. Un valor promedio de 425 µm/día puede ser calculado como tasa de crecimiento máxima entre P<sub>I</sub> y PL<sub>I</sub> alimentadas entre 20 y 50 x 10<sup>3</sup> cel/ml.

*Sobrevivencia, Índice de Calidad (IC) e Índice de Rendimiento (IR)* — La sobrevivencia de las larvas (P<sub>I</sub> a PL<sub>I</sub>) fue afectada por la concentración de *C. ceratosporum*. Los mayores valores de sobrevivencia fueron obtenidos en 20, 30 y 40 x 10<sup>3</sup> cel/ml con un valor promedio de 59% (Tabla 9). Un valor intermedio de 44% fue observado en 10 x 10<sup>3</sup> cel/ml y uno más bajo de 25% en 50 x 10<sup>3</sup> cel/ml. Los mayores índices de calidad (IC) de las postlarvas provenientes de cada tratamiento fueron obtenidos en 30, 40 y 50 x 10<sup>3</sup> cel/ml, con un valor promedio de 94% de sobrevivencia al shock salino. En 10 y 20 x 10<sup>3</sup> cel/ml se obtuvieron los menores (IC) con valores entre 73 y 78% (Tabla 9). El índice de rendimiento (IR) permitió resumir en un sólo indicador el efecto de los tratamientos sobre las larvas de *P. setiferus* y sus consecuencias en el estadio postlarval. Como se puede apreciar en la tabla 9, los mayores valores de IR fueron obtenidos en 30 y 40 x 10<sup>3</sup> cel/ml.

*Tetraselmis chuii: Crecimiento* — El crecimiento observado entre P<sub>I</sub> y P<sub>III</sub> de *P. setiferus* alimentadas con flagelados mostró su mayor valor en 3 x 10<sup>3</sup> cel/ml (p < 0.05). Este valor fue significativamente distinto al observado en los demás tratamientos. La mayor tasa de crecimiento entre M<sub>I</sub> y M<sub>III</sub> fue observada en 4 x 10<sup>3</sup> cel/ml, seguido del crecimiento obtenido en 1 y 3 x 10<sup>3</sup> cel/ml (p < 0.05). Una tasa de crecimiento máxima entre P<sub>I</sub> y PL<sub>I</sub> fue obtenida en 3 x 10<sup>3</sup> cel/ml, la cual fue significativamente mayor que la obtenida en los demás tratamientos (p < 0.05).

*Tetraselmis chuii: Sobrevivencia, Índice de Calidad (IC) e Índice de Rendimiento (IR)* — La sobrevivencia de las larvas entre P<sub>I</sub> y PL<sub>I</sub> fue significativamente

mayor en  $3 \times 10^3$  cel/ml ( $p < 0.05$ ), con un valor que resultó ser 19% mayor que el obtenido en los demás tratamientos. El IC de las postlarvas obtenidas en cada tratamiento también presentó su mayor valor en  $3 \times 10^3$  cel/ml ( $p < 0.05$ ; Tabla 10). El IR nuevamente resumió el efecto de los tratamientos mostrando que las mejores postlarvas son obtenidas en  $3 \times 10^3$  cel/ml de *T. chuii*.

**Tabla 9.** Supervivencia, Índice de calidad e Índice de desempeño de las postlarvas (PL 1-5) de *Peneaus setiferus* alimentadas con diferentes niveles de la diatomea *Chaetoceros ceratosporum*. Promedio  $\pm$  E.S., N entre paréntesis.

	Celulas/ml x 10,000				
	10	20	30	40	50
<b>Sobrevivencia</b> (%)	44 $\pm$ 2 (3)	62 $\pm$ 4 (3)	55 $\pm$ 3 (3)	59 $\pm$ 3 (3)	25 $\pm$ 2 (3)
<b>Índice de calidad I.C.</b> (%)	78 $\pm$ 5 (180)	78 $\pm$ 5 (210)	94 $\pm$ 7 (260)	96 $\pm$ 7 (250)	93 $\pm$ 6 (90)
<b>Induce de Rendimiento</b> IR - mm/día	115.3	207.9	221.8	242.2	96.0

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )

**Tabla 10.** Supervivencia, Índice de calidad e Índice de desempeño de las postlarvas (PL 1-5) de *Peneaus setiferus* alimentadas con diferentes niveles del flagelado *Tetraselmis chuii*. Promedio  $\pm$  E.S., N entre paréntesis.

	Celulas/ml x 10,000				
	0	1	2	3	4
<b>Sobrevivencia</b> (%)	30 $\pm$ 2 (3)	35 $\pm$ 2 (3)	28 $\pm$ 2 (3)	52 $\pm$ 4 (3)	39 $\pm$ 3 (3)
<b>Índice de calidad I.C.</b> (%)	45 $\pm$ 6 (234)	51 $\pm$ 6 (154)	46 $\pm$ 6 (235)	67 $\pm$ 6 (256)	54 $\pm$ 9 (184)
<b>Induce de Rendimiento</b> IR - mm/día	47.0	60.7	41.3	123.3	67.8

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )

*Nauplios de Artemia: Crecimiento* — El crecimiento obtenido entre  $M_I$  y  $M_{III}$  no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ). Sin embargo, al hacer el cálculo de la tasa de crecimiento entre  $M_I$  y  $PL_I$  se encontró la mayor tasa en las larvas alimentadas con 1.5 y 2 naupl/ml (promedio de 438 u/día). Este valor resultó ser 17 y 25% mayor que el observado en 1.0 y 0.1 y 0.5 naupl/ml, respectivamente ( $p < 0.05$ ).

**Sobrevivencia, Índice de Calidad (IC) e Índice de Rendimiento (IR).**

La sobrevivencia entre  $M_I$  y  $PL_I$  mostró los mayores valores en 1 y 1.5 Naupl/ml (94 y 82%, respectivamente). Estos valores fueron significativamente mayores que los obtenidos en los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ; Tabla 11). La mayor resistencia al shock salino fue observada en 0.5, 1.0 y 1.5 Naupl/ml con un valor promedio de 64%. Este valor resultó ser 30 y 90% mayor que el observado en 0.1 y 2.0 Naupl/ml, respectivamente ( $p < 0.05$ ; Tabla 12). El índice de rendimiento (IR) mostró los mayores valores en 1 y 1.5 Naupl/ml los cuales resultaron ser 62, 78 y 95% mayores que los obtenidos en 0.5, 0.1 y 2 Naupl/ml ( $p < 0.05$ ; Tabla 11).

**Tabla 11.** Sobrevivencia, Índice de calidad e Índice de desempeño de las postlarvas (PL 1-5) de *Peneaus setiferus* alimentadas con diferentes niveles de Nauplios de *Artemia franciscana*. Promedio  $\pm$  E.S., N entre paréntesis.

	Nauplios/ml				
	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0
<b>Sobrevivencia (%)</b>	32 $\pm$ 2 (3)	45 $\pm$ 3 (3)	94 $\pm$ 7 (3)	82 $\pm$ 6 (3)	40 $\pm$ 3 (3)
<b>Índice de calidad I.C. (%)</b>	45 $\pm$ 8 (157)	61 $\pm$ 4 (129)	65 $\pm$ 6 (285)	65 $\pm$ 6 (141)	7 $\pm$ 0.5 (178)
<b>Índice de Rendimiento IR - mm/día</b>	49.1	86.5	222.4	235.1	12.2

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )

*Efecto del tipo de alimento sobre el consumo de oxígeno y la tasa de ingestión de las larvas de P. setiferus.* — Las variaciones del consumo de oxígeno de las larvas alimentadas en concentraciones óptimas de alimento se presenta en la

figura 3a. Como se puede apreciar el consumo de oxígeno de las larvas aumentó en relación con la edad con valores de 1  $\mu\text{g}/\text{larva}/\text{h}$  en el estadio de protozoa y ente 2 y 4  $\mu\text{g}/\text{larva}/\text{h}$  en los estadios de Mysis. La tasa de ingestión fue dependiente del tipo y concentración de alimento (Figura 3b). Se observó que las larvas ingieren 10 veces mas diatomeas que flagelados. Se observó un aumento progresivo de la tasa de ingestión de las larvas sobre las diatomeas (*C. ceratosporum*) el cual alcanzó el pico máximo en el estadio de Mysis 1. La ingestión de los flagelados también aumentó progresivamente alcanzando el pico máximo de ingestión en el estadio de Mysis 2. La ingestión de los nauplios de *Artemia* aumentó progresivamente entre Mysis 1 y Mysis 3 el cual presentó la tasa máxima. La energía metabólica, calculada a partir del equivalente energético del consumo de oxígeno expresado en relación al tiempo de permanencia de las larvas en cada sub-estadio mostró sus niveles máximos en Mysis 2 (Figura 3).

**Tabla 12.** Crecimiento y sobrevivencia de postlarvas de *P. setiferus* alimentadas con diferentes niveles de proteínas en la dieta. Promedio  $\pm$  E.S.

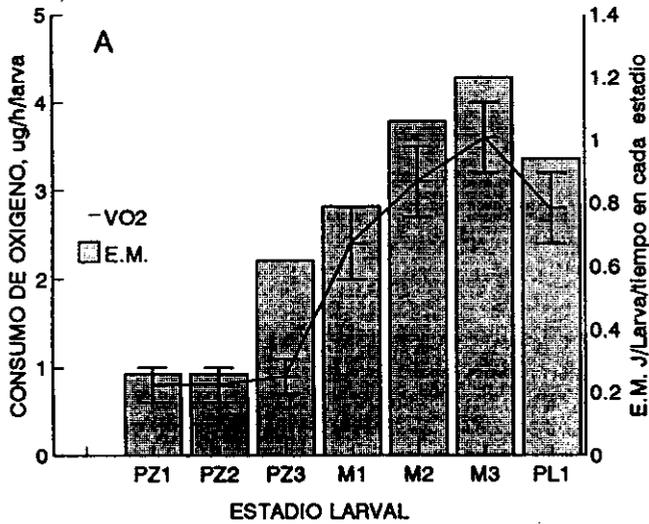
	Nivel de proteínas en la dieta			
	40%	50%	60%	65%
<b>Peso Inicial</b>	1.7	1.7	1.7	1.7
$\pm$	0.6	0.6	0/6	0.5
<b>Peso final</b>	20.60	25.56	11.20	12.61
<b>%</b>	1.64	2.30	0.90	1.38
<b>Sobrevivenia (%)</b>	82.2	97.1	36.0	43.6

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )

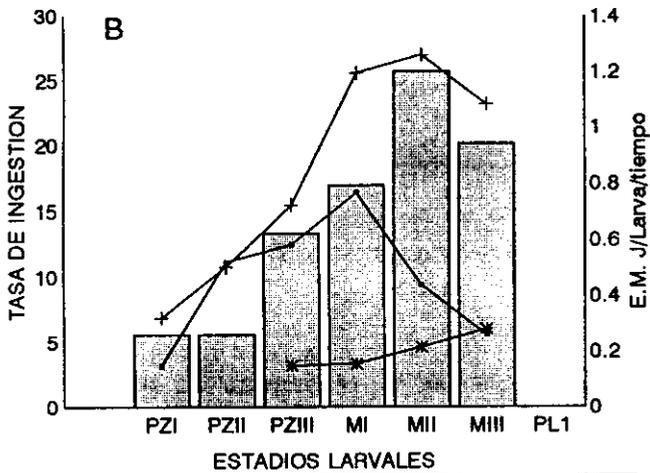
### **Requerimientos Nutricionales de las Postlarvas de *P. setiferus* : Requerimiento de Proteínas**

*Crecimiento y sobrevivencia* — En el presente estudio las proteínas de la dieta afectaron significativamente el crecimiento de los animales. La mejor sobrevivencia y crecimiento fue observada en los animales mantenidos con 50% de proteínas en la dieta. Los porcentajes de sobrevivencia presentaron dos grupos estadísticamente diferentes, uno formado por los animales mantenidos en 40 y 50% de proteínas (89.7%) y el otro por los animales alimentados con 60 y 65% de proteínas (39.9%) ( $p < 0.05$ ). La mayor peso final fue obtenido en los animales mantenidos con 50% de proteínas con valores de  $25.56 \pm 2.3$  mg de peso vivo en comparación con los mantenidos en los demás tratamientos ( $p$

<0.05) (Tabla 12).



→ A + B \* C □ E.M.



**Figura 3.** Cambios ontogénicos del consumo de oxígeno (VO<sub>2</sub>; A) y de la tasa de ingestión (B) de las larvas de *P. setiferus* en relación con la energía metabólica (EM) y los niveles de diatomeas (B<sub>A</sub>; cel/ml x 10<sup>3</sup>), Flagelados (B<sub>B</sub>; cel/ml x 10<sup>2</sup>) y nauplios de *Artemia* (B<sub>C</sub>; Nauplios/ml).

*Respuesta fisiológica : Consumo de oxígeno y excreción nitrogenada* — El ICA estuvo claramente relacionado con el nivel de proteínas. Los mayores valores fueron registrados en los animales mantenidos con niveles de proteínas de 60 y 65% y los menores en los animales alimentados con 40% (Tabla 13). La ENPA aumentó de 0.6 a 18.9 cal/g de peso seco/h, correspondiente con un aumento en las proteínas de la dieta de entre 40 y 65% (Tabla 13). La razón O:N obtenida mostró que las postlarvas

**Tabla 13.** Consumo de oxígeno y Excreción nitrogenada de postlarvas de *P. setiferus* (cal/g ph/h) alimentadas con diferentes niveles de proteína en la dieta. Promedio  $\pm$  E.S.

Proteínas %	N	AYUNO	ALIMENTADOS	
<b>Consumo de oxígeno, cal/g ph/h</b>			<b>ICA</b>	
40	8	23.2 $\pm$ 1.4	33.1 $\pm$ 2.9	9.9 $\pm$ 1.4*
50	8	21.5 $\pm$ 2.8	45.3 $\pm$ 4.6	23.8 $\pm$ 5.7
60	8	83.9 $\pm$ 7.9*	181.5 $\pm$ 17.6*	97.6 $\pm$ 7.8
65	7	61.2 $\pm$ 6.4*	153.8 $\pm$ 22.8*	92.6 $\pm$ 10.2
<b>Excrecion Nitrogenada, cal/g ph/h</b>			<b>EPNA</b>	
40	8	1.2 $\pm$ 0.1	1.8 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.08*
50	8	1.3 $\pm$ 0.1	2.4 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1*
60	8	10.7 $\pm$ 1.0*	20.4 $\pm$ 0.6*	9.7 $\pm$ 1.5*
65	7	15.1 $\pm$ 2.2*	34.0 $\pm$ 1.2*	18.9 $\pm$ 3.5*

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ). ICA= Incremento de calor aparente ; ENPA= Excreción nitrogenada post alimentaria ; ph= peso húmedo

#### **Requerimientos Nutricionales de los Juveniles de *P. setiferus*: Requerimiento de Proteínas**

*Crecimiento y sobrevivencia* — Los resultados obtenidos en este estudio indican que los juveniles de *P. setiferus* requieren niveles de proteína de 30% (Tabla 14). La tasa instantánea de crecimiento de los animales alimentados con 30% de proteínas (1.15 g/45 días) resultó significativamente mayor a la obtenida en los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ). La mayor sobrevivencia se registró en los animales alimentados con 10% de proteínas y la menor en los animales

alimentados con 50% de proteínas.

*Respuesta fisiológica: Consumo de oxígeno y excreción nitrogenada* — Se encontró que los animales alimentados con 30% de proteínas utilizaron un sustrato metabólico dirigido hacia una mezcla de lípidos y carbohidratos mientras que los animales alimentados con 10, 40 y 50% utilizaron fundamentalmente a las proteínas como sustrato energético. La razón entre la excreción nitrogenada post-alimentaria y el ICA resultó significativamente menor en los animales alimentados con 30% de proteínas en comparación con el obtenido en los animales de los demás tratamientos (Figura 4)

### **Efecto del Oxígeno Disuelto sobre la Fisiología Energética de Postlarvas y Juveniles de *P. setiferus*.**

*Nivel crítico de oxígeno para postlarvas (PL10-18) de *P. setiferus* expuestas a diferentes salinidades* — En este estudio se observó que las postlarvas de *P. setiferus* son oxireguladoras por arriba de 4.5 mg/L, dependiendo de la salinidad (Figura 5). El nivel crítico de oxígeno, definido como la concentración de oxígeno a partir de la cual el consumo de oxígeno se hace dependiente, resultó ser entre 4.5 y 5.2, con los valores menores en 5 y 15‰ y los mayores en 37‰. Por debajo del nivel crítico se observó que los camarones pueden experimentar un déficit de energía fisiológicamente útil de hasta un 26%, dependiendo de la salinidad (Tabla 15).

*Efecto del oxígeno disuelto y la salinidad sobre el consumo de oxígeno, la excreción nitrogenada y la presión osmótica de juveniles de *Penaeus setiferus*.* — La excreción de amonio de los animales alimentados y en ayuno mantenidos en 15 o‰ de salinidad disminuyó en relación con la disminución del OD (Figura 6a). La excreción nitrogenada de los animales alimentados y en ayuno mantenidos en 35 ‰ de salinidad mostró un comportamiento irregular (Figura 6b).

*Consumo de oxígeno* — El consumo de oxígeno de los animales alimentados y en ayuno mantenidos en 15 ‰ y 35‰ de salinidad disminuyó en relación con la disminución del OD (Figura 7).

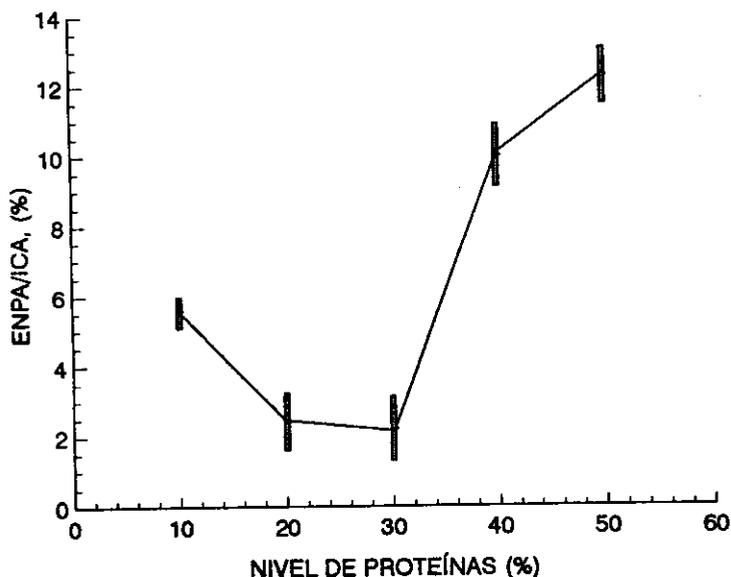
Tabla 14. Peso promedio (g) relacionado al tiempo experimental y tasa instantánea de crecimiento (G) e índice de desempeño (ID) de juveniles de *P. setiferus* alimentados por 45 días con dietas con diferentes niveles de proteína. Promedio  $\pm$  E.S.

Tiempo (Días)	Protein (%)				
	10	20	30	40	50
0	0.19 $\pm$ 0.01*	0.19 $\pm$ 0.01*	0.18 $\pm$ 0.01*	0.21 $\pm$ 0.01*	0.19 $\pm$ 0.01*
N	45	45	45	45	45
15	0.23 $\pm$ 0.02*	0.27 $\pm$ 0.02*	0.27 $\pm$ 0.02*	0.33 $\pm$ 0.02*	0.31 $\pm$ 0.02**
N	43	43	44	45	45
25	0.29 $\pm$ 0.02	0.33 $\pm$ 0.02**	0.38 $\pm$ 0.02***	0.40 $\pm$ 0.02***	0.37 $\pm$ 0.02**
N	39	41	36	38	39
35	0.30 $\pm$ 0.01*	0.36 $\pm$ 0.02**	0.40 $\pm$ 0.03**	0.40 $\pm$ 0.03**	0.40 $\pm$ 0.03**
N	36	40	33	32	32
45	0.36 $\pm$ 0.02*	0.44 $\pm$ 0.02**	0.57 $\pm$ 0.04***	0.45 $\pm$ 0.03**	0.43 $\pm$ 0.03**
N	36	32	32	29	25

Tabla 14 (continuo).

Tasa instantánea de crecimiento (G) (g/45 d/ls)					
	0.63±0.04*	0.83±0.06**	1.15±0.08***	0.76±0.05**	0.82±0.08**
N	36	32	32	29	25
Sobrevivencia (%)					
	80±4*	71±4**	71±3**	64±4****	55±3****
Indice de Rendimiento (IR) (G/45 días)					
	0.53±0.04*	0.61±0.03**	0.81±0.06***	0.48±0.04*	0.52±0.04*

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos (p > 0.05)



**Figura 4.** Efecto de los niveles de proteína de la dieta en la razón ENPA/ICA (%) de juveniles de *P. setiferus*. Las barras indican el Promedio  $\pm$  E.S.

*Razón Oxígeno-Nitrógeno* — Tanto en los animales con 24 de ayuno como en los alimentados el O:N de los camarones mantenidos en 15 o/oo de salinidad y en todos los niveles de OD se mantuvo entre 7.7 y 15.33, indicando el uso de las proteínas como sustrato energético (Figura 8a). En los animales mantenidos en 35 o/oo (Figura 8b), los valores de O:N de los animales mantenidos en 5.8, 4 y 3 mg/l OD indicaron el uso de distintas proporciones de proteínas y lípidos como sustrato energético, con los valores mayores en 4 mg/l OD (57.2 = 50% proteínas - 50% lípidos) y los menores en 3 mg/l OD (18.9 = 84% proteínas - 16% lípidos) ( $p < 0.05$ ).

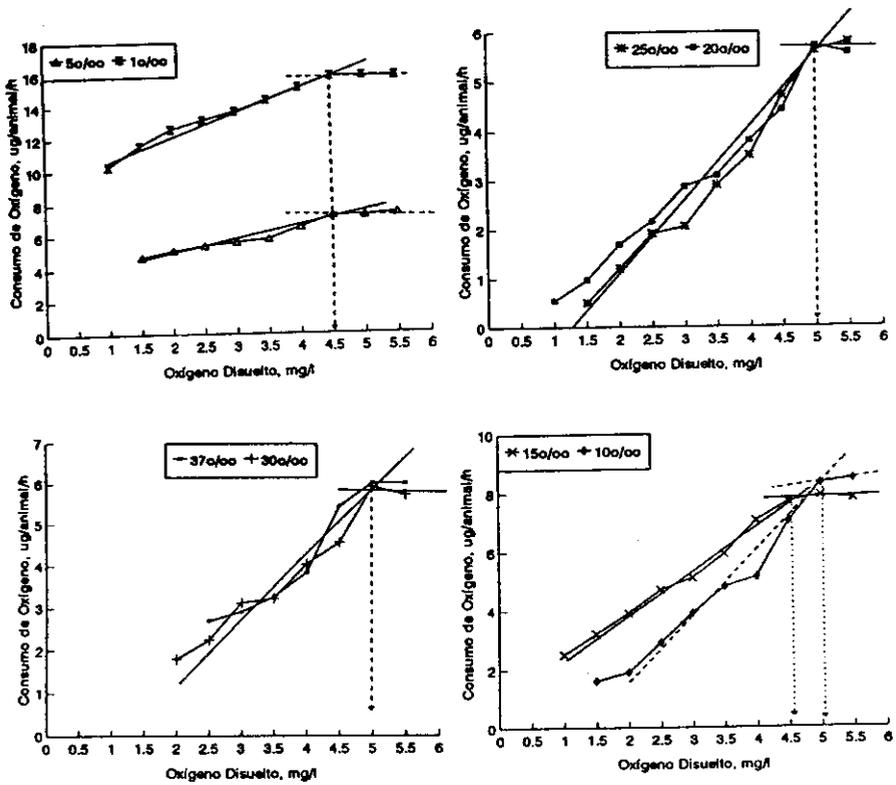
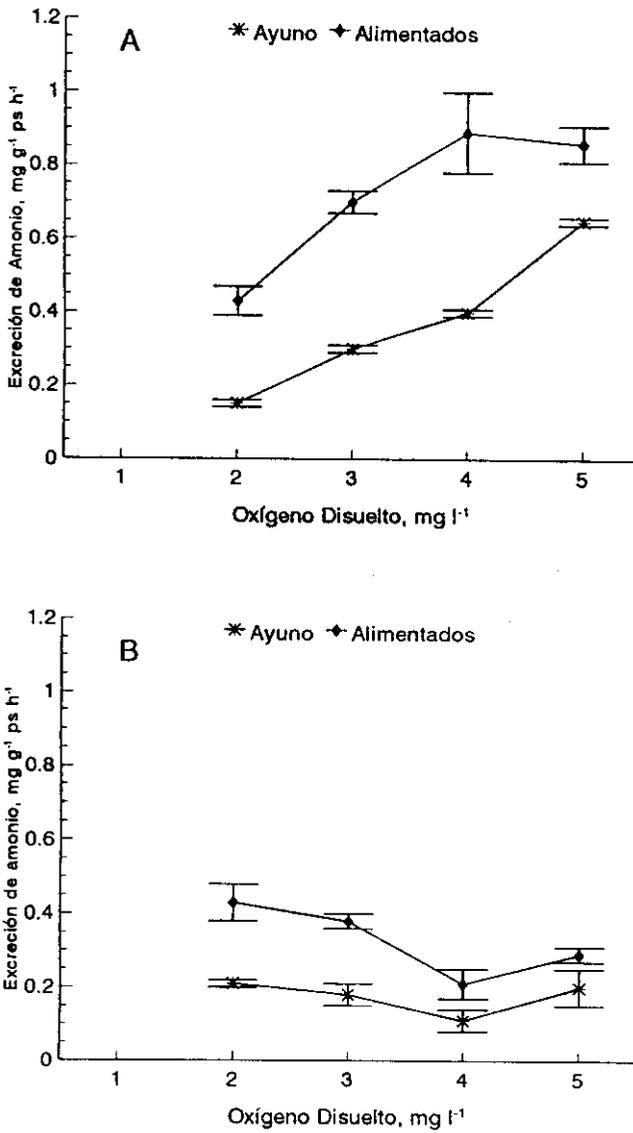
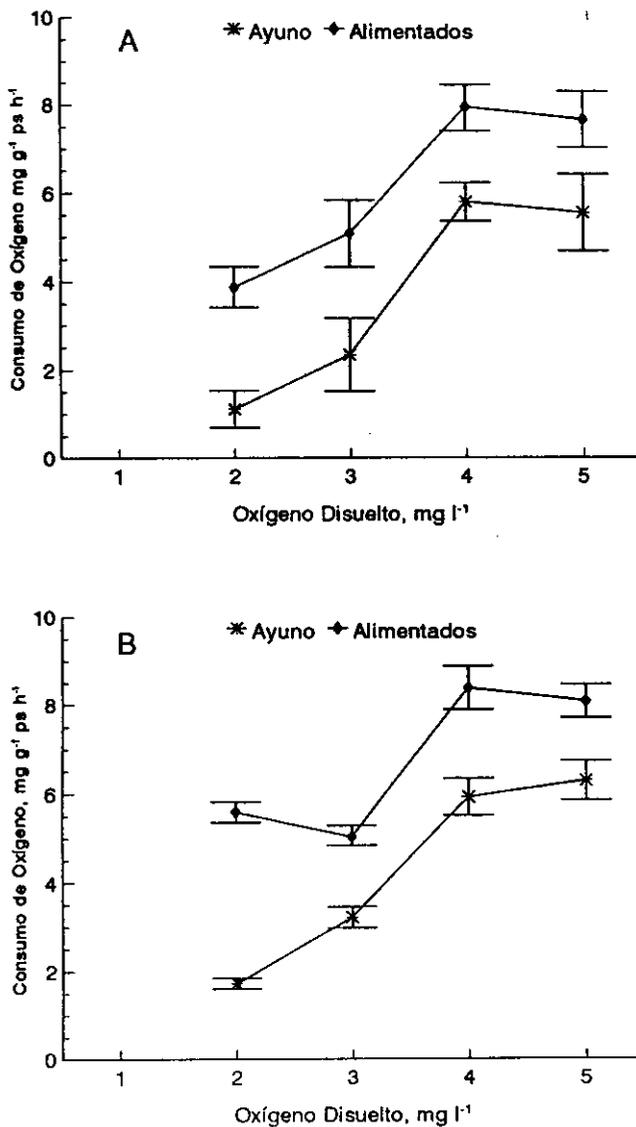


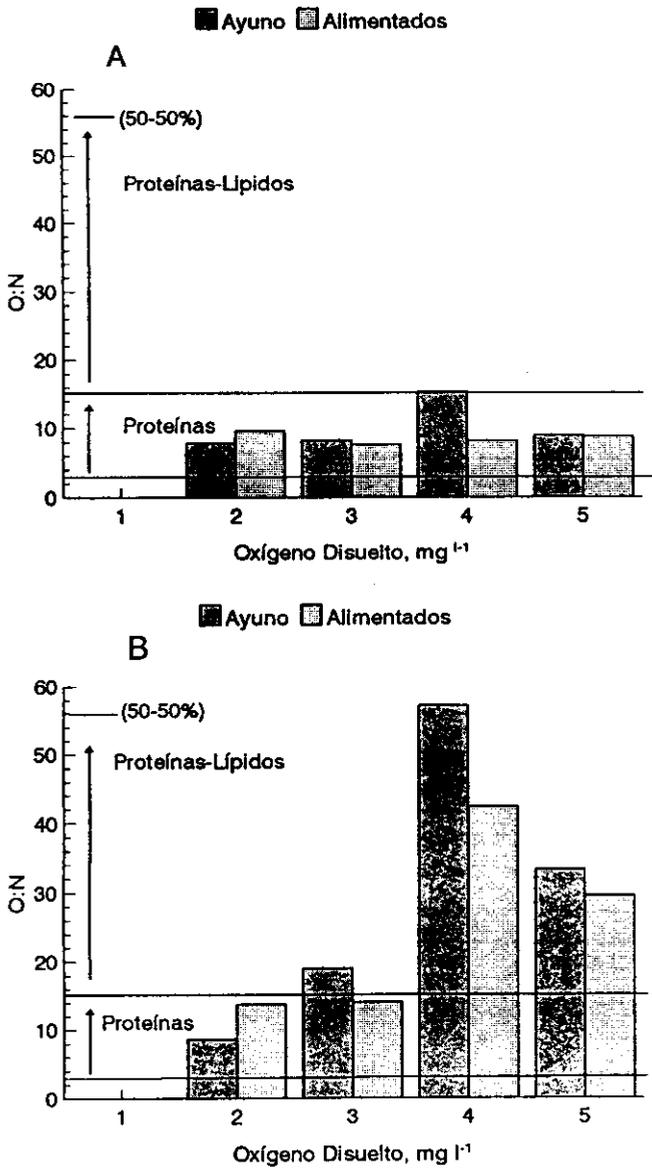
Figura 5. Consumo de oxígeno de postlarvas de *P. setiferus* en relación con el oxígeno disuelto y la salinidad. Las flechas indican el punto de intersección entre las rectas obtenidas a través de correlación en dos fases, las cuales corresponden con la concentración crítica de oxígeno.



**Figura 6.** Efecto del oxígeno disuelto sobre la excreción de amonio (A) y el consumo de oxígeno (B) de juveniles de *P. setiferus* expuestos a un ayuno de 24 h y recién alimentados y mantenidos en 35‰ de salinidad.



**Figura 7.** Efecto del oxígeno disuelto sobre la excreción de amonio (A) y el consumo de oxígeno (B) de juveniles de *P. setiferus* expuestos a un ayuno de 24 h y recién alimentados y mantenidos en 15‰ de salinidad.



**Figura 8.** Efecto del oxígeno disuelto sobre la razón O:N en juveniles de *p. setiferus* expuestos a un ayuno de 24 horas y recién alimentados y mantenidos en 15% (A) y 35% (B).

*Proporción de agua y presión osmótica* — Un aumento de la proporción de agua en los animales fue observada en relación a una disminución de la salinidad, tanto para los camarones expuestos a cambios graduales, a cambios bruscos y los provenientes de los experimentos de OD (Figura 9a). Entre 35 y 5‰ la presión osmótica de los camarones se mantuvo dentro de un intervalo relativamente estrecho y constante de 629 a 803 mOsm/kg (Figura 9b). Los animales provenientes de los experimentos de OD en ambas salinidades cayeron dentro de este intervalo con valores de 751 mOsm/kg en los camarones mantenidos en 35‰ y de 700 mOsm/kg en los camarones mantenidos en 15‰. El punto iso-osmótico de los juveniles de *P. setiferus* se localizó en 717 mOsm/kg y correspondió con una salinidad de 24‰ (Figura 9b).

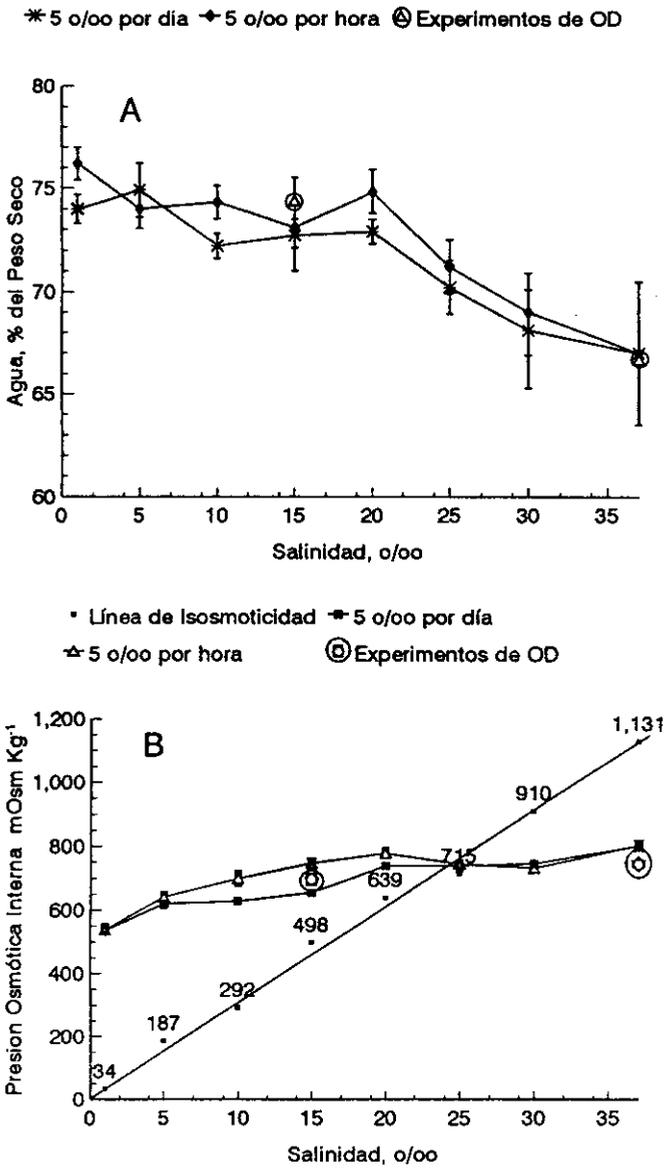
*Efecto del oxígeno disuelto sobre el balance energético y la sobrevivencia de juveniles de Penaeus setiferus: Crecimiento* — Una disminución progresiva del crecimiento (mg ps/día) fue observado con relación a una disminución del OD. La tasa de crecimiento de los animales mantenidos en 2 mg OD/l fue 32% menor a la observada en los animales mantenidos en 3 y 4 mg OD/l ( $p < 0.05$ ; Tabla 16). Una disminución del consumo de oxígeno fue observado en relación a una reducción del OD. En ayuno el consumo de oxígeno de los animales mantenidos en 2 mg OD /L resultó ser 73% menor que el obtenido en 5.8 mg/l OD ( $P < 0.05$ ).

Una reducción  $R_{rut}$  fue observada en relación con una disminución en el OD (Tabla 17). Se observó que los animales son capaces de mantener la  $R_{rut}$  constante entre 5.8 y 4 mg/l OD para luego disminuir en 3 y 2 mg/L OD.  $R_{rut}$  de los animales mantenidos en 2 mg/l OD (442.7 j/g ps por día) resultó ser 75% menor que el observado en los animales mantenidos en 4 y 5.8 mg/l OD (1746 j/g ps por día). La cantidad de energía canalizada hacia la producción (P) disminuyó en relación con una reducción del OD, con los valores mayores en los animales mantenidos en 5.8 mg/l OD y 4 mg/l OD (144.5 y 130.9 j/g ps por día, respectivamente) y los menores en los animales mantenidos en 2 mg/L OD (80.7 j/g ps por día) ( $p < 0.05$ ; Tabla 17). Como resultado de la suma entre la R y P se obtuvo la asimilación (AS). Una reducción de AS fue observada en relación con una disminución del OD (Tabla 17). Los valores obtenidos de AS en 2 mg/L OD (855.4 j/g ps por día) resultaron ser 58% menores que los obtenidos en los animales mantenidos en 5.8 mg/l OD (2044.8 j/g ps por día). Nuevamente no se encontraron diferencias significativas en la AS de los animales mantenidos entre 4 y 5.8 mg/l OD ( $p > 0.05$ ; Tabla 17).

**Tabla 15.** Efecto de la salinidad sobre el nivel crítico de oxígeno (NCO) y concentración metabólica crítica de oxígeno (CMCO), consumo de oxígeno máxima (VO<sub>2</sub>max), consumo de oxígeno crítica (COC), campo metabólico crítico (CMc) y déficit de energía DEN de postlarvas de *P. setiferus* (PL10-18). Promedio  $\pm$  E.S.

Salinidad	A		B		C=A-B	C of A		%
	NCO	CMCO	VO <sub>2</sub> max	CMmax	COC	CMc	DEN	
o/oo	mg/l	mg/l	ug/h/mg	J/día/mg	ug/h/mg	J/día/mg	J/día/mg	
37	5.2	4.5	2.52 <sup>a</sup>	0.85 <sup>a</sup>	2.28 <sup>a</sup>	0.77 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>	9.4
			$\pm 0.22$	$\pm 0.06$	$\pm 0.16$	$\pm 0.04$	$\pm 0.004$	
30	5.0	4.5	2.40 <sup>a</sup>	0.81 <sup>a</sup>	1.90 <sup>b</sup>	0.63 <sup>b</sup>	0.21 <sup>b</sup>	25.9
			$\pm 0.19$	$\pm 0.05$	$\pm 0.13$	$\pm 0.04$	$\pm 0.008$	
25	5.0	4.5	2.41 <sup>a</sup>	0.81 <sup>a</sup>	1.96 <sup>b</sup>	0.66 <sup>b</sup>	0.15 <sup>c</sup>	18.6
			$\pm 0.18$	$\pm 0.03$	$\pm 0.16$	$\pm 0.05$	$\pm 0.008$	
20	5.0	4.5	2.33 <sup>a</sup>	0.78 <sup>a</sup>	1.84 <sup>b</sup>	0.62 <sup>b</sup>	0.16 <sup>c</sup>	20.3
			$\pm 0.15$	$\pm 0.06$	$\pm 0.16$	$\pm 0.05$	$\pm 0.004$	
15	4.5	4.0	3.15 <sup>b</sup>	1.06 <sup>b</sup>	2.52 <sup>c</sup>	1.08 <sup>c</sup>	0.21 <sup>b</sup>	19.6
			$\pm 0.19$	$\pm 0.05$	$\pm 0.16$	$\pm 0.06$	$\pm 0.008$	
10	5.0	4.5	3.52 <sup>b</sup>	1.19 <sup>b</sup>	2.92 <sup>c</sup>	0.98 <sup>c</sup>	0.21 <sup>b</sup>	17.5
			$\pm 0.27$	$\pm 0.06$	$\pm 0.25$	$\pm 0.08$	$\pm 0.008$	
5	4.5	4.0	3.15 <sup>b</sup>	1.06 <sup>b</sup>	2.73 <sup>c</sup>	0.92 <sup>c</sup>	0.16 <sup>c</sup>	14.9
			$\pm 0.24$	$\pm 0.06$	$\pm 0.13$	$\pm 0.07$	$\pm 0.008$	
1	4.0	3.5	6.45 <sup>c</sup>	2.20 <sup>c</sup>	5.98 <sup>d</sup>	2.01 <sup>d</sup>	0.20 <sup>b</sup>	9.1
			$\pm 0.41$	$\pm 0.09$	$\pm 0.50$	$\pm 0.10$	$\pm 0.01$	

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )



**Figura 9.** Efecto de la salinidad en el balance hídrico (A) y la presión osmótica (B) de juveniles de *P. setiferus* aclimatados a diferentes tasas de cambio de salinidad y diferentes niveles de oxígeno disuelto.

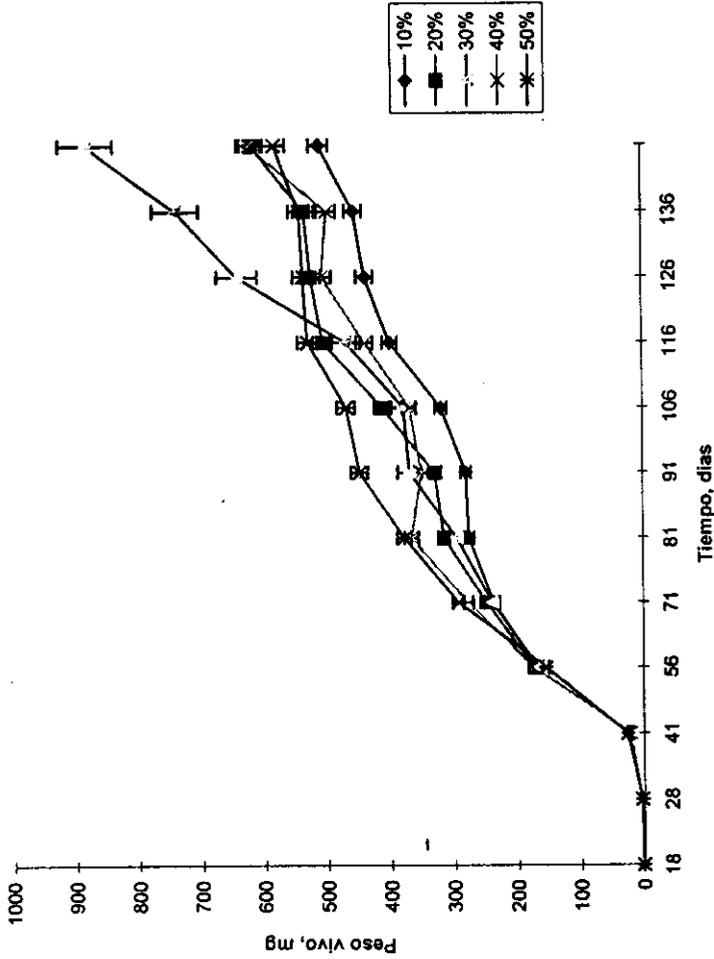


Figura 10. Efecto del nivel de proteínas de la dieta en el crecimiento de postlarvas y juveniles de *P. setiferus* en condiciones de laboratorio.

**Tabla 16.** Efecto del oxígeno disuelto en el crecimiento (mg ps/día), sobrevivencia (%) e índice de Rendimiento (IR) para juveniles de *P. setiferus* durante 50 días experimentales. OD= Oxígeno disuelto (mg/l). Promedio  $\pm$  E.S.

OD mg/L	Peso inicial mg ps	Peso Final mg ps	Tasa de crecimiento mg ps/día	Sobrevivencia (%)	ID mg ps/día
2 $\pm$	11.8 0.1	180 <sup>a</sup> 7	3.36 <sup>a</sup> 0.20	85 <sup>a</sup> 5	2.85 <sup>a</sup> 0.15
3 $\pm$	11.8 0.1	245 <sup>b</sup> 19	4.66 <sup>b</sup> 0.40	78 <sup>a</sup> 5	3.63 <sup>b</sup> 0.23
4 $\pm$	11.8 0.1	285 <sup>c</sup> 24	5.46 <sup>c</sup> 0.30	77 <sup>a</sup> 7	4.20 <sup>c</sup> 0.25
5 $\pm$	11.8 0.1	313 <sup>c</sup> 20	6.02 <sup>c</sup> 0.60	81 <sup>a</sup> 5	4.87 <sup>d</sup> 0.24

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )

**Tabla 17.** Efecto del oxígeno disuelto (OD) en el balance energético de juveniles de *P. setiferus*. Valores dados en joules/g ps por día. R = Respiración,  $R_{rut}$  = Metabolismo de Rutina,  $R_{AHI}$  = Metabolismo asociado al incremento de calor aparente, P= Producción, AS= Asimilación. Promedio  $\pm$  E.S.; AS = R + P

OD mg/l	R		P	AS
	$R_{rut}$	$R_{ICA}$		
2 $\pm$	442.7 <sup>a</sup> 30.8	332.0 <sup>a</sup> 23.1	80.7 <sup>a</sup> 4.8	855.4
3 $\pm$	920.9 <sup>b</sup> 68.6	102.6 <sup>b</sup> 7.7	111.7 <sup>b</sup> 9.6	1135.2
4 $\pm$	1693.1 <sup>c</sup> 116.8	139.4 <sup>c</sup> 9.7	130.9 <sup>c</sup> 7.2	1963.4
5 $\pm$	1798.9 <sup>c</sup> 125.7	101.4 <sup>b</sup> 7.2	144.5 <sup>c</sup> 13.4	2044.8

Valores con el mismo exponente indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )

**Tabla 18 .** Esquema de alimentación propuesto para el cultivo de larvas de *P. setiferus*.

	TIPO DE ALIMENTO			
	<i>C. ceratosporum</i>	<i>T . chuii</i>	<i>Artemia</i> nauplii	Micro particulated feed
PII	3000 x 10 cell/ml	200 x 10 cell/ml	-----	-----
PIII	4000 x 10 cell/ml	200 x 10 cell/ml	0.5 Naup/ml	-----
MI	4000 x 10 cell/ml	300 x 10 cell/ml	1.0 Naup/ml	1 mg/l
MII	4000 x 10 cell/ml	300 x 10 cell/ml	1.5 Naup/ml	1 mg/l
MIII	4000 x 10 cell/ml	300 x 10 cell/ml	1.5 Naup/ml	1 mg/l
PL1	4000 x 10 cell/ml	300 x 10 cell/ml	1.5 Naup/ml	1.5 mg/l

## DISCUSIÓN

El camarón blanco del Golfo de México es una especie que presenta buenas perspectivas para ser utilizada como base para el desarrollo de la industria camaronera en esta zona. De acuerdo con los resultados obtenidos en este y otros estudios, el cultivo larvario no presenta problemas básicos para la producción de postlarvas (Gallardo *et al.*, 1995, Rosas *et al.*, 1995a). Con un esquema basado en alimento vivo utilizando como complemento alimento microparticulado y/o microencapsulado, las larvas de *P. setiferus* presentan crecimientos, sobrevivencias y tolerancia a cambios bruscos de salinidad similares a los reportados para *P. schmitti* (Alfonso *et al.*, 1988), *P. japonicus* (Jones *et al.*, 1979) y *P. japonicus* (Tobias-Quinito y Villegas, 1982). Las concentraciones de algas y nauplios de *Artemia franciscana* propuestas como óptimas para *P. setiferus* contrastan con las cantidades de diatomeas ( $100 \times 10^3$  cel/ml), flagelados ( $50 \times 10^3$  cel/ml) y nauplios de *A. franciscana* (5 N/ml) ofrecidas a las larvas de esta especie en otros estudios los cuales han utilizado los esquemas de alimentación comúnmente usados para el cultivo de *P. monodon* (Kuban *et al.*, 1983 ; 1985 ; AQUACOP, 1986). Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que usar estas cantidades es completamente inadecuados para el cultivo de las larvas de *P. setiferus*. En la tabla 18 se presenta el esquema de alimentación para larvas de *P. setiferus* que es utilizado de manera rutinaria en nuestro laboratorio con sobrevivencias de entre 90 y 100%. Como se puede apreciar, este esquema toma en cuenta los cambios en los requerimientos de las larvas con la edad, incluyendo las concentraciones de alimento microparticulado, necesarias para obtener larvas de alta calidad. Estos resultados demuestran que, asociado con un cambio en los requerimientos nutricionales existen una serie de cambios ontogenéticos de la actividad de las enzimas digestivas, de la morfología y de la sinemática del aparato digestivo de las larvas de *P. setiferus* (Lovett y Felder, 1989, 1990a y 1990b). Los resultados del consumo de oxígeno permitieron corroborar que las larvas en estas condiciones se encuentran en un estado fisiológico óptimo (Rosas *et al.*, 1995a). *El cultivo de larvas requiere de un proceso de optimización.* El desarrollo de dietas microparticuladas que sustituyan completamente al alimento vivo es sin duda una de las líneas más importantes de investigación en este campo. Para lograra ésto será necesario conocer los requerimientos nutricionales de cada una de las fases larvarias proponiendo así formulaciones que cubran las necesidades energéticas completas.

Los requerimientos nutricionales de las postlarvas y los juveniles de *P. setiferus* cambian con la edad. En la Figura 10 se muestran los cambios de peso observados de acuerdo con los cambios en el nivel de proteínas de la dieta, desde PL18 y hasta juveniles con más de 130 días de vida. Como se puede apreciar los animales entre 3 y 500 mg de peso vivo presentaron un requerimiento de 50% mientras que los animales con pesos mayores presentaron requerimiento de 30%.

Se observó que este cambio en el requerimiento no es brusco sino que se lleva a cabo a partir de un período de transición el cual pudo observarse entre los animales de 450 y 500 mg de peso vivo. Aunque los requerimientos nutricionales de *P. setiferus* ya habían sido estudiados (Andrews *et al.*, 1972; Chen *et al.*, 1985) esta es la primera vez que se reporta cómo el requerimiento cambia con la edad, la cual está íntimamente relacionada con el peso vivo. Estos resultados pueden tener repercusiones importantes para las estrategias del cultivo de la especie. Con frecuencia los métodos de cultivo de *P. vannamei* ha sido utilizado como modelo para el cultivo de *P. setiferus*. Para *P. vannamei* se ha recomendado que un cambio de nivel de proteínas de la dieta después de que los animales rebasan 1 g de peso (AQUACOP, 1986). En el caso de *P. setiferus* es posible recomendar que este cambio de proteína dietética se haga después de que los animales han rebasado los 450 mg de peso vivo ya que cuando los animales alcanzan ese peso cambia el requerimiento proteico de 50% a 40% y posteriormente (después de 500mg) a 30% de proteínas de la dieta (Figura 10). Los resultados obtenidos del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada ponen en evidencia que los niveles óptimos de proteína promueven el uso de substratos metabólicos mezclados compuestos de proteínas y lípidos mientras que en los niveles de supra y sub óptimos los animales utilizan fundamentalmente a las proteínas como sustrato energético. En condiciones óptimas los animales aprovecharían mejor una parte de las proteínas como fuente de aminoácidos para el crecimiento, mientras que en niveles supra y sub-óptimos los camarones tenderían a crecer menos debido a la competencia que existe entre el uso de los aminoácidos como sustrato energético y como fuente de estructura para formar nuevas proteínas (Mayzaud y Conover, 1988).

El oxígeno disuelto (OD) ha sido considerado un factor limitante para el crecimiento de los animales en cultivo intensivo, debido principalmente a que el OD es esencial para los procesos metabólicos asociados con la obtención de energía. En el presente estudio se ha observado que el OD puede reducir hasta en un 26% la energía metabólica cuando las postlarvas de *P. setiferus* son expuestas a niveles menores de 4.5 mg OD/l. Así mismo se ha observado que este nivel crítico cambia con la salinidad. En un estudio reciente (Rosas *et al.*, 1997b) se ha recomendado mantener a las postlarvas de *P. setiferus* en salinidades de entre 5 y 15‰ y en niveles mayores de 4.5 mg/l con el fin de promover una eficiencia metabólica máxima.

El presente estudio permitió corroborar la amplia capacidad osmorreguladora de los juveniles de *P. setiferus* reportado anteriormente por McFarland y Lee (1963). El punto isosmótico se ubicó en 24 g/Kg de salinidad, por arriba del cual los camarones fueron hipo-osmóticos y por debajo hiperosmóticos.

En ambas salinidades el consumo de oxígeno de los camarones en ayuno y alimentados se mantuvo constante entre 4 y 5.8 mg/l O<sub>2</sub>, para después disminuir

conforme disminuyeron los niveles de OD. De acuerdo con los resultados reportados ahora las postlarvas y los juveniles de *P. setiferus* podrían ser considerados oxirreguladores limitados (Herreid, 1980).

Estos resultados demuestran que *P. setiferus*, al igual que otras especies de peneidos, son particularmente sensibles a las bajas concentraciones de oxígeno (Egusa, 1961; Liao y Chien, 1994). Esta sensibilidad probablemente esta asociada con la limitada capacidad que tienen los peneidos para utilizar el metabolismo anaerobio (Taylor y Spicer, 1987), la cual ha sido justificada a partir de los altos requerimientos de oxígeno necesarios para mantener una alta actividad muscular (Sanchez et al., 1991). Los valores de O:N obtenidos en este estudio demuestran que la salinidad puede afectar el sustrato metabólico de los camarones, promoviendo el uso de las proteínas en salinidades bajas (15‰) o de mezclas de proteínas-lípidos en salinidades altas (35‰). Asimismo los cambios en la proporción de agua en los animales y la estabilidad de la presión osmótica también demuestran que los aminoácidos pueden ser más importantes que los iones para el mantenimiento de la presión osmótica en juveniles de *P. setiferus*, tal y como fué observado por Mc Farland y Lee (1963) para la misma especie.

A partir de los resultados obtenidos en el presente estudio es posible proponer a 4 mg/l OD como nivel crítico de oxígeno para la asimilación de la energía ingerida (AS) en los juveniles de *P. setiferus*. Entre 4 y 5.8 mg/L OD, la sobrevivencia, la producción de biomasa (P), la tasa respiratoria (R) y por lo tanto la asimilación del alimento (AS) se mantuvieron constantes. Una reducción significativa de los elementos del balance energético fué observada en los animales mantenidos por debajo de este nivel de OD. Se ha observado que la capacidad oxirreguladora de *P. setiferus* pudiera estar relacionada con los mecanismos energéticos involucrados en el uso de los diferentes sustratos metabólicos disponibles en condiciones normóxicas e hipóxicas. A partir de las mediciones de la razón O:N se ha demostrado que los juveniles de esta especie son capaces de cambiar el sustrato metabólico de proteínas-lípidos, en condiciones normóxicas (5.8 a 4 mg/l OD), a principalmente proteínas, en condiciones hipóxicas (2-3 mg/l OD). Herreid (1980) ha señalado diversos mecanismos que los organismos acuáticos pueden utilizar para mantener el consumo de oxígeno cuando el OD disminuye. Los cambios en el comportamiento (evitación de condiciones hipóxicas), y los mecanismos fisiológicos (aumento de la actividad ventilatoria y de la circulación sanguínea) han sido señalados como los más importantes. Dado que los lípidos son una fuente de abastecimiento de energía de fácil acceso para el metabolismo respiratorio (Beamish y Tripple, 1992) es de suponer que los organismos los utilizarían con mayor intensidad con el fin de mantener la homeostásis. Así el mantenimiento de los sustratos mezclados lípidos-proteínas observado en los

juveniles de *P. setiferus* podría ser considerado una estrategia adaptativa para tolerar variaciones estrechas en los niveles de OD y mantener constante los procesos de producción de energía metabólica como la observada ahora.

Los juveniles de *P. setiferus* fueron capaces de mantener una producción de biomasa (P) prácticamente constante entre 5.8 y 4 mg/l OD, para luego disminuir en relación con una reducción del OD. Seidman y Lawrence (1985) observaron que el crecimiento de *P. vannamei* y *P. monodon* se mantuvo constante entre 2 y 4 mg/l OD. Esta información pone de manifiesto que los camarones del género *Penaeus* presentan mecanismos compensatorios que les permiten mantener el crecimiento independiente de las concentraciones de OD. Los resultados de las mediciones de la razón O:N podrían evidenciar que el uso de sustratos mezclados (proteínas-lípidos) forman parte de los mecanismos compensatorios desplegados por los organismos para mantener la P independiente del OD. En tales circunstancias los lípidos servirían como fuente de energía metabólica mientras que las proteínas pudieran ser utilizadas más como fuente de aminoácidos estructurales (Mayzaud y Conover, 1988). Por debajo de 4 mg/L OD el crecimiento se redujo en relación con una disminución del OD. En condiciones hipoxicas se ha observado que estos animales utilizan preferencialmente a las proteínas como sustrato energético lo cual pudiera explicar en parte la disminución de aminoácidos disponibles para la formación de nuevas proteínas y por ende una reducción en el crecimiento. Así mismo la puesta en marcha de mecanismos anaerobios (Herried, 1980; Taylor y Spicer 1987), la reducción de la producción de energía mediante el metabolismo aerobio y el aumento de los gastos asociados con el RAH<sub>1</sub> permiten comprender la depresión metabólica provocada por condiciones hipóxicas la cual ya ha sido reportada en organismos acuáticos (Guppy *et al.*, 1994). Aunque en este estudio no fue posible cuantificar la cantidad de alimento ingerido fué evidente que los animales mantenidos en hipoxia consumieron menos cantidad de alimento que los animales mantenidos en condiciones normoxicas, afectando posiblemente el crecimiento. Seidman y Lawrence (1985) también observaron una reducción de la actividad general y de la cantidad de alimento ingerido en juveniles de *P. monodon* y *P. vannamei* los cuales fueron utilizados como argumento para explicar las reducciones del crecimiento de los camarones expuestos a condiciones hipóxicas .

Para mantener un adecuado abastecimiento de postlarvas para la industria del cultivo de camarón es necesario garantizar una tasa de producción de nauplios que satisfaga la demanda creada. Para producir nauplios de alta calidad es necesario contar con animales sanos y reproductivamente aptos. Aunque a la fecha los criterios para establecer cuan apto puede ser un reproductor son ambiguos, existen indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos que permiten tomar decisiones al momento de la selección de los organismos. En el caso de las hembras estos criterios son mucho más claros que en el caso de los machos. Se

ha propuesto como criterio el que las hembras deben ser mayores de 45 g, tener todos los apéndices completos incluyendo antenas y anténulas y no presentar manchas en el exoesqueleto, producir mas de 300 mil huevos por desove y el desarrollo de un ovario cubriendo todo el cefalotórax y el abdomen así como un índice gonadosomático con valores mayores de 7. Así mismo el color naranja-rojizo del ovario en las hembras maduras de *P. vannamei* y *P. setiferus* han sido considerados como indicadores de alta calidad en la maduración de estas especies (Brody, 1945).

Con respecto a los machos, a excepción del criterio de tamaño (se ha recomendado el uso de machos mayores de 40g para *P. vannamei* ; Wyban 1987), no existen otros criterios que permitan asegurar la calidad reproductiva de los organismos. Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que la calidad espermática puede ser utilizada como un indicador de la calidad reproductiva de los machos, la cual es favorecida por temperaturas entre 24 y 27°C (Pascual *et al.*, 1997). En este estudio se observó que la temperatura juega un papel importante en la velocidad con la cual el aparato reproductor de los machos adultos de *P. setiferus* puede deteriorarse. Algunos autores han reportado que tanto el síndrome de melanización del aparato reproductor (SMAR) y el síndrome de degeneración del aparato reproductor de los machos adultos (SDARM) son el resultado del estrés inducido por el cautiverio (Alfaro and Lozano 1993; Alfaro 1990; Leung-Trujillo and Lawrence 1991). En el SMAR la melanina es producida después de una invasión bacteriana. Por otro lado el SDARM ha sido correlacionado con problemas de naturaleza endocrina los cuales se asocian con el estrés del cautiverio. La presencia de estructuras melanizadas indican la existencia de daños producidos en las estructuras quitinosas del espermátforo y el ámpula terminal. Alfaro *et al.* (1993) ha demostrado que la infección oportunista de bacterias *Vibrio alginoliticus*, *Pseudomonas putrefaciens* y otras especies no identificadas estan asociadas con el SMAR. Los resultados obtenidos en el presente estudio revelaron una estrecha correlación entre el SMAR y la temperatura. Tomando en cuenta esto es posible pensar que temperaturas mayores de 27°C reducen la eficiencia de los mecanismos de defensa contra agentes externos posiblemente modificando los mecanismos de producción de células fagocíticas (Fontaine y Laightner, 1974) o algún otro factor antibacetrrial como el de las aglutininas no específicas (Lewis y Lawrence, 1983).

El SDARM se caracteriza por una dramática disminución de la calidad espermática. Aunque sus causas aún no son claras este síndrome se ha asociado con una disminución o total desaparición de las secreciones glandulares en el ámpula terminal. Si estas secreciones son las responsables de mantener a los espermatozoides vivos (Talbot *et al.*, 1989) se pudiera pensar que las glándulas o los mecanismos hormonales responsables de la función de esas glándulas pudieran ser particularmente sensibles a temperaturas mayores de 27°C. EL

SDMAR ha sido retardado usando temperaturas menores de 27°C en este y otros estudios (Bray *et al.*, 1985). Así un intervalo de temperatura de entre 25-27°C puede ser recomendado para el mantenimiento de machos sanos en los laboratorios de producción de postlarvas de *P. setiferus* durante un periodo al menos de 30 días. Mantener a los animales en estas temperaturas así como un programa de sustitución de machos pudiera ser una alternativa para mantener una adecuada calidad reproductiva de los machos adultos de esta y otras especies (*P. vannamei*, *P. stylirostris*) las cuales experimentan también ambos síndromes (Robertson *et al.*, 1993 ; Browdy, 1992). La producción masiva de nauplios de *P. setiferus* mediante cópula natural aun no ha sido obtenido y esto se debe principalmente a que, asociado a los síndromes, los animales pierden la capacidad de cópula en condiciones del laboratorio. Recientemente Misamore y Browdy (1996) reportaron que unicamente el 27% del total de cópulas posible tubo una trasferencia exitosa del espermátforo a hembras maduras en cautiverio. Para lograr ésto los autores utilizaron una proporción de 3 hembras maduras por 20 machos.

En términos generales el cultivo de *P. setiferus* puede ser una alternativa productiva para la producción de camarón en el Atlántico Americano. Aunque diversos aspectos de la nutrición y del manejo aún son necesario investigar en la actualidad es posible producir camarones de 10 g en densidades de 60 animales/m<sup>2</sup> y con rendimientos de entre 4 y 5 Ton/ha/cosecha (Samocha *et al.*, 1989). No obstante, los esfuerzos de la investigación deberán ser dirigidos hacia la producción masiva de nauplios, resolviendo en primera instancia las preguntas relacionadas con las causas que originan el SMAR y el SDMAR. Entre estos destacan los efectos de los factores del medio tales como la salinidad, los iones disueltos y su interacción con la temperatura, los efectos de la manipulación, de la tasa de recambio de agua, el tipo, cantidad y frecuencia de alimentación, entre otros. Así mismo es necesario conocer con mayor profundidad las variaciones de los perfiles bioquímicos de las macromoléculas involucradas en la maduración gonádica de los machos, en el desarrollo de los espermias y de las sustancias que nutren y dan soporte a la masa espermática. El papel de las glándulas androgénica, supraesofágica y del seno en la espermiogénesis deberán también ser investigados con mayor profundidad con el fin de comprender las razones por las cuales se presentan ambos síndromes.

#### LITURATURA CITADA

- Alfaro, J. 1990. A contribution to the understanding and control of the male reproductive system melanization disease of broodstock *Penaeus setiferus*. Master's Thesis. Texas A & University. College Station. Texas, USA.

- Alfaro, J., A.L. Lawrence, y D. Lewis. 1993. Interaction of bacteria and male reproductive system blackening disease of captive *Penaeus setiferus*. *Aquaculture* **117**:1 - 8.
- Alfaro, J. y X. Lozano. 1993. Development and deterioration of espermatophores in pond-reared *Penaeus vannamei*. *Jour. World Aquac. Soc.* **24**(4):522 - 529.
- Alfonso, E., L., Martinez, R. Galabert, y S. Leal, 1988. Alimentación de larvas del camarón *Penaeus schmitti* I. Diatomeas y FLagelados. *Rev. Invest. Mar.*, **9**(1):47 - 58.
- Allan, G.L., y G.E., Maguire. 1991. Lethal levels of low dissolved oxygen and effects of short term oxygen stress on subsequent growth of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture* **94**:27 - 37.
- Andrews J.W., L.V. Sick, y G.J. Baptiste. 1972. The influence of dietary protein and energy level on growth and survival of penaeid shrimp. *Aquaculture* **1**:341 - 347.
- AQUACOP. 1986. Penaeid larval rearing in the Centre Océanologique du Pacifique. Pages 123 - 127 in: J.P. McVey (ed.) *Crustacean Aquaculture.: Vol I*. CRC Press, New York.
- Beamish F.W.H. y E.A. Trippel. 1990. Heat increment: A static or dynamic dimension in bioenergetic models? *Trans. Amer. Fish. Soc.* **119**:649 - 661.
- Bell, T.A. y V.D. Lightner. 1989. A handbook of normal penaeid shrimp histology. *J. World Aquaculture Soc.* **14**:128 - 133.
- Betancourt-Bravo, A., L. Ramos., A. Tamayo-Aviles., N. Caballo, U. Becquer, y M. Torres. 1996. Pruebas para evaluar el esperma en reproductores del camaron blanco *Penaeus schmitti*. *Aquatic Living Researches.* **115**(2):65 - 71.
- Benfield, M.C., y D.V. Aldrich. 1992. Attraction of postlarval *Penaeus aztecus* Ives and *P. setiferus* (L) (Crustacea :Decapoda :Penaeidae) to estuarine water in a laminar-flow choice chamber. -*Journal Experimental Marine Biology and Ecology* **156**:39 - 52.
- Bray, W.A., J.R. Leung-Trujillo, A.L. Lawrence, y S.M. Robertson. 1985. Preliminary investigation of the effects of the temperature, bacterial inoculation and EDTA on sperm quality in captive *Penaeus setiferus*. *J. World Maricul. Soc.* **16**:250 - 257.
- Brody, S. 1945. *Bioenergetics and growth*. Reinhold, New York.
- Browdy, C. 1992. A review of the reproductive biology of *Penaeus* species: perspectives on controlled shrimp maturation systems for high quality nauplii production. In: Wyban J. (ed). *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.

- Chamberlain, G.M., S.K., Johnson., y D.H. Lewis. 1983. Swelling and melanization of the male reproductive system of captive adult penaeid shrimp. *Jour. World Maricul. Soc.* **14**:135 - 136.
- Chen, H.Y., Z. Zein-Eldin y D.V. Aldrich. 1985. Combined effects of shrimp size and dietary protein source on the growth of *Penaeus setiferus* and *P. vannamei*. *Jour. World Aquac. Soc.* **16**:288 - 296.
- Egusa, S. 1961. Studies on the respiration of the "kuruma" prawn, *Penaeus japonicus* Bate. II. Preliminary experiments on its oxygen consumption. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* **27**:650 - 659.
- Fontaine, C.T. y D.V. Lightner. 1974. Observations on the phagocytosis and elimination of carmine particules injected into the abdominal musculature of the white shrimp, *Penaeus setiferus*. *J. Invertebr. Pathol.* **24**:141 - 148.
- Fry, F.E.J. 1947. Effects of the environment on animal activity. University of Toronto. Studies Biological Series 55. *Ontario Fisheries Research Lab. Pub.* **68**:1 - 45.
- Gallardo P.P., Alfonso E., Gaxiola G., Soto L.A. y C. Rosas. 1995. Feeding schedule of *Penaeus setiferus* larvae based in diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), Flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *Artemia* nauplii. *Aquaculture* **131**(3-4):239 - 253.
- Gaxiola G. 1991. Requerimientos nutricionales en postlarvas de *Penaeus schmitti*: Relacion proteina/energia y proteina animal/vegetal. M.Sc. Thesis, Universidad de la Habana, Cuba
- Gaxiola G., 1994. *Requerimientos nutricionales de postlarvas de Penaeus setiferus y P. duorarum (Crustacea, Penaeidae)*. Doctoral Thesis, Fac. de Ciencias, UNAM. 109 p.
- Galabert, R., E., Alfonso, O. Hernández, y S. Leal. 1988. Experiencias de alimentación de larvas del camarón *Penaeus schmitti* con levaduras obtenidas industrialmente. *Rev. Invest. Mar.* **9**(1):59 - 69.
- Guppy M., C.J., Fuery y J.E. Flanigan. 1994. Biochemical principles of metabolic depression. *Comp. Biochem. Physiol.* **109**(B):175 - 189.
- Herreid, C.F. 1980. Review: Hypoxia in Invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* **67**(A):311 - 320.
- Hopkins, J.S., R.D. Hamilton, P.A. Sandifer, C.L. Browdy, y A.D. Stokes. 1993. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *J. World Aqua. Soc.* **24**(3):304 - 320.
- Jones, D.A., A., Kanazawa, A., y S. Abdel-Rahman. 1979. Studies on the presentation of artificial diets for rearing the larvae of *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture*, **17**:33 - 43.
- King, J.E. 1948. A study of the reproductive organs of the common marine

- shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus). *Biological Bulletin* 94(3):244 - 262.
- Kuban, F.D., J.S. Wilkenfield, y A.L. Lawrence. 1983. Survival and growth of *Penaeus setiferus* L. and *Penaeus aztecus* Ives fed *Artemia* beginning at the protozoa two substage versus the mysis-one substage. *J. World Maricult. Soc.* 14:38 - 48.
- Kuban, F.D., A.L. Lawrence, y J.S. Wilkenfeld. 1985. Survival, metamorphosis and growth of larvae from four penaeid species fed six food combinations. *Aquaculture* 47:151 - 162.
- Leung-Trujillo, J.R., y A.L. Lawrence. 1987. Observations on the decline in sperm quality of *Penaeus setiferus* under laboratory conditions. *Aquaculture* 65:363 - 370.
- Leung-Trujillo, J.R., y A.L. Lawrence. 1991. Spermatophore generation times in *Penaeus setiferus*, *P. vannamei* and *P. stylirostris*. *Jour. World Aqua. Soc.* 22(4):244 - 251.
- Lewis, D.H., y A.L. Lawrence. 1983. Immunoprophylaxis to *Vibrio* sp. in pond reared shrimp. Proc. First International Biennial Conference on Warm Water Aquaculture - Crustacea I, 1983. Brigham Young University, Hawaii Campus. p. 304-307.
- Liao, I-C, y Chien Y-H. 1994. Culture of kuruma prawn in Asia. *World Aquacult.* 25(1):18 - 33.
- Lovett, D.L., y D.L. Felder, 1989. Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda; Penaeidae). *J. Morphol.* 201: 253 - 272.
- Lovett, D.L., y D.L. Felde. 1990a. Ontogeny of kinematics in the gut of the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda Penaeidae). *J. Crust. Biol.* 10:53 - 68.
- Lovett, D.L., y D.L. Felder. 1990b. Ontogenic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull.* 178:144 - 159.
- Lucas, A. 1993. *Bioénergétique des animaux aquatiques*. Masson , Paris, France. p. 1 - 177.
- Martinez E., M. Aguilar, L. Trejo, I. Hernández, E. Díaz-Iglesia, L.A. Soto L.A., A. Sanchez A., y C. Rosas. 1997. Lethal levels of low oxygen concentration of postlarvae and early juveniles of *Penaeus setiferus* exposed to different salinities and pH. *Jour. World Aqua. Soc.* (in press).
- Martinez-Otero A., y E. Díaz-Iglesia. 1975. Instalación respirométrica para el estudio de la acción de los agentes en el agua de mar. *Revista de Investigaciones Marinas* 8:1 - 6.
- Mayzaud, P., y R.J. Conover. 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 45:289 - 302.

- McTigue, T.A. y R.J. Zimmerman. 1991. Carnivory versus herbivory in juvenile *Penaeus setiferus* (Linnaeus) and *Penaeus aztecus* (Ives). *Jour.Exp. Mar. Biol. Ecol.* 15:1 - 6.
- McFarland, W.N., y B.D. Lee. 1963. Osmotic and ionic concentrations of shrimp of the Texas *Coastal Bulletin of Marine Sciences* 13:391 - 416.
- Minello, T.J., R.J. Zimmerman y E.X. Martinez. 1989. Mortality of young brown shrimp *Penaeus aztecus* in estuarine nurseries. *Transa. Amer. Fishe. Soc.* 118:693 - 708.
- Minello, T.J., J.W. Webb, R.J. Zimmerman, R.B. Wooten, J.L. Martinez, T.J. Baumer y M.C. Pattillo. 1991. *Habitat availability and utilization by benthos and nekton in Hall's Lake and west Galveston Bay*. NOAA Technical Memorandum NMF-SEFC-275:1 - 35.
- Misamore M.J., y C.L. Browdy. 1996. Mating behaviour in the white shrimps *Penaeus setiferus* and *P. vannamei*: a generalized model for mating in *Penaeus*. *J. Crust. Biol.* 16:61 - 70.
- Muncy, R.J. 1984. *Species profile life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (South Atlantic)—white shrimp*. U.S. Fish Wildlife Service. FWS/OBS-82/11.27. U.S. Army Corps of Engineers, TR EL-82-4. 19p.
- Nance, J.M., E.F. Klima y T.C. Czaplá. 1989. *Gulf of México shrimp stock assessment workshop*. NOAA Technical memorandum, NMFS-SEFC-239.
- Pascual C., Valera E., Re-Regis C., Gaxiola G., Sánchez A., Ramos L., Soto L.A., y Rosas C. 1997. Effects of temperature on reproductive tract condition of *Penaeus setiferus* adult males. *Jour. World Aqua. Soc.* (en prensa).
- Primavera, J.H. 1978. Induced maturation and spawning in five month-old *Penaeus monodon* Fabricius by eyestalk ablation. *Aquaculture* 13:355 - 359.
- Ramos L. y A.G., González. 1983. Inducción artificial a la maduración gonadal en hembras de *Penaeus notialis* (Perez Farfante, 1967). *Rev. Invest. Mar.* 5:49 - 56.
- Robertson, L., B. Bray, T. Samocha., y A.L. Lawrence. 1993. Reproduction of Penaeid Shrimp. Pages 107 - 132 in: Mc Vey J.P. (ed). *Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture* CRC Press.
- Rosas C., A. Sanchez, M.E. Chimal, G. Saldaña, L. Ramos, y L.A. Soto. 1993. The effect of electrical stimulation on spermatophore regeneration in white shrimp *Penaeus setiferus*. *Aquat. Living Resources.* 6:139 - 144.
- Rosas C., A. Sanchez, P.P. Gallardo, G. Gaxiola, E. Díaz y L.A. Soto. 1995a.

- Oxygen consumption and ingestion rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and *Artemia* nauplii. *Aquaculture Nutrition* 1(1):13 - 20.
- Rosas C., Bolgaro-Crevenna A., A. Sanchez, G. Gaxiola L.A. Soto y E. Escobar. 1995b. Role of digestive gland in the energetic metabolism of *Penaeus setiferus*. *Biol. Bull.* 189:168 - 174.
- Rosas C., A. Sanchez A., E. Díaz E., L.A. Soto, G. Gaxiola , R. Brito, M.I. Baes, y R. Pedroza R. 1995c. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effects of protein level on substrate metabolism. *Aquatic Living Resources* 8:161 - 169.
- Rosas C., A. Sanchez, E. Díaz , G. Gaxiola , y R. Brito. 1996. Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae. *Jour. World Aqua. Soc.* 27(1):92 - 102
- Rosas C., A. Sanchez, R. Brito, E. Díaz Iglesia E., and L.A. Soto. 1997a. Critical dissolved oxygen level to *Penaeus setiferus* and *P. schmitti* postlarvae (PL<sub>10-18</sub>) exposed to salinity changes. *Aquaculture*. 152:259 - 272.
- Rosas C., E. Martinez E., L. Trejo, M. Aguilar y E. Díaz E. 1997b. Effect of dissolved oxygen level on *Penaeus setiferus* postlarvae and juveniles exposed to a different salinities and pH. *Jour. World Aqua. Soc.* (en prensa).
- Saldaña, F.G. 1992. Aspectos de la maduración y calidad reproductora de *Penaeus setiferus* en condiciones controladas en Tuxpan, Veracruz. Tesis de Maestría facultad de Ciencias, UNAM. 65 p.
- Samocha, T.M., N. Uziel, y C.L. Browdy. 1989. The effect of feeding two prey organisms, nauplii of *Artemia* and rotifers, *Brachionus plicatilis* (Muller), upon survival and growth of larval marine shrimp *Penaeus semisulcatus* (deHaan). *Aquaculture* 77:11 - 19.
- Sandifer P.A., J. S. Hopkins, A.D. Stokes y C.L. Browdy. 1993. Preliminary comparisons of the native *Penaeus setiferus* white shrimp for pond culture in South Carolina, USA. *Journal of the World Aquaculture Society* 24(3):295 - 303.
- Sanchez, A., C. Rosas, E. Escobar, y L.A. Soto. 1991. Skeleton weight free oxygen consumption related to adaptations to environment and habits of six crustacean species. *Comp. Biochem. Physio.* 100(A):69 - 73.
- Seidman, E.R., y A.L. Lawrence. 1985. Growth, feed digestibility, and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels. *J. World Maricul. Soc.* 16:333 - 346.

- Talbot, P., D. Howard, J. Leung-Trujillo, T.W. Lee, W.Y. Li, H. Ro, y A.L. Lawrence. 1989. Characterization of male reproductive tract degenerative syndrome in captive penaeid shrimp (*Penaeus setiferus*). *Aquaculture*. **78**:365 - 377.
- Taylor A.C., y J.I. Spicer. 1987. Metabolic responses of the prawns *Palaemon elegans* and *P. serratus* (Crustacea: Decapoda) to acute hypoxia and anoxia. *Mar. Biol.* **95**:521 - 530.
- Tobias-Quinitio, E. y C.T. Villegas. 1982. Growth, survival and macronutrient composition of *Penaeus monodon* Fabricius larvae fed with *Chaetoceros calcitrans* and *Tetraselmis chuii*. *Aquaculture* **29**:253 - 260.
- Vernberg, F.J. 1983. Benthic Macrofauna. Pages 179 - 229 in: F.J. Vernberg and W.B. Vernberg (eds.) *Functional adaptations of Marine Organisms*. Academic Press, New York, New York.
- Villegas, D.K. y A. Kanazawa. 1979. Relationship between diet composition and growth of the zoeal and mysis stages of *Penaeus japonicus* Bate. *Fish. Res. J. Philipp.* **4**(2):32 - 40.
- Wenner E.L. y H.R. Beatty. 1993. Utilization of shallow estuarine habitats in South Carolina, U.S.A., by postlarval and juvenile stages of *Penaeus* spp. (Decapoda: Penaeidae). *Journal of Crustacean Society* **1**:280 - 295.
- Williams A.B. 1984. *Shrimp, Lobster and crabs of the Atlantic Coasts of the Eastern US Maine to Florida*. Smithsonian Institution Press, USA.
- Wyban J.A., C.S. Lee, J.N. Sweeney y W.K. Richards. 1987. Observations on development of a maturation system for *Penaeus vannamei*. *Jour. World Aqua. Soc.* **18**(3):198 - 200.
- Zar, J.H. 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall Englewood Cliffs N.F.