

00344



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

14

“VARIABLES METABOLICAS DE LA HEMOLINFA,  
RESPUESTA INMUNE Y BALANCE ENERGETICO DE  
MACHOS ADULTOS DE *Litopenaeus setiferus*  
DURANTE LA ACLIMATACION (CRUSTACEA,  
DECAPODA, PENAEIDAE)”

288861

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
(BIOLOGIA DE SISTEMAS Y RECURSOS  
ACUATICOS)

P R E S E N T A :

BIOL.: ARIADNA BERENICE SANCHEZ ARTEAGA

DIRECTOR DE TESIS: DR. CARLOS ROSAS VAZQUEZ

MEXICO, D. F.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

Este trabajo fue realizado en las instalaciones de la Facultad de Ciencias, UNAM, sede Cd. del Carmen, Campeche, con apoyo de una beca para posgrado (CONACYT) y en el marco de los proyectos CONACYT (31137-B), DGAPA-UNAM (206199) y FIES-INP (9649-VI), bajo la tutoría del Dr. Carlos Rosas Vázquez.

## AGRADECIMIENTOS

Esta es la parte de la tesis que podría parecer la más fácil. Sin embargo, no lo es. Dentro del sinnúmero de agradecimientos que vienen a mi mente, están el agradecer:

A los doctores Guillermina Alcaraz Zubeldia, Laida Ramos Trujillo Edgar Zenteno, y Adolfo Gracia Gasca, la revisión de este documento y sus comentarios.

El haber probado, degustado y disfrutado, a veces hasta llegar al empalagamiento, al muy bien denominado muégano campechano. Esta fue una de las gratas experiencias. Los que han tenido la oportunidad de probarlo, y les gustó, saben a que me refiero. Gracias, Cristi, Pedro, las Gabys, Gabriel, Leticia, Adrianita, Marú, Saúl y Alfredo, por su inmesurable amistad.

A Carlos Rosas Vázquez y Adolfo Sánchez Zamora, además de su apoyo para el desarrollo de esta tesis, debo agradecerles el no claudicar en hacer realidad su sueño, soñado hace ya una década, y a través del cual han hecho posible que muchos realizáramos el nuestro (dicho sea de paso, se les debe reconocer la creación del muégano campechano). Además, gracias Carlos por tu paciencia y tus pláticas sobre la esencia del ser humano.

A Gaby Gaxiola sus comentarios acerca de la tesis, pero sobretodo, su incondicional cobijo y apoyo otorgado en todo momento, y por ser otra cómplice en la aventura mueganezca.

A Doña Blanquita, Zehila, Paco Arguez, Vequi, Jazmín, Alfredo y Norma, el estar al pendiente y brindarme su acogimiento.

A mi familia por su apoyo moral y algunas veces hasta económico. Gracias mamá, Martha y tía Celia.

A mis amigos de hace tiempo por no quebrantar nuestros lazos a pesar de la lejanía: Connie, Marú, Mayra, Lalo, Angela, Jaime, Pepe Arévalo.

Al clan pimercsiano, y en especial, a Luciano, Edgar y Fernando.

Coincido contigo, Cristi, a los camarones que murieron.

## RESUMEN

La respuesta reproductiva de machos de *Litopenaeus setiferus* en cautiverio ha limitado la producción masiva de nauplios, principalmente por la baja frecuencia de cópula, asociada con los síndromes de melanización de su estructura reproductiva y la disminución de su calidad espermática (SMAR y SDTRM), anomalías que se han relacionado con el estrés de cautiverio. Por ello, se caracterizó el estado fisiológico de machos adultos de *L. setiferus* en los primeros 8 días de cautiverio, periodo crítico en un proceso de aclimatación, en dos condiciones termales usuales en un laboratorio de producción de postlarvas: 27 y 31 °C. Diariamente, se evaluaron parámetros bioenergéticos: Ingestión, Eficiencia de Absorción, Absorción, Asimilación, Respiración de rutina, Incremento de Calor Aparente, Excreción Nitrogenada, y Excreción Nitrogenada Postalimentaria, y se integraron en un ecuación de balance energético, en donde al final se obtuvo la Producción Total o energía canalizada al crecimiento y la reproducción. Adicionalmente, se compararon entre camarones recién capturados y los que estuvieron sujetos al tiempo y las condiciones termales ya referidas, las evaluaciones de glucosa, lactato, proteínas, colesterol, triacilglicéridos, calcio; la actividad de la fenoloxidasa, y el conteo y caracterización de hemocitos; la capacidad osmótica; y la respuesta reproductiva (cantidad y calidad espermática). El cautiverio y la temperatura no afectaron energéticamente a los organismos, ya que la energía canalizada a la producción tendió a aumentar al final del tiempo de cautiverio en ambas temperaturas experimentales. En 31 °C, los valores de los parámetros bioenergéticos fueron más altos que en 27 °C, excepto para la tasa respiratoria de rutina y la excreción nitrogenada, lo cual muestra la respuesta de un poiquiloterma ante un aumento de la temperatura. El aumento de la energía destinada hacia la producción junto con la disminución en la tasa respiratoria de rutina en los organismos expuestos a 31 °C, reflejan mecanismos compensatorios relacionados con la capacidad de tolerancia termal de la especie cuya distribución en el medio natural comprende aguas costeras someras. Sin embargo, la disminución en los triacilglicéridos, las proteínas y el colesterol, así como la reducción en los hemocitos totales, en contraste con el aumento en la actividad de la fenoloxidasa, indican una alteración nutricional y en los mecanismos regulatorios del sistema inmune.

## CONTENIDO

INTRODUCCION	5
Hipótesis	7
Objetivo General	8
Objetivos Particulares	8
ANTECEDENTES	9
MATERIALES Y METODOS	
I Obtención de organismos	16
II Diseño experimental	16
III Evaluación de indicadores	
a) Inmunológicos	19
b) Bioquímicos	21
c) Capacidad Osmótica	22
d) Calidad reproductiva	22
IV Evaluación del balance energético	23
RESULTADOS	
I Balance energético	28
II Componentes de la hemolinfa	35
III Calidad reproductiva	43
DISCUSION	45
CONCLUSIONES	62
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	63
ANEXOS	73

## INTRODUCCION

Sin duda, el camarón es un recurso apreciado económicamente por su amplia aceptación y su elevado precio en el mercado, y es a raíz de la necesidad de cubrir la demanda de este recurso, que surge el interés del desarrollo de la camaronicultura. El principal objetivo de la camaronicultura es la domesticación de las especies y el cierre del ciclo de cultivo para lograr abastecer la demanda comercial y frenar el uso de las poblaciones silvestres, sin embargo, el abasto de postlarvas sigue siendo una de las principales limitantes en la realización de esta actividad.

Entre las especies de camarón del Golfo de México: *Farfantepenaeus aztecus*, *F. duorarum* y *Litopenaeus setiferus*, la información científica generada hasta ahora ubica a *L. setiferus* como la de mayor posibilidad para lograr su cultivo, por presentar su alta sobrevivencia (95-99 %), su potencial de crecimiento de 12 a 14 g/camarón en condiciones de altas densidades de siembra (40-60 animales/m<sup>2</sup>) y un rendimiento de 3.7 ton/ha/cosecha (Sandifer *et al.*, 1993).

Sin embargo, el logro de la producción comercial de *L. setiferus* requiere de una producción masiva y continua de semilla, por lo cual el adecuado manejo de del ciclo reproductivo es un importante prerequisite para el cultivo de esta especie. Al respecto, aunque desde hace tiempo se lograron la maduración y desove exitoso de *L. setiferus* bajo condiciones de laboratorio (Brown *et al.*, 1979), aún existe una baja o nula frecuencia de cópula (Leung-Trujillo y Lawrence, 1991; Misamore y Browdy, 1996; Pascual, 1998). Esta anomalía se ha remediado con el uso de la inseminación artificial, en la que a través de una electroestimulación se extrae el espermátforo de los machos, estructura reproductiva que contiene la masa espermática. No obstante, la electroestimulación deteriora esta estructura reproductiva en la mayoría de los casos, haciéndose necesario un recambio continuo de los especímenes (Rosas *et al.*, 1993).

Asimismo, en condiciones de cautiverio se han observado dos síndromes en la respuesta reproductiva en los machos adultos de esta. Por un lado, se desarrolla un proceso de melanización (respuesta inmunológica) en el ápula terminal, con un consecuente deterioro del espermátforo que dificulta su transferencia a la hembra, por lo cual se le ha denominado

Síndrome de Melanización del Aparato Reproductor (SMAR). Por otro lado, ocurre una disminución drástica en la cantidad de células espermáticas con un aumento en las células anormales y/o muertas, al cual se le ha llamado Síndrome Degenerativo del Aparato Reproductor de Machos (SDARM). (Brown *et al.*, 1979; Bray *et al.*, 1985, Leung-Trujillo y Lawrence, 1987; Alfaro, 1990) (

Las causas que originan esos síndromes son aún desconocidas, aunque se han relacionado al estrés del cautiverio y del manejo (Chamberlain *et al.*, 1983; Sandifer *et al.*, 1984; Harris y Sandifer, 1986; Leung-Trujillo y Lawrence, 1991; Rosas *et al.*, 1993b), y por el efecto de un factor ambiental, como la temperatura (Pascual *et al.*, 1998; Pascual, 2000). Por ello, se ha considerado que las infecciones que desencadenan la melanización en el tracto reproductivo (SMAR), actúan sólo como un factor secundario (Bray *et al.*, 1985; Talbot *et al.*, 1989; Alfaro 1990, 1993; Pascual *et al.*, 1998; Pascual, 2000).

Hasta el momento, se tiene conocimiento que la temperatura puede actuar como un factor estresante que facilita la presencia del deterioro reproductivo. En la práctica camaronícola se recomiendan temperaturas de 28-29 °C para los sistemas de maduración (Pratoomchat *et al.*, 1993; Robertson *et al.*, 1993), sin embargo se ha observado que la calidad reproductiva logra mantenerse en organismos expuestos en una condición de menor temperatura (26 °C) sólo por un periodo de 30 días (Bray *et al.*, 1985; Pascual *et al.*, 1998). A partir de los 30 °C, se presenta una disminución drástica de la calidad espermática así como de tejidos reproductivos melanizados antes de los 30 días (Pascual *et al.*, 1998), siendo a 33 °C donde este deterioro se presenta desde el quinto día de cautiverio (Pascual, 2000). Bray *et al.* (1985) explica que las temperaturas usadas en el área de maduración/reproducción de los laboratorios de producción de postlarvas suelen ser superiores a las del ambiente natural donde se reproducen, por lo que la temperatura puede actuar como un factor estresante que facilita la presencia del deterioro reproductivo.

Aunado al avance en el conocimiento del efecto de la temperatura en el desarrollo de los síndromes reproductivos, actualmente se sabe que en los primeros días de cautiverio, machos adultos del camarón blanco del Golfo de México (*L. setiferus*) expuestos a una temperatura



mayor a la recomendada para un área de maduración (33 °C), presentan un comportamiento interrelacionado entre componentes bioquímicos, inmunológicos y reproductivos (Pascual, 2000).

La interacción ambiente-organismo involucra eventos regulatorios tiempo-dependientes e interrelacionados de una manera coordinada a varios niveles de organización, desde la biología molecular (síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos) hasta la perspectiva holística (comportamiento), entonces cualquier organismo actúa como una unidad altamente integrada que despliega mecanismos para tolerar cambios, sobrevivir y perpetuarse (Hochachka, 1973; Vernberg, 1975; Prosser, 1991). Desde esta perspectiva, es necesario ahondar en el conocimiento integral de las respuestas fisiológicas que los organismos pueden mostrar en cautiverio bajo ciertas condiciones ambientales.

Por lo tanto, en el presente estudio se contemplaron el balance energético, y los componentes bioquímicos presentes en la hemolinfa (proteínas, triacilglicéridos, colesterol, glucosa, lactato, calcio), la capacidad osmótica, la respuesta inmunológica (cantidad y tipos de hemocitos y actividad de la fenoloxidasa), y la reproductiva (calidad espermática), como herramientas de una evaluación integral que reflejan los ajustes fisiológicos que los machos adultos de *L. setiferus* presentan como parte de su proceso de aclimatación en los primeros 8 días de cautiverio expuestos a 27 y 31 °C.

## HIPOTESIS

Los machos adultos de *L. setiferus* realizarán ajustes fisiológicos en su proceso de aclimatación, por lo que requerirán de una mayor cantidad de energía. Como organismos poiquiloterms, en 31 °C los organismos acelerarán sus procesos fisiológicos, de tal forma que el suministro energético estará por debajo de la cantidad requerida para su mantenimiento, lo que disminuirá la incorporación de la energía metabólicamente útil destinada a la producción, con una consecuente alteración en el sistema inmune generada por los desajustes energéticos.

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar los cambios fisiológicos en el proceso de aclimatación de machos adultos de *Litopenaeus setiferus* expuestos a 27 y 31 °C, a partir del balance energético, las variables bioquímicas, y la respuesta inmune.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

Evaluar el balance diario de energía en machos adultos de *L. setiferus* expuestos a 27 y 31 °C.

Evaluar la concentración de glucosa, lactato, calcio, proteínas, triacilglicéridos y colesterol en hemolinfa, y la capacidad osmótica en machos adultos de *L. setiferus* recién capturados y en los mantenidos en cautiverio por 8 días a 27 y 31°C.

Evaluar los hemocitos totales y sus subtipos, (Células Hialinas, Células Granulares y Células Semigranulares) en machos adultos de *L. setiferus* recién capturados y en los mantenidos en cautiverio por 8 días a 27 y 31°C.

Evaluar la cantidad y la calidad de células espermáticas, en machos adultos de *L. setiferus* recién capturados y en los mantenidos en cautiverio por 8 días a 27 y 31°C.

## ANTECEDENTES

La aclimatación es un proceso que involucra cambios compensatorios morfológicos, bioquímicos o biofísicos que permiten la constancia en las funciones después de un cambio prolongado en un ambiente controlado. En cuestión de minutos u horas ocurren respuestas directas metabólicas y/o en el comportamiento, en las que el cambio de éstas es proporcional al cambio del factor ambiental, o bien, pueden presentarse en forma disparada. Sigue una fase relativamente estable que se alcanza por ajustes fisiológicos graduales, hasta que estos llegan a ser iguales al valor inicial (compensación total), o bien, sin llegar a ser iguales, se logra la estabilización a través de la compensación parcial, la sobrecompensación, o la compensación inversa. Por lo tanto, los organismos hacen uso de diferentes compensaciones metabólicas como formas de reducir el efecto de un factor ambiental (Prosser, 1991).

La aclimatación requiere cierto tiempo para manifestarse y completarse, y está en estrecha relación con la intensidad del cambio ambiental y del genotipo, por lo que es difícil generalizar la cantidad de tiempo requerido y la forma en que cada organismo responderá enfrentando la nueva situación ambiental. El tiempo de exposición aunado a la condición ambiental a la cual el organismo se sujeta, puede dar lugar a una aclimatación de capacidad en la que la tasa fisiológica o alguna otra capacidad que ejecuta una función se altera dentro de los límites del rango óptimo para la especie, o bien, a una aclimatación de resistencia o adaptación de resistencia, en donde la condición ambiental está en un límite letal que pueda crear una incapacidad en el organismo para responder (Vernberg, 1975; Hill, 1976; Prosser, 1991).

En este contexto, la integración de indicadores del estado fisiológico permite un acercamiento en el conocimiento de las capacidades y limitaciones fisiológicas y funcionales que despliegan los organismos en un proceso de aclimatación. Al considerar al organismo como un sistema abierto que intercambia energía con su ambiente, se involucran los procesos que intervienen en el flujo de energía, que es químicamente enlazada, convertida, y utilizada metabólicamente para que el organismo se mantenga, crezca y se reproduzca.

En este intercambio de materia-energía entre el organismo y su ambiente, a partir de lo que se ingiere (I), se puede distinguir lo que es metabolizable (A), destinado a procesos catabólicos (respiración R) y anabólicos (producción de tejido P), de lo que no se asimila (heces H y excreción nitrogenada N), a partir de la ecuación (Lucas, 1996):

$$P = I - (R + H + N) = A - R$$

El flujo de la energía comienza con la ingestión del alimento (I). En los crustáceos, el alimento primero es parcialmente procesado por la acción mecánica de los apéndices quelados, posteriormente pasa por el esófago, y al llegar al estómago se realiza la primera parte de la digestión, por la acción de las enzimas digestivas y del molino gástrico. Entonces, el alimento pasa a través de la malla gástrica, en donde el material mayor a 1  $\mu\text{m}$  del alimento no es absorbido en la glándula digestiva y se dirige al intestino donde se canalizan los desechos de la ingestión para formar las heces (H). Además, la producción de heces está en relación con la excreción de remanentes celulares, mucus y membranas provenientes de la última digestión realizada y del aumento de la presión hidrostática ejercida por el alimento recién ingerido (Gibson y Barker, 1979; Lovett y Felder, 1990). La segunda parte de la digestión consiste en la degradación de los nutrientes del alimento en moléculas simples, y se inicia con la absorción (Abs), cuando el quimo y las partículas finas son introducidas al lumen de la glándula digestiva. (Lucas, 1996).

Los procesos de aprovechamiento de la energía ingerida dan inicio a partir de que el alimento ha sido separado en componentes primarios (proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales), los cuales son almacenados y/o procesados en la glándula digestiva, o transportados a otros tejidos vía la hemolinfa (Al-Mohanna y Not, 1987), iniciándose la asimilación (A) cuyo resultado es la cantidad de energía disponible para realizar el trabajo fisiológico (Rosas *et al.*, 1995; Lucas, 1996).

Los carbohidratos y los lípidos son rápidamente almacenados y/o transportados a los músculos como ácidos grasos y glucógeno, mientras que los aminoácidos son utilizados para la conformación de nuevas proteínas en la glándula digestiva o son utilizados directamente como fuente de energía metabólica. Si los derivados proteicos son utilizados como fuente de energía

los aminoácidos son transformados en  $\text{NADH}^+$  y  $\text{NH}_3$ . La pérdida a través de las moléculas de amonio producido (N) se suma a la energía perdida en los productos de desecho (Lucas, 1996; Guerin y Stickle, 1997; Rosas *et al.*, 1998). En crustáceos marinos, el amonio constituye entre el 60 y 100% de los productos finales del metabolismo de proteínas (Regnault 1979, 1986) y la magnitud de la excreción amoniacal depende de las características de la dieta y de las condiciones de su cultivo (Regnault, 1981; Regnault, 1993; Rosas *et al.*, 1995, 1996).

La respiración (R) en los organismos heterótrofos se inicia con la glucólisis y termina con la fosforilación oxidativa, por lo que la cantidad de oxígeno consumido por un animal tiene un equivalente de energía en términos de moléculas de ATP (Zubay, 1983), y la cantidad de energía producida en los procesos catabólicos acoplados al ciclo de Krebs, se cuenta dentro de la energía invertida en la respiración (Lucas, 1993; Guerin y Stickle, 1997; Rosas *et al.*, 1998). La tasa respiratoria se compone de la  $R_{\text{BASAL}}$ , la  $R_{\text{RUT}}$  y la  $R_{\text{ACT}}$ . La primera se refiere a la cantidad de energía necesaria para la realización de las funciones básicas, es decir, es la energía mínima necesaria para que los organismos se mantengan vivos, y la  $R_{\text{RUT}}$  involucra la energía para las funciones diarias o la actividad espontánea, en la cual también está incluida la  $R_{\text{BASAL}}$ . La  $R_{\text{ACT}}$  es la inversión de energía destinada a las funciones de actividad como el nado (Lucas, 1996).

La  $R_{\text{RUT}}$  considera el periodo de alimentación, por lo que se puede evaluar la tasa respiratoria de ayuno ( $R_{\text{RUT}}$  ayuno) y la posterior a la alimentación ( $R_{\text{ICA}}$ ), la cual contempla el trabajo metabólico asociado con las transformaciones mecánicas y bioquímicas del alimento llamado incremento de calor aparente (ICA) o acción dinámica específica (Beamish y Trippel, 1990). El  $R_{\text{ICA}}$  se ha utilizado como un índice de la relación costo-beneficio en estudios de nutrición de camarones peneidos en los que se ha observado que el  $R_{\text{ICA}}$  puede variar entre el 5 y el 20 % del alimento ingerido, dependiendo de las características nutricionales. y de los niveles de  $\text{O}_2$  disuelto (Rosas *et al.*, 1996; Rosas *et al.*, 1998)

La alteración en el flujo de la energía ingerida por efecto de algún factor ambiental puede modifique la homeocinesis, es decir, la constancia en el aprovechamiento y producción de la energía, por lo que puede impactar las respuestas globalizadoras que integran los procesos

fisiológicos de incorporación de energía, como son el crecimiento y la reproducción, es decir, la producción ( $P_1$ ) o cantidad de energía canalizada hacia la producción de tejido incluyendo el reproductivo (Eckert *et al.* 1989; Lucas, 1996)

De acuerdo a Hatcher (1991), las razones metabólicas son buenos indicadores de la estrategia nutricional a largo plazo de los camarones peneidos debido a su limitada capacidad de almacenamiento de nutrientes energógenos. Se puede obtener la razón O:N (oxígeno consumido:nitrógeno excretado) como indicador útil del sustrato oxidado dentro del metabolismo energético (Mayzaud y Daltot, 1973; Mayzaud y Conover, 1988). Los límites teóricos en los que se mueve esta razón son indicadores del sustrato metabólico: un rango entre 3 y 16 se ha interpretado como catabolismo de proteínas, y cantidades iguales de proteínas y lípidos implican valores entre 50 y 60 (Mayzaud y Conover, 1988).

A pesar de la importancia de los resultados que se generan con investigaciones del tipo bioenergético, son escasos los estudios que se han llevado a cabo sobre el balance de energía en crustáceos expuestos al cautiverio. La mayoría de estos estudios se han enfocado hacia el desarrollo de la camaronicultura, como la evaluación del tipo de dieta (Clifford y Brick, 1979; Zuñiga, 1983; Rosas *et al.* 2000 a,b,c); la salinidad (Guerin y Stickle, 1997), el oxígeno disuelto (Rosas *et al.*, 1998); la ablación peduncular (Rosas *et al.*, 1993a), y la combinación de factores ambientales como la salinidad y temperatura (Vanegas, 1992; Vernberg y Piyatiratitivorakul, 1998).

El flujo de materia y energía que mantiene un estado fisiológico integral ocurre de manera simultánea e incesante a partir de los nutrimentos (lípidos, carbohidratos y proteínas) aportados en el alimento. La energía química contenida en ellos se transforma en gradientes eléctricos, iónicos, osmóticos y de contracción muscular, etc., indispensables para producir trabajo y mantener la integridad estructural, para que el organismo se mantenga, crezca, y se reproduzca (Hill, 1976).

Por lo tanto, un organismo vivo requiere un aporte frecuente de alimento por el gasto continuo de energía necesaria para mantener su función y estructura en todos los niveles de organización. Si

el suministro energético disminuye por debajo de la cantidad requerida para su mantenimiento, el organismo consumirá sus propias reservas energéticas, y al agotarlas, el organismo morirá inevitablemente (Eckert *et al.*, 1989). Entonces, en cualquier organismo la deposición, movilización y utilización de los nutrimentos es indispensable como parte del mantenimiento de la homeocinesis. Por esto, las concentraciones de diferentes metabolitos en hemolinfa, como la glucosa, el lactato, los triacilglicéridos, el colesterol y las proteínas, han sido utilizados como indicadores de mecanismos de regulación cuando los organismos se exponen a varias condiciones (Ferraris *et al.*, 1986; Vinagre y Da Silva, 1992; Santos y Keller, 1993; Webster, 1996; Hall y van Ham, 1998; Racotta y Palacios, 1998).

Otro elemento presente en la hemolinfa no usado como indicador fisiológico, pero de gran importancia por su intervención en procesos fisiológicos como la muda (Wheatly, 1996) y la respuesta inmune (Söderhäll, 1981; Ashida y Söderhäll, 1984; Gollas *et al.*, 1996), es el calcio. Aunque los niveles de calcio en la hemolinfa son similares entre crustáceos (Wheatly, 1996; Vijayan y Diwan, 1996), se presentan intensas movilizaciones justo antes de la ecdisis, en la premuda y postmuda, pues los niveles se mantienen relativamente constantes. El calcio interviene, además, en los mecanismos de defensa de invertebrados. En crustáceos, se conoce que su presencia es necesaria en los procesos de activación del sistema profenoloxidasa (Ashida y Söderhäll, 1984; Gollas *et al.*, 1996). Aunque el mecanismo de acción espontánea del calcio aún no está claro, aparentemente, altas concentraciones de este ión estabilizan el sistema proFO, previniendo la activación espontánea cuando hay bajas concentraciones (Söderhäll, 1982).

Un parámetro indicador del estado fisiológico del organismo que permite precisar los efectos de cualquier tipo de estrés, es la capacidad osmótica (CO), que es la diferencia entre la presión osmótica de la hemolinfa y el ambiente. La CO, puede indicar una disfunción en los mecanismos de regulación (Charmantier *et al.*, 1987, 1994; Soyez, 1998). La disminución en la CO se ha observado en crustáceos expuestos a una variedad de condiciones: altas concentraciones de amonio (Lin *et al.*, 1993), bajas concentraciones de oxígeno (Charmantier *et al.*, 1994; Soyez, 1998), turbidez del agua (Lin *et al.*, 1992), variación en la salinidad (Ferraris *et al.*, 1985), estrés por temperatura (Ramírez y Taylor, 1985; Newsom y Davis, 1994; Chen y Lin, 1998), exposición

a patógenos (Souheil *et al.*, 1992) y a metales pesados y pesticidas (Fingerman *et al.*, 1981; Bambang, 1995), y por efecto dietético (Lignot *et al.*, 1999; Rosas *et al.*, 2000).

Debido a que procesos inmunológicos de los camarones están implicados en el SMAR, el estado de susceptibilidad hacia las infecciones en los camarones se ha evaluado considerando la cantidad, los tipos y proporciones de hemocitos, lo que permite una evaluación de la condición de salud, ya que las enfermedades infecciosas pueden modificar la concentración y distribución de hemocitos (Vargas-Albores *et al.*, 1991; Pascual, 2000).

Los hemocitos, presentes en la hemolinfa, son las principales formas de defensa en los camarones y cumplen esta función por diferentes vías: coagulación, fagocitosis y encapsulación (Johansson y Söderhäll, 1989; Bachère *et al.*, 1995). Además de cumplir estas funciones, las células hemales poseen un sistema enzimático capaz de participar directamente en la eliminación de patógenos, el sistema profenoloxidasa (proFO). Este se encuentra localizado en los gránulos de los hemocitos, los cuales son liberados durante la fagocitosis, incrementando la actividad fagocítica de los hemocitos y fortaleciendo el sistema de defensa en crustáceos (Söderhäll, 1992). El sistema proFO es una compleja cascada enzimática que comienza con la liberación de las enzimas a la hemolinfa al detectarse  $\beta$ -1,3-glucanos o lipopolisacáridos de hongos y bacterias (Söderhäll y Unestam, 1979; Vargas-Albores *et al.*, 1993; Vargas-Albores, 1995). Ya en la hemolinfa, presente como una pro-enzima, se activa en forma de una proteinasa (la fenoloxidasa, FO), la cual es la responsable de la oxidación de fenoles a quinonas que posteriormente se convierten en melanina (Ashida y Söderhäll, 1984; Johansson y Söderhäll, 1985; Vargas-Albores, 1995; Hernández-López *et al.*, 1996). Este mecanismo de defensa de insectos y crustáceos, funciona como un sistema de reconocimiento no-específico, interviniendo no sólo en la melanización sino también en la encapsulación (Johansson y Söderhäll, 1989).

El establecimiento de una enfermedad depende en gran medida de la condición fisiológica del organismo, como lo observó Pascual (2000) en adultos de *L. setiferus* mantenidos en cautiverio en 33 °C, en los que la presencia de los síndromes del deterioro reproductivo (SMAR y SMTRM) tuvo estrecha relación con el efecto que causó la temperatura en la condición fisiológica observada a través de los cambios bioquímicos e inmunológicos. Por ello, con la



evaluación no sólo de éstos indicadores, sino también de los energéticos, se puede profundizar en el conocimiento de la condición fisiológica en cautiverio que puede dar pie al desarrollo de la pérdida de la capacidad reproductiva.

## MATERIALES Y METODOS

### I.-Obtención de organismos

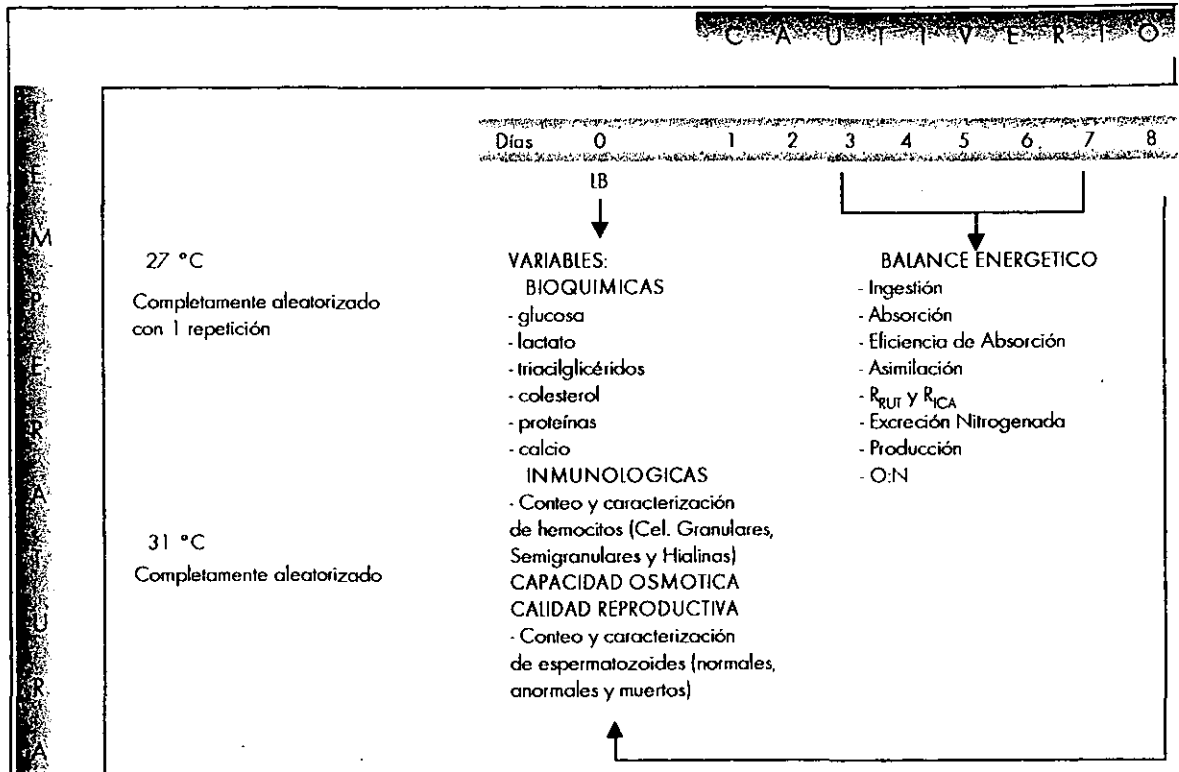
Los bioensayos se realizaron en los meses de octubre y noviembre de 1998, periodo que se encuentra dentro del segundo pico reproductivo de la especie, asegurándose así la presencia de especímenes de talla adulta ( $33.44 \text{ g} \pm 0.45$  de peso húmedo). Los especímenes de camarón blanco (*L. setiferus*) se capturaron frente a la Isla de Cd. del Carmen, Camp., a una profundidad máxima de 3 brazas, con una red agallera con apertura de malla de  $1 \frac{3}{4}$  de pulgada; se trasladaron al laboratorio del Grupo de Biología Marina Experimental, perteneciente a la Facultad de Ciencias, de la UNAM. El transporte se realizó en bolsas de polietileno, con aproximadamente 10 L de agua del medio y atmósfera saturada de oxígeno, en donde se colocaron aproximadamente 15 organismos por bolsa. Durante el traslado, la temperatura del agua se disminuyó con hielo a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , con el fin de reducir el metabolismo de los animales y así abatir el estrés producido por la captura, el traslado y la manipulación.

### II.- Diseño experimental

Para evaluar las respuestas metabólicas como parte del proceso de aclimatación, se llevaron a cabo por separado bioensayos a  $27$  y a  $31 \text{ }^\circ\text{C}$ , en los que se siguió la misma logística de uso de instalaciones, equipo, procedimiento y control experimental; la única variante en ambos bioensayos fue el uso de calentadores sumergibles graduables (Thermal Pre-set marca Hagen), que permitieron el aumento paulatino de los cuatro grados de diferencia entre  $27 \text{ }^\circ\text{C}$  y la otra temperatura experimental estipulada ( $31 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

En cada bioensayo se destinó una parte del stock capturado para conformar el grupo de la Línea Base (LB,  $N= 58$  en  $27 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $N= 27$  en  $31 \text{ }^\circ\text{C}$ ), y el cual sirvió como punto de referencia para caracterizar el estado fisiológico, bioquímico e inmunológico de la población recién capturada y poder compararlo con aquel estado resultante en los organismos que se sometieron a cada una de las temperaturas seleccionadas por los 8 días de cautiverio, contemplados como periodo de aclimatación (fig. 1).

Fig. 1.- Diseño experimental.



LB= Línea Base

El grupo de la *LB* se conformó azarosamente y se distribuyó por partes iguales en tanques negros circulares (1.58 x 0.38m) con capacidad de 500 L. Estos tanques contaron con flujo cerrado, filtro biológico y condiciones controladas y constantes de aireación, temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, pH, amonio, nitrito y fotoperíodo (14 h luz/10 h oscuridad) (Tabla 1). El registro de estos parámetros fisicoquímicos se llevó a cabo dos veces por día.

Los especímenes de la otra parte del stock capturado integraron el grupo de *Cautiverio* (C, N=18 en 27 °C; N=14 en 31 °C), el cual se distribuyó por igual en dos tanques rectangulares de 400 L. A partir del día 3 del periodo de cautiverio, se seleccionaron de estos dos tanques, 5 camarones al azar y se colocaron individualmente en cámaras respirométricas (fig. 2) para evaluar diariamente hasta el día 7 los indicadores correspondientes al cálculo del *Balance energético* (fig. 1). Al día 8, tanto los organismos que se mantuvieron en los tanques como los de las cámaras respirométricas, fueron analizados para las mismas variables consideradas para

la LB. Durante los días que duró el experimento, los tanques y las cámaras respirométricas estuvieron conectadas en un mismo sistema de flujo cerrado y filtro biológico, de tal forma que ambas clases de recipientes contaron con las mismas condiciones fisicoquímicas (fig. 3). El comportamiento de los parámetros fisicoquímicos para cada grupo experimental de ambos bioensayos se muestran en la tabla 1.

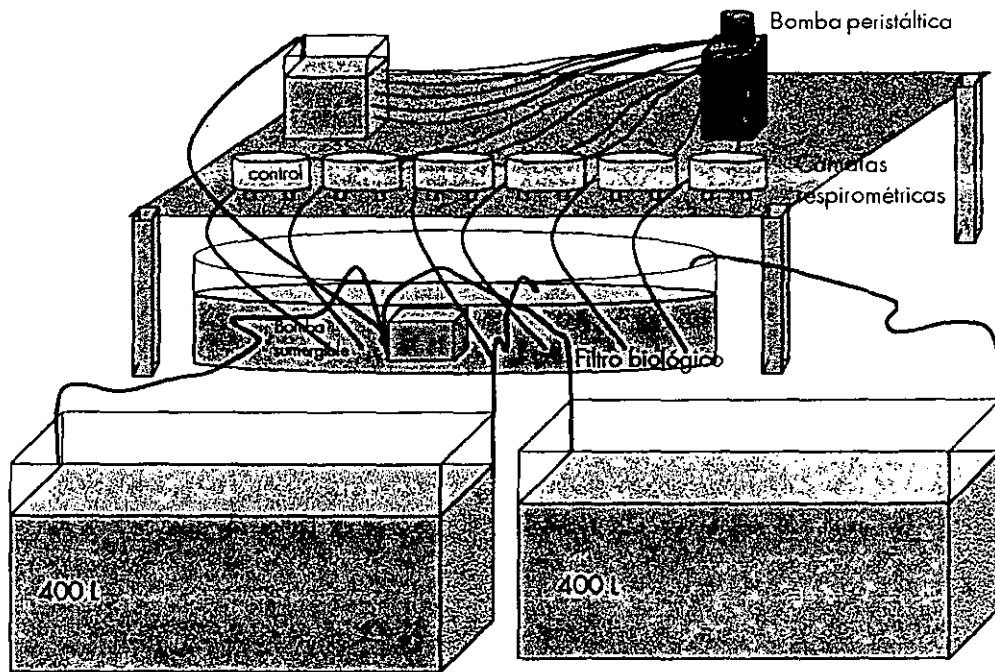


Fig. 3 Dispositivo experimental en el cual se mantuvieron los organismos para llevar a cabo las evaluaciones bioquímicas, inmunológicas, reproductivas, y balance energético, correspondientes a los bioensayos en cautiverio.

Tabla 1.- Parámetros fisicoquímicos observados durante los bioensayos. Promedios±Error Estándar

	LB	Bioensayo 27 °C		LB	Bioensayo 31 °C	
		Balance Energético	Cautiverio		Balance Energético	Cautiverio
Oxígeno disuelto (mg l <sup>-1</sup> )	5.06±0.14	5.43±0.08	5.09±0.10	5.32±0.41	5.76±0.29	4.95±0.08
Temperatura (°C)	29.3±0.2	27.3±0.09	27.6±0.07	26.8±0.11	31.5±0.06	31.4±0.25
pH	8.2±0.04	7.9±0.03	7.9±0.018	8±0.03	7.9±0.01	7.8±0.013
Salinidad (‰)	33±0.13	35±0.12	34±0.23	31±0.22	32±0.12	32±0.25
Amonio (mg l <sup>-1</sup> )	0.0009±0.0005	0.005±0.0003	0.008±0.0009	0.006±0.002	0.004±0.00004	0.007±0.001
Nitrito (mg l <sup>-1</sup> )	0.16±0.06	0.28±0.043	0.28±0.043	0.08±0.03	0	0.09±0.04

### III.- Evaluación de los indicadores en la hemolinfa, y de la calidad reproductiva

Con el propósito de aminorar el estrés causado por la captura, el muestreo de la *LB* se realizó después de 19 h de haber arribado los animales al laboratorio; durante este lapso de tiempo los animales no fueron alimentados, para así eliminar la alteración del metabolismo asociada al proceso de digestión y asimilación del alimento (Hall, 1998). El muestreo comenzó a las 9 a.m. y a cada individuo se le extrajo tanto una muestra de hemolinfa (150 a 300  $\mu$ l) para analizar los diferentes indicadores metabólicos, como el espermátforo para la evaluación de la calidad reproductiva. Por último, se registró el peso húmedo de cada organismo..

Estas mismas evaluaciones se llevaron a cabo en el grupo de organismos en cautiverio, en el octavo y último día de aclimatación en que estuvieron expuestos a 27 y 31 °C; en el caso de estos ejemplares el muestreo también se inició a la misma hora que el realizado para la *LB*, estando todos en condición de ayuno. El procedimiento para cada uno de los análisis se explica a continuación.

La hemolinfa se extrajo por punción en el seno ventrolateral del abdomen, con una jeringa hipodérmica de 3 ml y aguja de 21G x 32 mm, previamente enjuagada con citrato de sodio (12.5 % y 8 °C). Es importante mencionar que antes de extraerle la hemolinfa al organismo se le quitó el exceso de agua con un papel absorbente para evitar alguna interferencia del agua de mar con la hemolinfa.. De inmediato, la hemolinfa se vertió en parafilm colocado sobre hielo, con el fin de impedir el proceso de coagulación. Esta muestra se dividió en tres porciones: una porción se destinó a las evaluaciones inmunológicas (actividad de la fenoloxidasa y conteo de hemocitos), y las otras dos, a los indicadores bioquímicos (glucosa, lactato, colesterol, triacilglicéridos, proteínas y calcio), y a la presión osmótica.

#### A).- Indicadores inmunológicos

Como primer paso se obtuvo el lisado de hemocitos. Por cada volumen de hemolinfa, se utilizaron dos volúmenes de solución isotónica para camarón (SIC-EDTA) a 8 °C de temperatura, pH de 7.3 y 850 mOsm Kg<sup>-1</sup>, dicha solución se constiuye de 450 mM NaCl, 10 mM KCl, 10 mM EDTA Na<sub>2</sub>, 10 mM HEPES (Vargas-Albores *et al.*, 1993). La muestra se centrifugó a 800 g

por 3 min, para separar el plasma del paquete celular, este último fue resuspendido en amortiguador de cacodilatos previamente enfriado a 8°C (100 mM cacodilatos, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, pH 7.0) y posteriormente centrifugado a 2500 *g* por 2 min. El denominado "sobrenadante de lisado de hemocitos" (LH), se utilizó como fuente de actividad de fenoloxidasa (FO) (Hernández-López *et al.*, 1996).

### Fenoloxidasa (FO)

La actividad de FO total se midió espectroscópicamente de acuerdo a la formación de dopacromo del L-hidroxi fenil alanina (L-DOPA) (Leonard, 1985). La evaluación de la FO total, se realizó a partir de la conversión de la proFO a su forma activa, es decir, a la FO, para lo cual se incubaron, durante 3 min a 25 ± 2°C, 50 µL de lisado de hemocitos con 50 µL de tripsina tipo IX de páncreas de bovino (0.1 mg/mL). Posteriormente, 50 µL de L-DOPA (3 mg/mL en amortiguador de cacodilatos) se suministraron a la reacción y se incubó durante 10 min (Hernández-López *et al.*, 1996). Se registró la absorbancia de la reacción a 490 nm en un lector de microplacas.

Cabe mencionar que todo el material de plástico y cristalería empleado para estas mediciones se lavó con un jabón especial (ETOXA-CLEAN de Sigma), para así evitar la activación espontánea del sistema proFO por endotoxinas. Por esto mismo, todas las soluciones se prepararon usando agua libre de pirógenos.

### Conteo y clasificación de hemocitos

Se mezclaron 150 µL de hemolinfa con un volumen igual de solución Alsever (113 mM glucosa, 27.2 mM citrato de sodio, 2.8 mM ácido cítrico, 71.9 mM NaCl) y formol al 10 % (v/v). La muestra se guardó en refrigeración hasta su análisis. En el conteo y la caracterización de los hemocitos, se empleó un hematocitómetro (cámara de Malassez) con volumen de 0.01 mm<sup>3</sup> y se realizó de forma automática mediante un analizador de imágenes acoplado al microscopio. La caracterización celular integró el tamaño, la forma y el contenido granular (Le Moullac *et al.*, 1997).

## B).- Indicadores bioquímicos

### Determinación de glucosa

Se colocaron 10  $\mu\text{l}$  de plasma en una microplaca y se adicionaron 200  $\mu\text{l}$  de solución reactiva (4-aminofenazona 0.25  $\text{mM L}^{-1}$ ; fenol 0.75  $\text{mM L}^{-1}$ ; PBS 0.1  $\text{M L}^{-1}$ , pH 7.5; glucosa oxidasa  $\geq 7.5$   $\text{kU L}^{-1}$  y peroxidasa  $\geq 1.5$   $\text{kU L}^{-1}$ ). Posteriormente se incubaron a  $25 \pm 2$  ° C durante 30 min y se registró la absorbancia a 490 nm. La concentración de glucosa (mg/ml) se calculó con una curva patrón utilizando el estándar del kit comercial (Merck GOD-PAD).

### Determinación de lactato

Se colocaron 10  $\mu\text{l}$  de plasma en una microplaca y se adicionaron 200  $\mu\text{l}$  de solución reactiva (lactato oxidasa 400  $\text{U L}^{-1}$ ; PBS pH 7.2; peroxidasa 2400  $\text{U L}^{-1}$ ). Posteriormente fueron incubadas a  $25 \pm 2$  °C por 30 min y se leyó la absorbancia a 490 nm. La concentración de lactato (mg/ml) se calculó con una curva patrón utilizando el estándar del kit comercial (Sigma).

### Determinación de proteínas totales

Se utilizó una prueba comercial para micro determinaciones basada en la técnica de Bradford (1976). Se colocaron 50  $\mu\text{l}$  de plasma diluido (1:500 con agua destilada) en una microplaca y se añadieron 200  $\mu\text{l}$  de solución reactiva (Brillant blue G, 3.5  $\text{mg L}^{-1}$  en ácido fosfórico y metanol). Las muestras se incubaron a  $25 \pm 2$  °C durante 2 min y se registró la absorbancia a 630 nm. La concentración de proteína (mg/ml) se calculó con una curva patrón utilizando el estándar de albúmina humana (Sigma).

### Determinación de triacilglicéridos

Se colocaron 10  $\mu\text{l}$  de plasma en una microplaca y se adicionaron 200  $\mu\text{l}$  de solución reactiva (PIPES pH 7.5, 0.1  $\text{M L}^{-1}$ ; acetato de magnesio 12.8  $\text{mM L}^{-1}$ ; 4-aminoatiripina 1  $\text{mM L}^{-1}$ ; ATP 2  $\text{mM}$ ; 2 clorofenol 2  $\text{mM L}^{-1}$ ; peroxidasa:  $\geq 1$   $\text{U L}^{-1}$ ; glicerorsinasa 0.2  $\text{U L}^{-1}$ ; glicerol-3-fosfato-oxidasa 1.5  $\text{U mL}^{-1}$ ; lipasa 10  $\text{U L}^{-1}$  y polietilenglicolmonoetiléter 2  $\text{g L}^{-1}$ ). Se incubó la reacción a  $25 \pm 2$  °C por 10 min y se leyó la absorbancia a 490 nm. La concentración de triacilglicéridos

(mg/ml) se calculó con una curva patrón utilizando el estándar comercial obtenido del kit (Merck, GPO-PAP).

#### Determinación de colesterol

Se colocaron 20  $\mu\text{L}$  de plasma en una microplaca y se adicionaron 200  $\mu\text{L}$  de solución reactiva (PBS pH 7.5, 0.2 M  $\text{L}^{-1}$ ; fenol 3 mM  $\text{L}^{-1}$ ; polietilenglicol-éter 4 g  $\text{L}^{-1}$ ; polietilglicolmonoalquiléter 1 g  $\text{L}^{-1}$ ; 1-fenil-2,3-dimetil-4-amino-antipirina 0.08 M  $\text{L}^{-1}$ ; colesterol esterasa  $\geq 4$  kU  $\text{L}^{-1}$ ; colesterol oxidasa  $\geq 4$  U  $\text{L}^{-1}$  y peroxidasa  $\geq 80$  kU  $\text{L}^{-1}$ ). Las muestras se incubaron a  $25 \pm 2^\circ \text{C}$  por 15 min y se registro la absorbancia a 490 nm. La concentración de colesterol (mg/ml) se calculó utilizando la constante de conversión del kit comercial (Merck, CHOD-PAD).

#### C).- Capacidad osmótica

La presión osmótica se obtuvo con el análisis de 20  $\mu\text{L}$  de hemolinfa en un micro-osmómetro (3 Osmeter, 20 plus). Posteriormente, la capacidad osmótica (CO) se calculó a partir de la diferencia entre la presión osmótica de la hemolinfa y la del agua del medio (Lignot *et al.* 1997; Lignot, 1999).

#### D).- Calidad reproductiva

Se extrajeron ambas mitades (derecha e izquierda) del espermátforo y se pesaron en una balanza analítica (AS120, OHAUS). Se evaluó la calidad espermática, a través del conteo de espermatozoides y de su viabilidad (número de normales, anormales y muertos). El espermátforo fue homogenizado a 1000 rpm en solución libre de calcio: (370 mM NaCl, 15 mM KCl, 8.7 mM  $\text{H}_2\text{BO}_3$ , 4.7 mM NaOH; 40.9 mM  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) (Leung-Trujillo, 1987). Posteriormente se le agregó 0.1 mL de azul de tripan (tripan blue 0.1% en solución salina al 0.9 %). Después de 10 minutos, el conteo y la clasificación de las células espermáticas se realizaron utilizando la cámara de Neubauer y un microscopio de contraste de fase (Micromaster, Fisher Scientific). Las células anormales fueron reconocidas por la presencia de malformaciones de la cabeza o la ausencia del spike, las células muertas por estar teñidas de color azul.



#### D).- Análisis estadístico

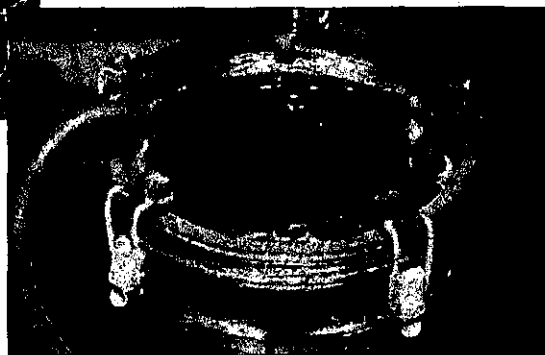
Para cada uno de los componentes de la hemolinfa, se verificó la normalidad de los datos. En los casos donde no se observó normalidad, los valores se transformaron para posteriormente efectuar el análisis de varianza de una vía para cada temperatura, 27 y 31 °C. Las diferencias significativas se trabajaron al 95 % de confianza ( $P < 0.05$ ) (Zar, 1974). Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el programa STATISTICA versión 4.5.

#### IV).- Evaluación del Balance Energético

Los camarones seleccionados para realizar la parte bioenergética ( $N = 10$  en 27 °C;  $N = 4$  en 31 °C), fueron colocados individualmente en las cámaras respirométricas (fig. 2) a partir de la noche del segundo día y allí permanecieron hasta el octavo día del periodo de cautiverio, día en que se realizó el muestreo correspondiente a la parte de los componentes de la hemolinfa (apartado III). Las mediciones de este bioensayo se llevaron a cabo desde el tercero hasta el séptimo día (cuadro 1).



Fig. 2.- Cámara respirométrica usada en los bioensayos.



Durante el lapso del periodo experimental, a excepción del último día (octavo día), a esos animales que habitaron las cámaras, junto con el resto del grupo de cautiverio (tanques), se les suministró calamar fresco-congelado (*Loligo* sp) como dieta, en una ración de 5 % del promedio de la biomasa total, repartida en dos tomas, matutina y vespertina.

Debido a que los camarones de las cámaras y los de las tinas estuvieron sujetos a condiciones experimentales semejantes, durante el bioensayo de 31 °C se presentó un deceso en las cámaras respirométricas, por lo que el camarón fue sustituido por uno de los que estaban en los tanques. Aunque se presentaron dos muertes en la segunda corrida experimental a 27 °C, en este caso no se sustituyeron por estar cercano el fin del bioensayo (día 7).

Las cámaras respirométricas utilizadas para este estudio, tienen 2.5 l de capacidad, y su diseño permitió una evaluación más fina y una fácil colecta del alimento remanente y las heces (fig. 2) (Rosas *et al*, 1998). Aparte de las 5 cámaras, se utilizó una adicional como control. Las 6 cámaras se conectaron a una bomba peristáltica multicanal (Ismatec BV GE) que mantuvo un flujo constante e igual para todas.

Diariamente, las mediciones de concentración de oxígeno y excreción nitrogenada comenzaron a las 8:00 a.m., hora correspondiente a la respuesta en ayuno. Inmediatamente después de la medición, se agregó una fracción del calamar previamente pesado a cada una de las cámaras respirométricas, y se dejó por 30 minutos; el remanente se retiró. Las mediciones continuaron por cada hora, hasta después de la 6a. hora de haber alimentado a los organismos. Se llevó un registro cada día del alimento remanente y las heces para cada cámara respirométrica.

El oxígeno disuelto se determinó con un oxímetro digital (YSI 50±0.01 mg l<sup>-1</sup>) conectado a un sensor polarográfico. La tasa respiratoria se evaluó a partir de la medición del consumo de oxígeno (VO<sub>2</sub>), que se determinó por la diferencia entre la concentración de oxígeno de la entrada ((O<sub>2</sub>)<sub>e</sub>) y salida ((O<sub>2</sub>)<sub>s</sub>) de cada cámara, multiplicada por el flujo de agua (F).

$$VO_2 = ((O_2)_e - (O_2)_s) F$$

Los valores se corrigieron con los de la cámara control. Los resultados de la tasa respiratoria en ayuno (R<sub>RUT</sub>), se expresaron en J d<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> peso seco libre de cenizas (pslc), a partir de una primera transformación del consumo de oxígeno en mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> pslc y en valores calóricos utilizando el coeficiente oxicalórico 3.32 cal mg<sup>-1</sup> O<sub>2</sub> consumido (Elliot y Davison, 1975).

El incremento de calor aparente ( $R_{ICA}$ ) se determinó por la diferencia del máximo valor de consumo de oxígeno obtenido durante el periodo de seis horas de mediciones realizadas con el valor obtenido en el ayuno. Los resultados se expresaron en unidades de energía/tiempo ( $J\ d^{-1}g^{-1}\ pslc$ ), como ya se mencionó en el consumo de oxígeno.

Simultáneamente a las mediciones del consumo de oxígeno, se tomaron muestras de agua para la evaluación de la concentración de amonio, para lo cual se usó la técnica de inyección de flujo/difusión de gas (Hunter y Uglow, 1993); previo a las mediciones se realizó una curva de calibración con concentraciones conocidas de amonio para posteriormente obtener las concentraciones del nitrógeno amoniacal de las muestras.

La tasa de excreción nitrogenada (N) se obtuvo por la diferencia entre la concentración de la entrada ( $(N-NH_3)_e$ ) y salida ( $(N-NH_3)_s$ ) de cada cámara, multiplicada por el flujo continuo (F) del agua de mar:

$$N-NH_3 = ( (N-NH_3)_e - (N-NH_3)_s ) F$$

Los resultados obtenidos se corrigieron por la cámara control y se expresaron individualmente en  $mg\ N-NH_3\ h^{-1}g^{-1}\ pslc$ , transformándose posteriormente en valores calóricos utilizando el factor de conversión  $5.94\ cal^{-1}mg\ N-NH_3$  excretado (Elliot y Davison, 1975), para expresarlos posteriormente en  $J\ d^{-1}g^{-1}\ pslc$ . La excreción nitrogenada postalimentaria (ENPA) se calculó por la diferencia entre la excreción nitrogenada en condiciones de ayuno y el máximo valor obtenido después de la alimentación.

Se calculó la razón O:N para los organismos en ayuno (O:N<sub>ayu</sub>) y alimentados (O:N<sub>ali</sub>), a partir de los valores del consumo de oxígeno y excreción nitrogenada obtenidos en la hora correspondiente al ayuno y del máximo registrado en ambas respuestas metabólicas. Para lo cual, los valores expresados en  $mgO_2\ h^{-1}g^{-1}\ pslc$  y  $mgNH_3\ h^{-1}g^{-1}\ pslc$ , se transformaron en número de átomos de oxígeno consumido y excretado, al utilizar los coeficientes de 62.5 para el consumo de oxígeno y el de 58.9 para el caso de la excreción amoniacal (Mayzaud y Conover, 1988).

A partir de la cuantificación del alimento remanente se estimó la tasa de ingestión del alimento (I), por la diferencia entre las raciones de peso conocido del alimento suministrado y el alimento remanente en cada toma.

Para los diferentes cálculos energéticos fue necesario obtener el peso seco en gramos (ps) de muestras de calamar con peso húmedo conocido (ph). Se deshidrataron en una estufa (Blue M.) a 60 °C hasta peso constante y posteriormente se incineraron en una mufla (Sybron Thermolyne) a 600 °C durante 4 horas para obtener las cenizas y el peso seco libre de cenizas (pslc). Además, se obtuvo su contenido calórico (cal), con ayuda de una bomba calorimétrica (Parr), utilizando 6 muestras de 1 gramo cada una. Igualmente, al término de los 8 días de cautiverio y después de someterse a las evaluaciones de los componentes de la hemolinfa y de obtener su peso húmedo (apartado III), los camarones también pasaron por este mismo proceso.

La Eficiencia de Absorción (E Abs), se determinó a través de la ecuación propuesta por Conover (1966), modificada por Condrey *et al.* (1972):

$$E \text{ Abs} = (I - H / (1 - H) I) 100$$

I = pslc / ps, del alimento suministrado

H = pslc / ps, de las heces producidas por los camarones

Para evitar una subestimación debido a la probable asimilación de las cenizas del alimento, se empleó la corrección de la eficiencia de asimilación (E Abs corr) propuesta por Condrey *et al.* (1972):

$$E \text{ Abs corr} = (E \text{ Abs} / 100) - (A_u / A_f) (H - (1 - I) / (1 - H) 100$$

A<sub>u</sub> = cenizas contenidas en el alimento

A<sub>f</sub> = cenizas contenidas en las heces

A<sub>u</sub>/A<sub>f</sub> = fracción de cenizas asimiladas.

A partir de la evaluación de la I, la E Abs y del valor calórico del alimento, se obtuvo la Absorción (Ab):

$$Ab = (I) (E \text{ Abs}) (\text{Valor calórico del alimento}),$$

Con todo lo anterior, se calculó de manera indirecta la Producción ( $P_T$ ), es decir, la energía potencial canalizada tanto al crecimiento somático como a la reproducción, como sería la formación de estructuras y componentes reproductivos (esperma, espermátforo, etc.).

La  $P$  se estimó por la diferencia entre la asimilación ( $A$ ), que involucra la diferencia de la  $Ab$  con la sumatoria de la excreción nitrogenada de rutina y el postalimentario ( $N$  y  $ENPA$ , respectivamente), y la sumatoria de la tasa respiratoria de rutina ( $R_{RUT}$ ) con las transformaciones mecánicas y bioquímicas del alimento ingerido ( $R_{ICA}$ ) (Lucas, 1996):

$$P_T = A - (R_{RUT} + R_{ICA})$$
$$A = Ab - (ENPA + N)$$

#### A).- Análisis estadístico

En el análisis de los datos los resultados abarcan cinco días, desde el tercero hasta el séptimo día de cautiverio.

Se efectuó un análisis de varianza de dos vías, considerando como criterios de clasificación el efecto del cautiverio y de la temperatura. Se empleó la prueba de rangos múltiples de Duncan para ponderar las diferencias entre los tratamientos. Las diferencias significativas para esta prueba se trabajaron al 95 % de confianza ( $P < 0.05$ ) (Zar, 1974). Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el programa STATISTICA versión 4.5. Cabe mencionar que por cuestiones técnicas ocurridas en la primera corrida experimental de 27 °C, se consideraron en el análisis sólo los cálculos de la  $R_{RUT}$ , la  $R_{ICA}$ , la  $N$ , la  $ENPA$  y la  $I$ , hasta el sexto día experimental. Se compararon los datos del tercer y séptimo día, para identificar el grado de diferencia en las respuestas energéticas entre el inicio de estas mediciones en cautiverio y las correspondientes a un día antes del final de los 8 días consideradas como el periodo experimental. Para ello se eliminaron los valores correspondientes a los animales que murieron durante el experimento.

## RESULTADOS

### 1. Balance energético

Las variaciones diarias de cada individuo para cada elemento del balance energético en cada una de las temperaturas experimentales, 27 y 31 °C, se presentan en el anexo 1. En general, se observan oscilaciones en las diferentes respuestas a través de los días que los organismos permanecieron en las cámaras.

El comportamiento diario de todos los elementos del balance energético para las dos temperaturas experimentales se presenta en la tabla 2. Como se puede apreciar, mientras que la I tendió a aumentar en los organismos expuestos en 27 °C, la Abs, A, y la P, aumentaron para posteriormente bajar al séptimo y último día. En cambio, en 31 °C estos mismos índices presentaron una tendencia a la disminución al quinto día, para luego aumentar y mantenerse ( $P > 0.05$ ).

Por su parte, la N de los camarones mostró una tendencia al incremento continuo en 27 °C mientras que en 31 °C varió diariamente su comportamiento ( $P > 0.05$ ). En 27 °C la ENPA, disminuyó al cuarto día, y después tendió al aumento sin lograr alcanzar el valor inicial, en cambio en 31 °C se mostró una tendencia paulatina al incremento ( $P > 0.05$ ).

Los únicos casos en los que se observó un efecto significativo de la interacción de la temperatura y el cautiverio fue en la  $R_{RUT}$  y en la  $R_{ICA}$  ( $P < 0.05$ ). En 27 °C la  $R_{RUT}$  aumentó perceptiblemente al final del período experimental, con una reducción en el día 5 y 6. En cambio, en la temperatura de 31 °C, los especímenes disminuyeron en más de la mitad el metabolismo de rutina desde el cuarto hasta el séptimo día. En cuanto a la  $R_{ICA}$ , en los organismos mantenidos en 27 °C se observó un ligero incremento al séptimo día de cautiverio, pero en los de 31 °C disminuyó para aumentar drásticamente al último día.

En contraste, la Ef Abs se mantuvo casi constante en ambas temperaturas, oscilando entre 64 y 75 % en los animales expuestos a 27 °C, y entre 63 y 72 % a 31 °C.

A través de la comparación de los elementos que integran el balance energético entre los días 3 y 7 de cautiverio (figs. 5-13), se observa que para la I, Abs, A, y P (figs. 5, 6, 8, 13, respectivamente), hay una tendencia al incremento entre el tercer día y el séptimo ( $P > 0.05$ ).

La  $R_{RUT}$ , que mostró un efecto significativo por la interacción de la temperatura experimental y el día de aclimatación ( $P < 0.05$ ). En los camarones mantenidos a 27 °C incrementó entre el día 3 (235.6 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup>) y el día 7 (402.7 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup>) ( $P < 0.05$ ). En cambio, en aquellos expuestos a 31 °C ocurrió un efecto contrario: el mayor valor se presentó en el tercer día, con 447.6 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup>, y el menor, 225.6 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup>, en el séptimo (Fig. 9).

Por su parte, la  $R_{ICA}$  mostró un aumento significativo debido al cautiverio ( $P < 0.05$ ), siendo la condición experimental de 31 °C la que presentó un incremento considerable: de 15.08 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup> en el tercer día, a 73.9 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup> al día 7, en relación con el observado en 27 °C, que fue de 23.5 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup> a 25.8 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup> (Fig. 10).

La N mostró una tendencia a aumentar en la temperatura de 27 °C, de 47.6 a 86.1 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup>, pero en 31 °C disminuyó de 111.03 a 78.8 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup> ( $P > 0.05$ ) (Fig. 11). En contraste, la ENPA tendió a disminuir de 11.30 a 7.70 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup> en 27 °C pero tendió a aumentar de 4.03 a 10.86 J día<sup>-1</sup> g pslc<sup>-1</sup> en los de 31 °C ( $P > 0.05$ ) (Fig. 12).

Los resultados obtenidos en la razón O:N sugieren que el sustrato metabólico utilizado los camarones en condiciones de ayuno (O:N<sub>ayu</sub>) y después de haber sido alimentados (O:N<sub>ali</sub>) fue de tipo proteico ( $3.49 \pm 0.51 - 15.95 \pm 2.14$ ), independientemente de la temperatura y del día de aclimatación (tabla 3).

A partir de la porción de energía que es canalizada diariamente hacia la producción (tabla 4), se puede apreciar que las proporciones P/I, P/Abs y P/As mostraron una tendencia al aumento durante el periodo de aclimatación en los camarones expuestos a 31 °C. Sin embargo, aunque en animales mantenidos a 27 °C las proporciones tendieron al incremento, luego disminuyeron al final del periodo experimental, es decir, al séptimo día.

Tabla 2.- Comparación diaria de los diferentes componentes del balance energético en machos adultos de *L. setiferus* expuestos a 27 y 31 °C. Promedios  $\pm$  Error estándar

	Día	N	27 °C		31 °C		
I ( $J d^{-1} g pslc^{-1}$ )	3	8	1229.34 <sup>a</sup>	$\pm$ 317.69	3	2761.97 <sup>a</sup>	$\pm$ 137.45
	4	8	1951.98 <sup>a</sup>	$\pm$ 402.67	3	2893.68 <sup>a</sup>	$\pm$ 745.57
	5	8	2050.12 <sup>a</sup>	$\pm$ 536.37	3	2112.69 <sup>a</sup>	$\pm$ 438.19
	6	8	2483.41 <sup>a</sup>	$\pm$ 376.38	4	3149.27 <sup>a</sup>	$\pm$ 242.36
	7	3	2671.21 <sup>a</sup>	$\pm$ 324.49	4	3116.76 <sup>a</sup>	$\pm$ 593.54
Ef Abs (%)	3	3	70 <sup>a</sup>	$\pm$ 1.51	3	63 <sup>a</sup>	$\pm$ 5.63
	4	3	64 <sup>a</sup>	$\pm$ 6.41	3	69 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.51
	5	3	71 <sup>a</sup>	$\pm$ 1.61	3	72 <sup>a</sup>	$\pm$ 1.99
	6	3	75 <sup>a</sup>	$\pm$ 2.99	4	70 <sup>a</sup>	$\pm$ 0.33
	7	3	65 <sup>a</sup>	$\pm$ 7.38	4	70 <sup>a</sup>	$\pm$ 1.27
Abs ( $J d^{-1} g pslc^{-1}$ )	3	3	1366.69 <sup>a</sup>	$\pm$ 455.57	3	1742.52 <sup>a</sup>	$\pm$ 68.39
	4	3	1181.02 <sup>a</sup>	$\pm$ 492.03	3	2002.29 <sup>a</sup>	$\pm$ 527.71
	5	3	1524.09 <sup>a</sup>	$\pm$ 318.23	3	1528.94 <sup>a</sup>	$\pm$ 353.72
	6	3	2155.77 <sup>a</sup>	$\pm$ 211.82	4	2205.33 <sup>a</sup>	$\pm$ 166.42
	7	3	1697.83 <sup>a</sup>	$\pm$ 69.52	4	2174.19 <sup>a</sup>	$\pm$ 390.46
A ( $J d^{-1} g pslc^{-1}$ )	3	3	1279.08 <sup>a</sup>	$\pm$ 450.03	3	1631.49 <sup>a</sup>	$\pm$ 100.51
	4	3	1139.75 <sup>a</sup>	$\pm$ 484.20	3	1932.88 <sup>a</sup>	$\pm$ 918.19
	5	3	1479.57 <sup>a</sup>	$\pm$ 313.60	3	1476.34 <sup>a</sup>	$\pm$ 346.12
	6	3	2073.96 <sup>a</sup>	$\pm$ 222.77	4	2091.45 <sup>a</sup>	$\pm$ 151.68
	7	3	1604.02 <sup>a</sup>	$\pm$ 79.68	4	2084.53 <sup>a</sup>	$\pm$ 385.02
R <sub>RUT</sub> ( $J d^{-1} g pslc^{-1}$ )	3	8	235.59 <sup>b</sup>	$\pm$ 18.14	3	447.55 <sup>a</sup>	$\pm$ 143.94
	4	8	398.35 <sup>a</sup>	$\pm$ 34.73	3	406.72 <sup>a</sup>	$\pm$ 23.12
	5	8	339.29 <sup>ab</sup>	$\pm$ 27.68	3	350.71 <sup>ab</sup>	$\pm$ 99.25
	6	8	299.02 <sup>ab</sup>	$\pm$ 38.61	4	338.19 <sup>ab</sup>	$\pm$ 41.29
	7	3	402.77 <sup>a</sup>	$\pm$ 40.80	4	225.57 <sup>ab</sup>	$\pm$ 8.03
R <sub>ICA</sub> ( $J d^{-1} g pslc^{-1}$ )	3	8	23.48 <sup>bc</sup>	$\pm$ 6.71	3	15.08 <sup>c</sup>	$\pm$ 8.75
	4	8	10.86 <sup>c</sup>	$\pm$ 4.74	3	49.94 <sup>ab</sup>	$\pm$ 6.77
	5	8	19.27 <sup>bc</sup>	$\pm$ 6.01	3	33.97 <sup>bc</sup>	$\pm$ 3.02
	6	8	37.66 <sup>bc</sup>	$\pm$ 9.61	4	29.67 <sup>bc</sup>	$\pm$ 3.98
	7	3	25.84 <sup>bc</sup>	$\pm$ 9.87	4	73.97 <sup>a</sup>	$\pm$ 15.80
ENPA ( $J d^{-1} g pslc^{-1}$ )	3	8	11.30 <sup>a</sup>	$\pm$ 3.21	3	4.03 <sup>a</sup>	$\pm$ 2.59
	4	8	3.22 <sup>a</sup>	$\pm$ 1.18	3	6.93 <sup>a</sup>	$\pm$ 4.60
	5	8	5.01 <sup>a</sup>	$\pm$ 1.84	3	6.40 <sup>a</sup>	$\pm$ 2.76
	6	8	5.21 <sup>a</sup>	$\pm$ 1.81	4	9.51 <sup>a</sup>	$\pm$ 5.34
	7	3	7.70 <sup>a</sup>	$\pm$ 2.03	4	10.86 <sup>a</sup>	$\pm$ 4.47
N ( $J d^{-1} g pslc^{-1}$ )	3	8	47.66 <sup>a</sup>	$\pm$ 17.60	3	111.03 <sup>a</sup>	$\pm$ 32.12
	4	8	55.54 <sup>a</sup>	$\pm$ 11.26	3	62.47 <sup>a</sup>	$\pm$ 8.76
	5	8	53.07 <sup>a</sup>	$\pm$ 5.54	3	46.20 <sup>a</sup>	$\pm$ 10.67
	6	8	72.31 <sup>a</sup>	$\pm$ 11.98	4	108.76 <sup>a</sup>	$\pm$ 27.07
	7	3	86.11 <sup>a</sup>	$\pm$ 12.86	4	78.80 <sup>a</sup>	$\pm$ 10.91
P <sub>I</sub> ( $J d^{-1} g pslc^{-1}$ )	3	3	1048.49 <sup>a</sup>	$\pm$ 462.84	3	1168.85 <sup>a</sup>	$\pm$ 235.70
	4	3	743.44 <sup>a</sup>	$\pm$ 428.34	3	1476.22 <sup>a</sup>	$\pm$ 969.95
	5	3	1130.30 <sup>a</sup>	$\pm$ 305.16	3	1091.67 <sup>a</sup>	$\pm$ 246.52
	6	3	1692.58 <sup>a</sup>	$\pm$ 298.01	4	1723.59 <sup>a</sup>	$\pm$ 137.14
	7	3	1175.42 <sup>a</sup>	$\pm$ 111.50	4	1784.99 <sup>a</sup>	$\pm$ 369.10

Promedios seguidos de letras diferentes en cada rubro indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

I Ingestión  
 E Abs Eficiencia de absorción  
 Abs Absorción  
 A Asimilación  
 R<sub>RUT</sub> Respiración de rutina  
 R<sub>ICA</sub> Incremento de calor aparente  
 ENPA Excreción nitrogenada postalimentaria  
 N Excreción nitrogenada  
 P<sub>I</sub> Producción



Tabla 3.- Comportamiento diario de la razón O:N en machos adultos de *L. setiferus* en condiciones de ayuno y alimentados, expuestos a 27 y 31 °C. Promedios±Error estándar

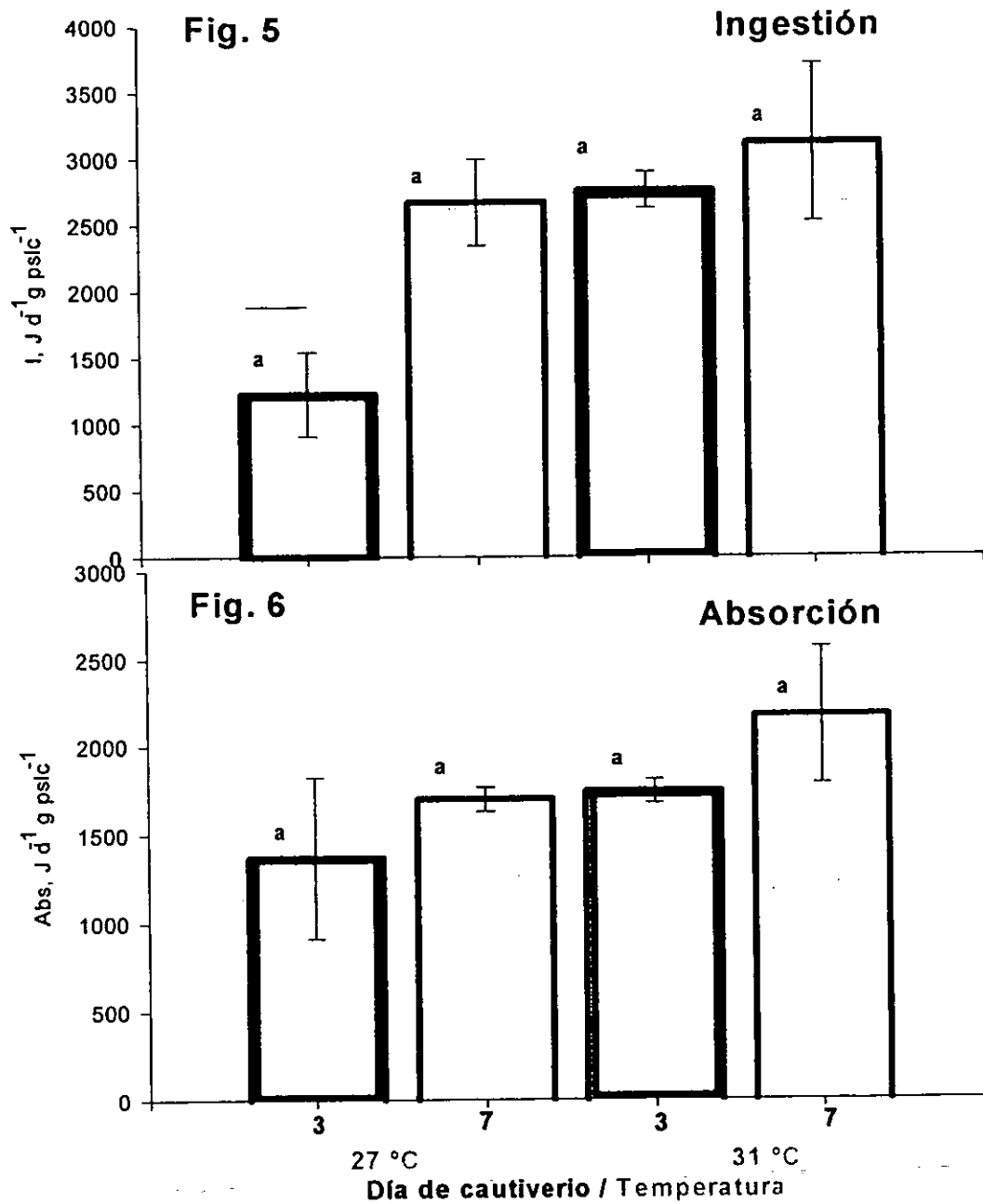
O:Nayu	Día	27 °C				31 °C			
		N				N			
	3	8	5.17	±	0.54	3	7.57	±	0.27
	4	8	15.95	±	2.14	3	12.43	±	0.30
	5	8	12.66	±	1.18	3	14.64	±	3.19
	6	8	8.51	±	1.17	4	8.21	±	1.48
	7	3	9.07	±	1.01	4	7.01	±	1.25
O:Nali	Día								
	3	8	3.49	±	0.51	3	11.39	±	0.88
	4	8	12.46	±	1.31	3	13.40	±	2.24
	5	8	11.74	±	1.17	3	12.58	±	0.75
	6	8	11.21	±	1.09	4	8.90	±	1.32
	7	3	8.59	±	1.14	4	9.69	±	1.70

Tabla 4.- Proporción de la energía canalizada a la Producción a partir de la Ingestión, Absorción y Asimilación, en machos adultos de *L. setiferus* expuestos a 27 y 31 °C. Promedios±Error estándar

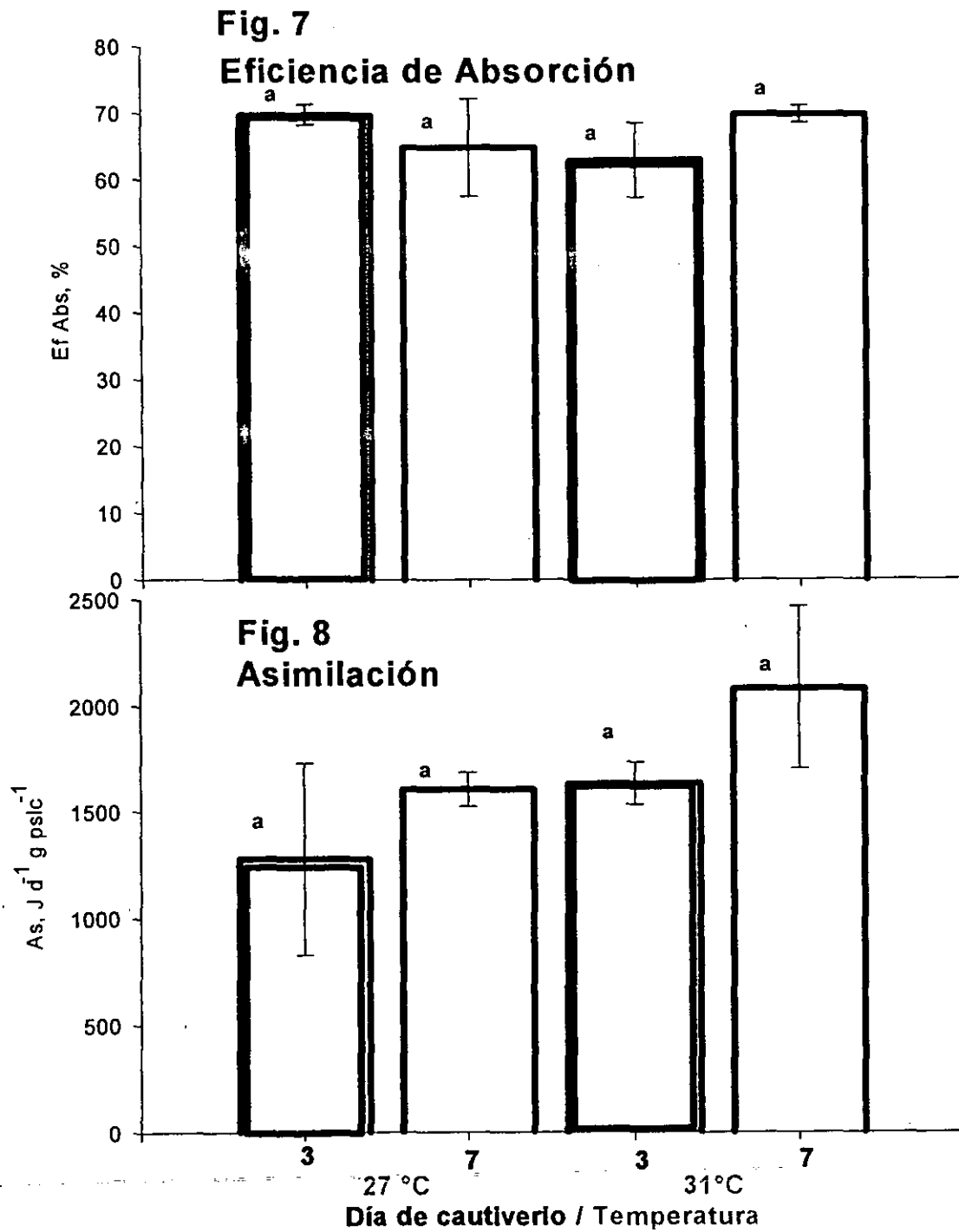
P/I (%)	Día	27 °C				31 °C			
		N				N			
	3	3	48 <sup>a</sup>	±	11.2	3	43 <sup>a</sup>	±	10.7
	4	3	36 <sup>a</sup>	±	8.0	3	45 <sup>a</sup>	±	13.4
	5	3	51 <sup>a</sup>	±	5.8	3	51 <sup>a</sup>	±	1.0
	6	3	58 <sup>a</sup>	±	6.5	4	55 <sup>a</sup>	±	1.61
	7	3	45 <sup>a</sup>	±	5.0	4	56 <sup>a</sup>	±	1.57
P/Abs (%)	Día								
	3	3	68 <sup>a</sup>	±	15	3	67 <sup>a</sup>	±	10.9
	4	3	55 <sup>a</sup>	±	9.5	3	65 <sup>a</sup>	±	18.7
	5	3	72 <sup>a</sup>	±	7.6	3	72 <sup>a</sup>	±	0.9
	6	3	77 <sup>a</sup>	±	5.7	4	78 <sup>a</sup>	±	2.5
	7	3	69 <sup>a</sup>	±	3.7	4	80 <sup>a</sup>	±	3.5
P/A (%)	Día								
	3	3	73 <sup>a</sup>	±	14.5	3	71 <sup>a</sup>	±	10.1
	4	3	57 <sup>b</sup>	±	9.3	3	68 <sup>a</sup>	±	17.9
	5	3	74 <sup>a</sup>	±	7.4	3	74 <sup>a</sup>	±	0.9
	6	3	80 <sup>a</sup>	±	5.3	4	82 <sup>a</sup>	±	2.2
	7	3	72 <sup>a</sup>	±	3.4	4	84 <sup>a</sup>	±	2.9

Promedios seguidos de letras diferentes en cada rubro indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

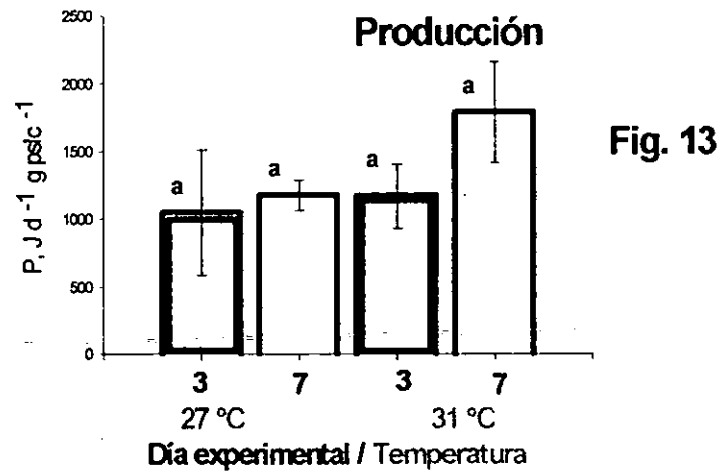
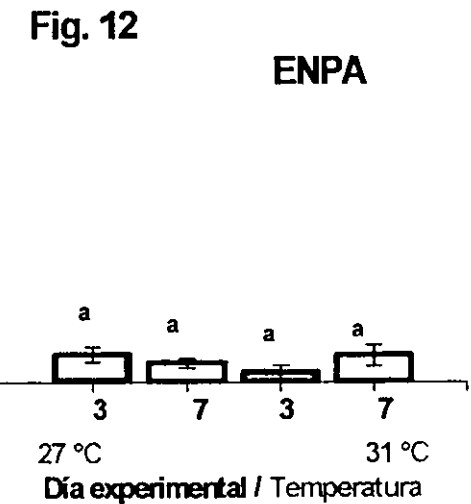
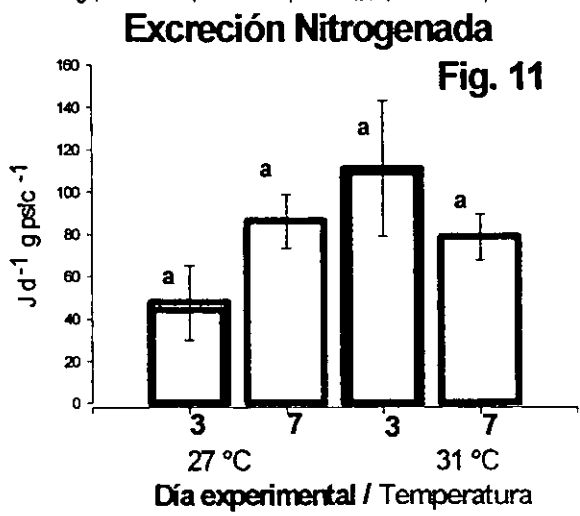
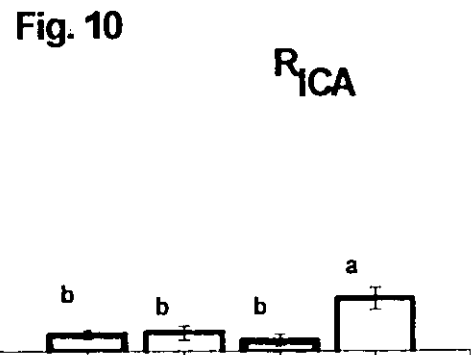
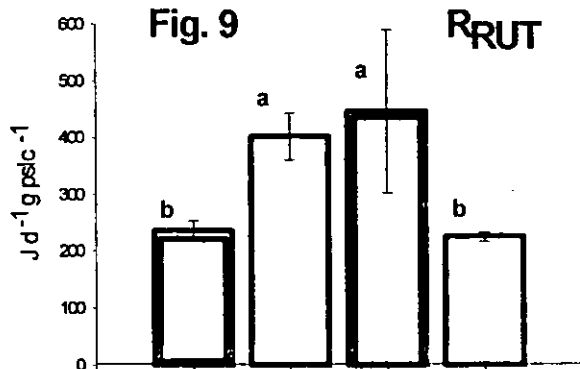
I Ingestión  
Abs Absorción  
A Asimilación  
P Producción



Figs. 5 y 6. Comportamiento de la Ingestión y la Absorción de machos adultos de *L. setiferus* mantenidos en 27 y 31 °C en los días 3 y 7 de cautiverio. Valores promedio (J d<sup>-1</sup> g psc<sup>-1</sup>) ± E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas (P 0.05).



Figs. 7 y 8. Comportamiento de la Eficiencia de Absorción y la Asimilación de machos adultos de *L. setiferus* mantenidos en 27 y 31 °C, en los días 3 y 7 de cautiverio. Valores promedio ( $J d^{-1} g pslc^{-1}$ ). Diferentes letras indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )



Figs. 9-13. Comportamiento de  $R_{RUT}$ ,  $R_{ICA}$ , ENPA, Excreción Nitrogenada y la Producción, en machos adultos de *L. setiferus* mantenidos en 27 y 31 °C en los días 3 y 7 de cautiverio. Valores promedio (J d<sup>-1</sup> g psc<sup>-1</sup>) ± E.S. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

## II.- Componentes de la hemolinfa

La tabla 5 presenta la comparación de los diferentes componentes de la hemolinfa evaluados en los camarones mantenidos en las cámaras respirométricas y en los tanques, en las dos temperaturas experimentales (27 y 31 °C). Resalta que en ninguno de los componentes se presentó diferencia significativa ( $P < 0.05$ ). Se observa, además, que no existe un patrón homogéneo de aumento o disminución por el efecto de la condición generada ni por las cámaras, ni por la temperatura, excepto en los cuatro tipos de células sanguíneas de los camarones mantenidos en los tanques y expuestos a 27 °C los cuales presentan un valor mayor que los de las cámaras.

Para la evaluación del posible efecto estresante de las cámaras respirométricas, se realizó un análisis en aquellos componentes de la hemolinfa que han sido considerados como indicadores de estrés, para lo cual se incluyó también a la línea base (LB) (tabla 6). Es notorio que los valores promedio de la glucosa, el lactato y la CO-hipo, entre ambos tipos de recipientes en cada una de las temperaturas experimentales son similares y no presentan diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). Las diferencias significativas se observaron únicamente con respecto a la LB, en la cual los valores del lactato y la glucosa fueron significativamente mayores en los bioensayos de 27 y 31 °C, respectivamente, y la CO-Hipo fue significativamente menor tanto en 27 como en 31 °C ( $P < 0.05$ ).

A partir de estos resultados se consideró como un solo grupo a los camarones mantenidos en las cámaras y en los tanques, denominándose como cautiverio, y se contrastó entonces con la LB. En este caso, los resultados presentaron tendencias diferentes, mostrándose un efecto significativo por el cautiverio en casi todos los componentes de la hemolinfa ( $P < 0.05$ ) (anexo 2; figs. 14-20).

Tabla 5.- Comparación de los diferentes componentes de la hemolinfa evaluados en los camarones que se mantuvieron en las cámaras respirométricas y en los tanques durante 8 días de cautiverio, expuestos a 27 y 31 °C. Promedios  $\pm$  Error estándar

		27 °C				31 °C			
<b>INMUNOLOGICOS</b>									
HT	Cámara	7	25655 °	$\pm$	10108	4	70597 °	$\pm$	9613
cel mm <sup>-3</sup>	Tanque	11	36768 °	$\pm$	10361	10	73318 °	$\pm$	7665
CG	Cámara	7	2057 °	$\pm$	738	4	7000 °	$\pm$	1052
cel mm <sup>-3</sup>	Tanque	11	3055 °	$\pm$	933	10	5520 °	$\pm$	498
CSG	Cámara	7	13486 °	$\pm$	4982	4	31600 °	$\pm$	2540
cel mm <sup>-3</sup>	Tanque	11	17818 °	$\pm$	5075	10	30080 °	$\pm$	2421
CH	Cámara	7	8571 °	$\pm$	3677	4	33200 °	$\pm$	5332
cel mm <sup>-3</sup>	Tanque	11	9527 °	$\pm$	2947	10	34400 °	$\pm$	4223
FO	Cámara	7	1.05 °	$\pm$	0.24	4	0.68 °	$\pm$	0.16
DO 490 nm	Tanque	11	0.58 °	$\pm$	0.16	10	0.74 °	$\pm$	0.14
<b>BIOQUIMICOS</b>									
Calcio	Cámara	7	0.71 °	$\pm$	0.42	4	1.73 °	$\pm$	0.94
mg ml <sup>-1</sup>	Tanque	11	0.34 °	$\pm$	0.08	9	1.57 °	$\pm$	0.26
Triacilglicéridos	Cámara	7	0.23 °	$\pm$	0.02	4	0.30 °	$\pm$	0.03
mg ml <sup>-1</sup>	Tanque	11	0.30 °	$\pm$	0.05	10	0.25 °	$\pm$	0.05
Colesterol	Cámara	7	0.46 °	$\pm$	0.09	4	1.03 °	$\pm$	0.11
mg ml <sup>-1</sup>	Tanque	11	0.92 °	$\pm$	0.22	10	0.91 °	$\pm$	0.17
Proteínas	Cámara	7	293.2 °	$\pm$	115.2	4	249.1 °	$\pm$	25.3
mg ml <sup>-1</sup>	Tanque	11	413.8 °	$\pm$	84.3	10	207.8 °	$\pm$	13.0
Glucosa	Cámara	7	0.10 °	$\pm$	0.04	4	0.08 °	$\pm$	0.01
mg ml <sup>-1</sup>	Tanque	11	0.14 °	$\pm$	0.04	10	0.08 °	$\pm$	0.01
Lactato	Cámara	7	0.03 °	$\pm$	0.01	4	0.08 °	$\pm$	0.04
mg ml <sup>-1</sup>	Tanque	10	0.03 °	$\pm$	0.00	10	0.06 °	$\pm$	0.01
CO-Hipo	Cámara	7	-196.7 °	$\pm$	8.8	4	-118.7 °	$\pm$	11.1
mOsm kg <sup>-1</sup>	Tanque	11	-179.1 °	$\pm$	12.6	10	-126.8 °	$\pm$	5.8

Promedios seguidos de letra semejante indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

Tabla 6.- Indicadores de estrés en el grupo de LB, y en los camarones que se mantuvieron en los tanques y en las cámaras respirométricas durante los 8 días de cautiverio. Promedios  $\pm$  Error estándar

	27 °C				31 °C			
	N				N			
<b>Glucosa mg ml<sup>-1</sup></b>								
Cámara	7	0.10 <sup>a</sup>	$\pm$	0.04	4	0.08 <sup>b</sup>	$\pm$	0.01
Tanque	11	0.14 <sup>a</sup>	$\pm$	0.04	10	0.08 <sup>b</sup>	$\pm$	0.01
LB	57	0.14 <sup>a</sup>	$\pm$	0.02	27	0.12 <sup>a</sup>	$\pm$	0.02
<b>Lactato mg ml<sup>-1</sup></b>								
Cámara	7	0.03 <sup>b</sup>	$\pm$	0.01	4	0.08 <sup>a</sup>	$\pm$	0.04
Tanque	10	0.03 <sup>b</sup>	$\pm$	0.00	10	0.06 <sup>a</sup>	$\pm$	0.01
LB	58	0.07 <sup>a</sup>	$\pm$	0.01	24	0.08 <sup>a</sup>	$\pm$	0.02
<b>CO-hipo mOsm g<sup>-1</sup></b>								
Camara	7	-196.7 <sup>b</sup>	$\pm$	8.76	4	-118.7 <sup>a</sup>	$\pm$	11.07
Tanque	11	-179.1 <sup>b</sup>	$\pm$	12.61	10	-126.8 <sup>a</sup>	$\pm$	5.83
LB	58	-116.5 <sup>a</sup>	$\pm$	15.29	27	-34.11 <sup>b</sup>	$\pm$	6.56

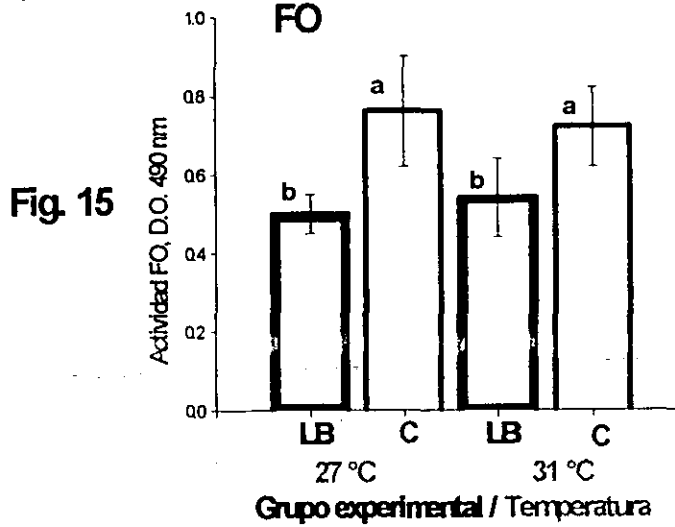
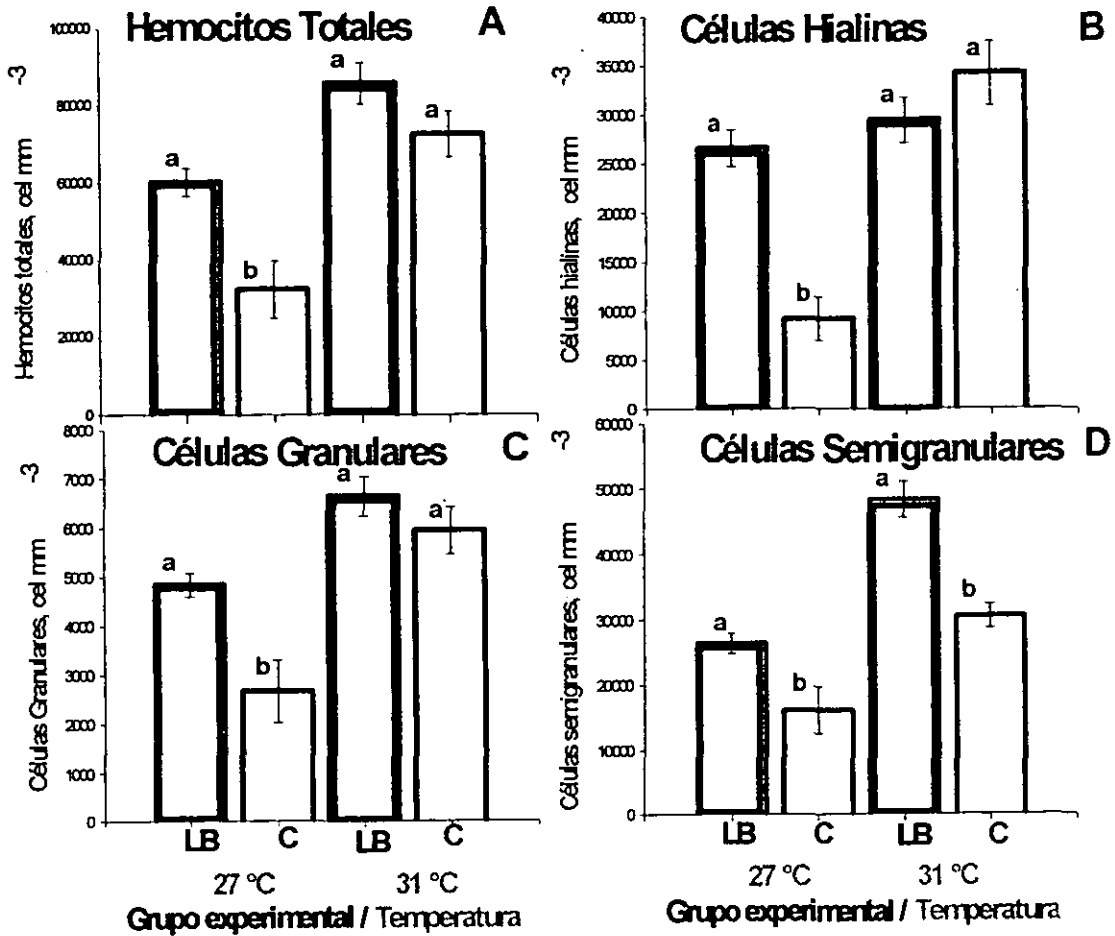
Promedios seguidos de letras diferentes en cada rubro indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ )

Después de 8 días, el total de células del tejido hematopoyético disminuyó significativamente en relación con la LB en los animales expuestos a 27 °C ( $P < 0.05$ ) (anexo 2; fig. 14A a 14D). La reducción de los hemocitos totales y las células granulares en relación con los camarones en cautiverio resultó ser de casi un 45 %, mientras que las células semigranulares, disminuyeron en un 39 %.

Por su parte, en los camarones mantenidos en 31 °C, a excepción de las células hialinas en donde se presentó un aumento no significativo de un 14 %, mostraron también una reducción en el total de las células presentes en la hemolinfa (15 %), en las células granulares (10 %) y semigranulares (37 %), estas últimas con una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) (anexo 2; figs. 14A a 14D).

La actividad de la fenoloxidasa aumentó significativamente por efecto del cautiverio ( $P < 0.05$ ) en ambas temperaturas (anexo 2; fig. 15). Este aumento fue de mayor magnitud en los camarones expuestos a 27 °C (50 %) que en los de 31 °C (25 %).

**Figs. 14**



Figs. 14 (A-D) y 15. Comparación entre la línea Base (LB) y Cautiverio (C) en las dos temperaturas experimentales (27 y 31 °C) de los elementos de la respuesta inmune de machos adultos de *L. setiferus*: A) hemocitos totales, B) células hialinas, C) granulares, D) semigranulares, 12) actividad de la fenoloxidasasa (FO). Valores promedio  $\pm$  E.S. Distintas letras entre cada grupo experimental indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).



Con respecto al calcio presente en la hemolinfa, se observa que en 27 °C experimentó una ligera disminución no significativa ( $P > 0.05$ ): de 0.59 mg/L en LB a 0.48 mg/L en el grupo de cautiverio (anexo 2; fig. 19). En contraparte, su concentración aumentó significativamente un 327 % en 31 °C, de 0.49 mg L<sup>-1</sup> a 1.62 mg L<sup>-1</sup> al final del experimento ( $P < 0.05$ ) (anexo 2; Fig. 19).

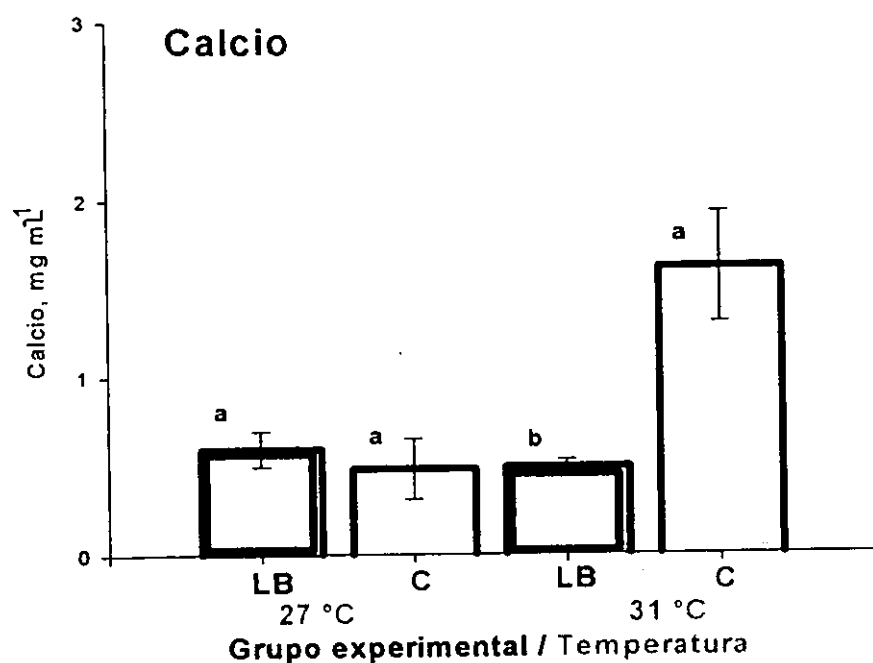


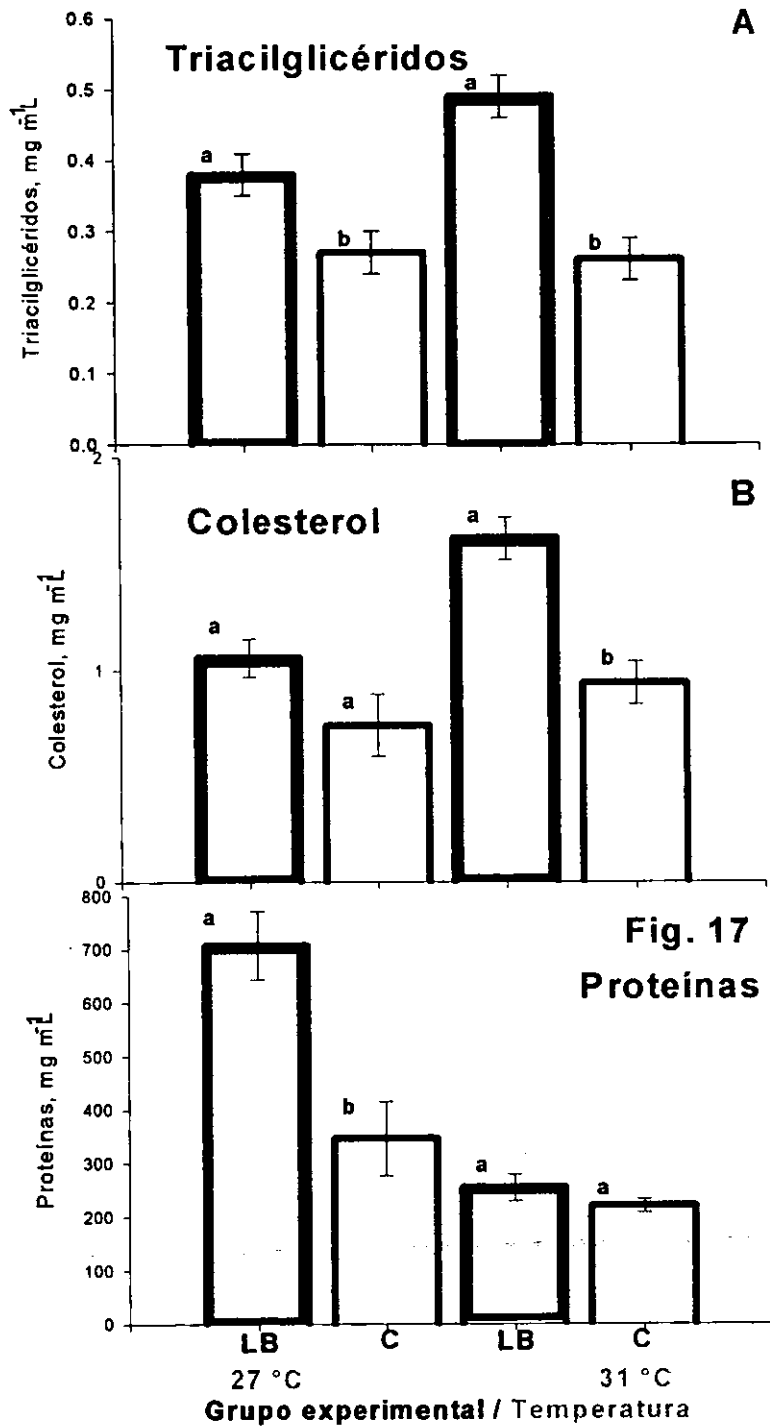
Fig. 19.- Concentración de Calcio en la hemolinfa de machos adultos de *L. setiferus*, entre los grupos línea base (LB) y cautiverio (C) para cada una de las temperaturas experimentales (27 y 31 °C). Valores promedio (mg mL<sup>-1</sup>) ± E.S. Letras diferentes en cada grupo experimental indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

La concentración de triacilglicéridos presentó una disminución significativa por efecto del cautiverio, tanto a 27 como en 31 °C ( $P < 0.05$ ) (anexo 2; Fig. 16A), siendo esta baja de similar magnitud en ambas temperaturas: 41 % en 27 °C (de 0.38 mg L<sup>-1</sup> a 0.27 mg L<sup>-1</sup>), y 47 % en 31 °C (de 0.49 mg L<sup>-1</sup> a 0.26 mg L<sup>-1</sup>).

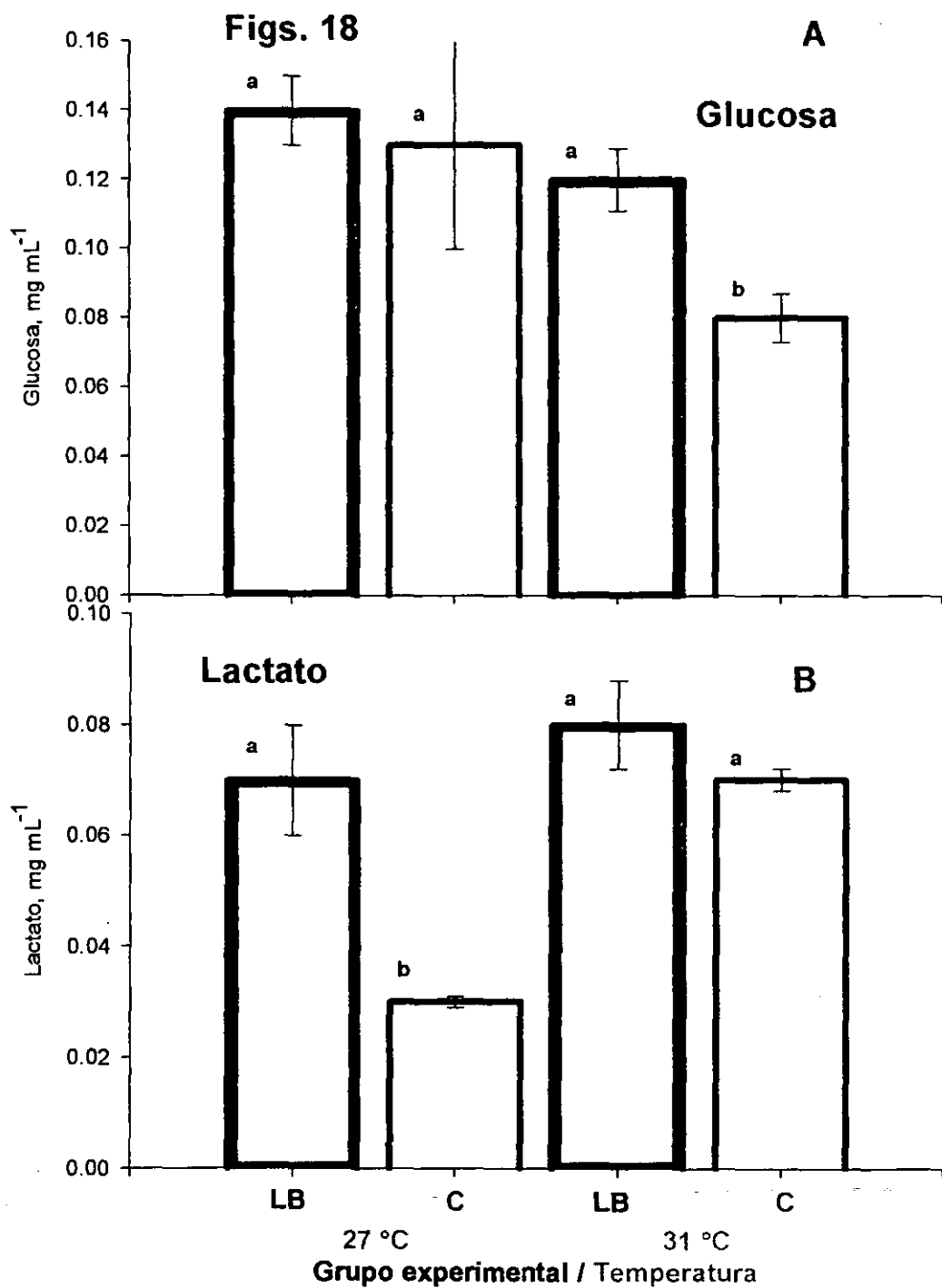
En los animales en cautiverio expuestos a las dos diferentes temperaturas se observó una disminución del colesterol ( $P < 0.05$ ) (anexo 2; fig. 16B), la cual fue más severa y significativa en 31 °C (42 %) ( $P < 0.05$ ) que a la menor temperatura (30 %) ( $P > 0.05$ ), en donde no fue significativa.

Con respecto a las proteínas, ocurrió casi lo mismo que con la mayoría de los metabolitos evaluados, se observó una disminución en la concentración al final del cautiverio (anexo 2; fig. 17). Es notable que el porcentaje de disminución fue mucho mayor en 27 °C (casi un 50 %), donde la concentración de proteínas bajó significativamente de 707.3 mg L<sup>-1</sup> a 345.8 mg L<sup>-1</sup> ( $P < 0.05$ ). En tanto que en 31 °C, sólo fue de un 14 %: el valor cambió de 254.8 mg L<sup>-1</sup> a 219.6 mg L<sup>-1</sup>, sin que fuera significativo ( $P > 0.05$ ).

En lo referente a la glucosa y el lactato de la hemolinfa evaluados en este estudio, ambos disminuyeron por efecto del cautiverio en las dos temperaturas experimentales ( $P < 0.05$ ) (anexo 2; figs. 18A y 18B). Mientras que la glucosa en animales en condiciones de cautiverio y expuestos a 27 °C, presentó una ligera baja no significativa ( $P > 0.05$ ) (7 %; 0.14 mg L<sup>-1</sup> en LB a 0.13 mg L<sup>-1</sup> en cautiverio), en aquellos que estuvieron a 31 °C, este metabolito disminuyó significativamente un 32 % ( $P < 0.05$ ). El lactato, por su parte, disminuyó significativa y abruptamente en 27 °C, pues bajó de un valor de 0.07 mg L<sup>-1</sup> a sólo 0.03 mg L<sup>-1</sup> (63 %) ( $P < 0.05$ ); en cambio, la baja en la concentración de este indicador en animales mantenidos en 31 °C fue de mucho menor magnitud y no significativa ( $P > 0.05$ ), pues varió de 0.08 mg L<sup>-1</sup> a 0.07 mg L<sup>-1</sup>, lo cual representa únicamente un 17 % (anexo 2; fig. 18B).



Figs. 16 (A-B) y 17.- Concentración de triacilglicéridos(A), colesterol (B), y proteínas (15) en la hemolinfa de machos adultos de *L. setiferus*. Comparación entre los grupos Línea Base (LB) y Cautiverio en las dos temperaturas experimentales (27 y 31 °C). Valores promedio (mg mL<sup>-1</sup>) ± E.S. Letras diferentes en cada temperatura experimental indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).



Figs. 18 A y B.- Concentración de glucosa (A) y lactato (B) en la hémolifa de machos adultos de *L. setiferus*. Comparación entre los grupos Línea Base (LB) y Cautiverio (C) en las dos temperaturas experimentales (27 y 31 °C). Valores promedio (mg mL<sup>-1</sup>) ± E.S. Letras diferentes en cada grupo experimental indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

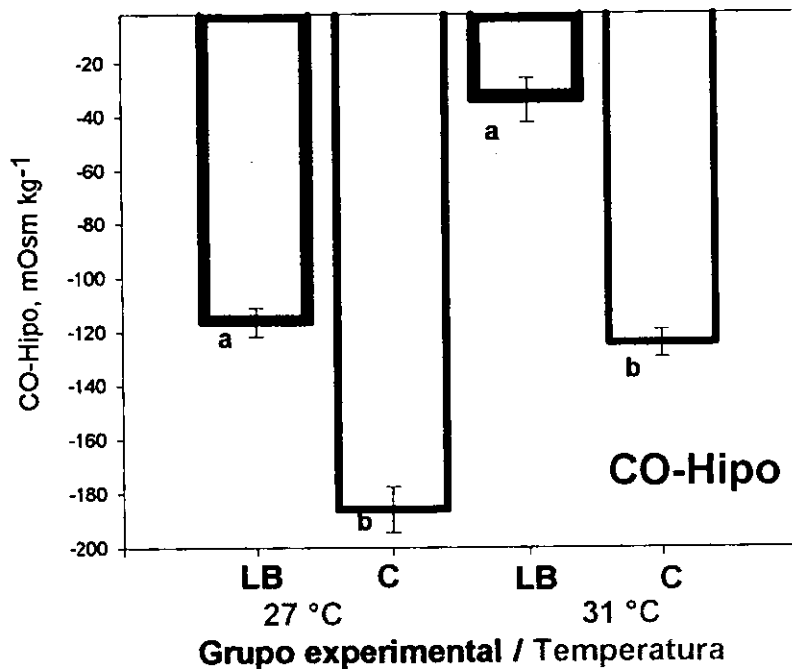


Fig. 20.- Capacidad osmótica hipo, (CO-Hipo) observada en machos adultos de *L. setiferus*. Comparación entre los grupos Línea Base (LB) y Cautiverio (C) en las dos temperaturas experimentales (27 y 31 °C). Valores promedio (mOsm kg<sup>-1</sup>) ± E.S. Letras diferentes en cada grupo experimental indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

La capacidad osmótica presentó diferencias significativas por el cautiverio ( $P < 0.05$ ) (anexo 2; fig. 20). En los animales expuestos a 31 °C, aumentó un 73 %, mientras que en aquellos que se mantuvieron a 27 °C, la CO incrementó un 37 %, en relación al período de aclimatación.

### III.- Calidad reproductiva

Cada una de las variables de la caracterización reproductiva no mostraron diferencias significativas en cautiverio y temperatura, por ello se agruparon los valores de la LB y cautiverio de cada temperatura experimental, los resultados se muestran en la tabla 7. De acuerdo a este

agrupamiento, no se presentaron diferencias significativas en ninguno de los elementos reproductivos ( $P > 0.05$ ).

Los camarones que formaron parte de la corrida experimental de 31 °C, tuvieron en promedio un mayor peso del espermatóforo, 37.10 mg, en relación con 35.93 mg del grupo de los camarones de 27 °C. En ambos grupos, el total de células espermáticas fue  $3.2 \times 10^6$  y  $3.0 \times 10^6$ , para 27 y 31 °C, respectivamente. Sin embargo, en 31 °C el porcentaje de células normales fue mayor (76.6 %) que en 27 °C (59.4 %), lo que sin duda se reflejó en los porcentajes correspondientes al número de células anormales y muertas, en donde el menor porcentaje para ambas temperaturas se presentó en las células muertas, 0.43 % para 27 °C, y 0.10 % para 31 °C.

Tabla 7. Caracterización reproductiva de los machos adultos de *L. setiferus* en cada temperatura experimental, 27 y 31 °C. (LB y bioensayos en cautiverio). Promedios  $\pm$  Error estándar

	27 °C		31 °C	
	N		N	
Espermatóforo (mg)	43	35.93 <sup>a</sup> $\pm$ 5.48	27	37.10 <sup>a</sup> $\pm$ 7.14
Células normales/espermatóforo ( $\times 10^6$ )	42	1.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.37	27	2.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.52
Células anormales/espermatóforo ( $\times 10^6$ )	42	1.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.21	27	0.64 <sup>a</sup> $\pm$ 0.11
Células muertas/espermatóforo ( $\times 10^6$ )	42	0.014 <sup>a</sup> $\pm$ 0.009	27	0.003 <sup>a</sup> $\pm$ 0.002
Total de células/espermatóforo ( $\times 10^6$ )	42	3.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.46	27	3.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.53

Promedios seguidos de distinta letra en mismo renglón, indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

## DISCUSION

Después de la captura, los machos adultos de *L. setiferus* despliegan diversos mecanismos que les permiten ajustarse fisiológicamente a las condiciones de cautiverio. En el presente estudio se ha puesto en evidencia que durante los primeros 8 días se modificó el metabolismo energético y el sistema inmune, como se reflejó a través de los parámetros del balance energético y de los diversos componentes sanguíneos medidos.

La aclimatación es un proceso en el que ocurren cambios compensatorios morfológicos, bioquímicos o biofísicos que permiten la constancia en las funciones después de un cambio prolongado en un ambiente controlado (Vernberg, 1975; Prosser, 1991). Es una condición individual en la que cada organismo tiene diferentes capacidades para responder a los cambios ambientales, y con el objeto de estudiar este proceso, se realizaron mediciones individuales diarias de diferentes parámetros del metabolismo energético en camarones bajo cautiverio. Se observó que la magnitud de las respuestas dependió de las características de cada individuo (Anexo 1). En un estudio reciente Pascual *et al.* (1998) demostró que existe una alta variabilidad individual de la calidad reproductiva de los machos de esta especie la cual hace que cada animal responda de manera distinta a la aclimatación en cautiverio. Resultados similares fue reportado por Alfaro (1993) para *L. stylirostris*, quien concluye que la alta variabilidad de los componentes de la calidad espermática hacen difícil poder establecer los parámetros de selección de machos para la producción de larvas.

Como parte de la variabilidad individual, además, fue factible observar el deterioro que experimentaron los camarones que no se aclimataron durante este tiempo y murieron. De acuerdo con los resultados presentados en el anexo 1, en los organismos expuestos en la segunda corrida experimental a 27 °C, uno de los camarones presentó una reducción paulatina de la tasa de ingestión, la cual se manifestó entre el segundo y tercer día de haber sido colocado en la cámara metabólica (4o. y 5o. día de cautiverio). No se observaron alteraciones evidentes en la tasa respiratoria ni en la excreción nitrogenada en este animal, lo cual permite pensar que durante este período el camarón intentó mantener la homeostasis energética a pesar de no contar con energía proveniente del alimento. El otro organismo que murió, mostró un comportamiento distinto (Anexo 1). Un aumento de la tasa de ingestión del alimento previo a la

muerte pone en evidencia que factores internos asociados a las necesidades de energía metabólica afectaron de manera decisiva en la capacidad de aclimatación de este organismo. Aunque a la fecha no se cuenta con información que permita establecer con precisión las razones de estas alteraciones, se tiene conocimiento de que a pesar de los ajustes de resistencia que implican la sobrevivencia del organismo, puede ser inevitable la muerte como consecuencia del tiempo de exposición al nuevo ambiente.

Con el fin de observar los cambios que ocurren durante el proceso de aclimatación en los camarones cautivos, los resultados se analizaron desde la óptica de las variaciones diarias para el grupo de individuos expuestos a las dos temperaturas experimentales (Tabla 2). Como se puede apreciar, a excepción de la  $R_{RUT}$  y la  $N$ , los valores de los diferentes elementos del balance energético en los camarones expuestos a 31 °C, son más altos en cada uno de los elementos en relación con los obtenidos en los expuestos a 27 °C, lo cual concuerda con la respuesta característica de los poiquiloterms ante el aumento en la temperatura (Fry, 1947).

El proceso de ajuste energético se analizó únicamente a partir de la comparación entre el día 3 y el día 7 de cautiverio (figs. 5-13). A través de este análisis se identificó una tendencia al aumento en la tasa de ingestión ( $I$ ) en relación con el cautiverio y la temperatura ( $P > 0.05$ ) (fig. 5). Vernberg y Piyatiratitivorakul (1998) reportaron que la  $I$  de *Palaemonetes pugio* se vio alterada por la temperatura, produciendo un incremento rápido de la  $I$  asociado con un aumento de la temperatura de 15 a 28 °C. Sin embargo, la regulación de la energía ingerida en crustáceos no es muy clara, si bien la temperatura acelera la tasa de ingestión de alimento, la cantidad de energía que realmente es asimilada es influenciada por otros factores como el tamaño corporal, la concentración de alimento, el tipo de alimento, y otros factores ambientales como la salinidad o el oxígeno disuelto (Rosas *et al.*, 1998; Vernberg y Piyatiratitivorakul, 1998).

La asimilación ( $A$ ) es otra de las respuestas metabólicas en la que se presentó una tendencia al incremento generado por la temperatura (Beamish y Trippel, 1990). En el presente estudio, la  $A$ , así como la  $Abs$ , tendieron al aumento con respecto a ese factor ambiental (Figs. 6 y 8) ( $P > 0.05$ ), y al considerar que esto mismo ocurrió con la cantidad de alimento ingerido ( $I$ ) (Fig. 5), se observa que en los procesos de obtención de la energía los organismos se ajustaron al nuevo



ambiente en el que se mantuvieron. El aumento de la asimilación con respecto a la temperatura, lo han reportado Vernberg y Piyatiratitivorakul (1998), quienes señalaron que la tasa de producción de heces de *P. pugio* aumentó con respecto a la temperatura, indicando con ello un incremento en la cantidad de alimento ingerido.

La eficiencia de absorción ( $E_{Ab}$ ) no fue afectada por la temperatura ni por el cautiverio ( $P > 0.05$ ) (Fig. 7), lo que pone en evidencia que la captura, la manipulación, y los ajustes fisiológicos asociados con el cautiverio y la temperatura, no alteran la eficiencia de transformación del alimento ingerido en energía. Estudios recientes llevados a cabo con postlarvas de diferentes especies de camarón han demostrado que la  $E_{Ab}$  está mejor relacionada con las características del alimento que con los factores ambientales, las condiciones de cautiverio o la cantidad de alimento ingerido (Rosas *et al.*, 1995; Rosas *et al.*, 1996). Esto se debe a que la  $E_{Ab}$  en los camarones peneidos está altamente relacionada con la proporción de proteínas en el alimento y los mecanismos asociados para el aprovechamiento de éstas como sustrato energético. Mayzaud y Conover (1988), observaron que mientras que el sustrato energético no cambia, la eficiencia de absorción se mantiene constante debido a que la cantidad de energía invertida para la degradación de los diferentes componentes del alimento es también constante.

Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos de la razón O:N, que muestran que los camarones utilizaron las proteínas como sustrato energético, independientemente de la temperatura y del cautiverio (Tabla 3), lo que pone en evidencia que la degradación de las proteínas se mantuvo constante, confirmándose así la hipótesis establecida por Mayzaud y Conover (1988), enunciada en el párrafo anterior.

A través de la comparación del comportamiento de la  $R_{RUT}$  entre ambas temperaturas experimentales, se observaron mecanismos de compensación de los animales expuestos a 31 °C en los que se observaron valores más bajos después de 7 días de experimento (Fig. 9). Estos resultados indican que a esta temperatura los camarones fueron capaces de reducir la energía canalizada hacia el mantenimiento de las funciones involucradas en el movimiento espontáneo, de tal forma que las diferencias entre las respuestas observadas en ambas temperaturas podrían estar asociadas con los mecanismos compensatorios que se despliegan durante la aclimatación

termal (Kinne, 1970). En el crustáceo decápodo *Uca pugilator*, se detectaron en los pedúnculos oculares dos hormonas que regulan el consumo de oxígeno ante la aclimatación termal, la hormona que aumenta la respiración en cangrejos en condiciones frías y la que lo disminuye, en aquellos aclimatados en temperaturas cálidas (Unglaud, 1975). Quizá la respuesta observada en *L. setiferus* tenga relación con algún factor endócrino.

La compensación termal en la tasa metabólica a pesar del aumento en la temperatura se observó en la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) (Evans, 1990), en la que a pesar de que la actividad de nado aumentó con un incremento de 5 °C, la tasa metabólica de rutina declinó significativamente. El autor afirma que la conservación de la energía, no obstante el aumento en el nado, es resultado de la compensación metabólica por ocurrir dentro del rango normal de temperatura (Evans, 1990).

El camarón blanco *L. setiferus* es una especie euritermal, más tolerante a altas que a bajas temperaturas (Muncy, 1984), siendo los adultos más susceptibles a temperaturas bajas. Wiesepape (1975) menciona que el LC<sub>50</sub> en 24 horas para juveniles es de 36 y 37 °C, para animales aclimatados a 29 y 34 °C, respectivamente. Aunque no se ha determinado el rango óptimo para adultos del camarón blanco, se podría afirmar que 31 °C está dentro de los límites de tolerancia termal. Esto podría explicar por qué a pesar de que, en general, ante un aumento en la temperatura hay una tendencia al incremento de las respuestas fisiológicas, en los camarones expuestos a 31 °C, la R<sub>RUT</sub> disminuyó con respecto a los mantenidos en 27 °C. El mantenimiento de las funciones a 31 °C de temperatura, está dentro de la tolerancia termal de *L. setiferus*, lo que permitió el despliegue de los mecanismos involucrados en una homeostasis metabólica.

Por otro lado, con las transformaciones mecánicas y bioquímicas del alimento ingerido evaluadas a partir del incremento de calor aparente (R<sub>ICA</sub>) (Fig. 10), fue posible observar el efecto del cautiverio ( $P < 0.05$ ). De acuerdo a los resultados, a medida que los animales van aclimatándose, la tasa de ingestión aumenta, pero no la energía invertida en la transformación mecánica y bioquímica del alimento ingerido. En otros estudios se ha observado que este indicador es altamente sensible a las características del ambiente y del alimento pues se han reportado

importantes variaciones de éste asociadas con cambios en los niveles el oxígeno disuelto (Rosas *et al.*, 1998), la salinidad (Rosas *et al.*, 1999) y las proteínas de la dieta (Rosas *et al.*, 1996).

Durante el lapso de 5 días considerados para las evaluaciones energéticas, los camarones utilizaron a las proteínas como principal sustrato energético (O:N de ayuno y O:N después de la alimentación, estuvieron entre 4 y 16; Tabla 3). Si se considera que la tasa de excreción nitrogenada (N) está directamente asociada con el catabolismo de las proteínas, es posible esperar que la N tenga una relación con la tasa de ingestión (Figs. 5 y 11). Sin embargo, los resultados en este estudio muestran que la pérdida de nitrógeno (N) se ajustó de diferente forma en las dos condiciones experimentales: los animales expuestos a 27 °C presentaron una tendencia al aumento en la tasa de N en relación con el tiempo, mientras que en los de 31 °C, tendió a disminuir entre el día 3 y el día 7 de cautiverio (Fig. 11).

De acuerdo con Regnault (1981), la relación de la N con la ingestión del alimento y los procesos catabólicos proteicos también está en función de la temperatura, la cual regula los procesos enzimáticos involucrados en la degradación de las proteínas ingeridas. Al respecto, en un estudio reciente se demostró que juveniles de *Macrobrachium rosebergii* son capaces de mantener constante la tasa de excreción de amonio ante un cambio de temperatura paulatino lo que les permite ajustar los procesos metabólicos asociados con la degradación de las proteínas (Schmitt, 1996). Las variantes en el comportamiento de la N, como se observa a partir de los resultados obtenidos en los camarones expuestos a 31 °C, reflejan los procesos de ajuste metabólico que ocurren durante un proceso de aclimatación.

Como producto de la ecuación del balance energético se calculó el campo de crecimiento representado con la letra  $P_T$ . Es notorio la tendencia al aumento en este indicador en ambas temperaturas experimentales y al final del período de cautiverio (Fig. 13). Sin llegar a la fase relativamente estable que corresponde a la aclimatación que resulta de ajustes fisiológicos graduales (Prosser, 1991), los machos adultos de *L. setiferus* mantenidos por 8 días en cautiverio a 27 y 31 °C desplegaron mecanismos de compensación en las diferentes vías energéticas (ingestión de alimento, consumo de oxígeno, excreción nitrogenada, etc.) en los que el efecto

neto fue la homeocinesis, es decir, la constancia en el aprovechamiento y producción de la energía.

De acuerdo con Lucas (1993), en general en organismos adultos un alto porcentaje de la energía metabólicamente útil (A) (80-90 %) debe invertirse en la formación de tejido gonádico. No obstante que hasta ahora no se ha medido la cantidad de energía específicamente utilizada en los procesos reproductivos, los resultados demuestran que esta cantidad puede ser importante puesto que la P representa entre el 73 y el 84 % de la A para 27 y 31 °C, respectivamente (Tabla 4). Diversos autores han demostrado que la tasa de reposición de los espermátóforos de los machos adultos de camarón es muy rápida, toma únicamente entre 4 y 7 días (Pascual *et al.*, 1998), por lo que durante este período los organismos necesitan no sólo formar las nuevas células espermáticas, sino además, elaborar la compleja estructura que conforma el espermátóforo (King, 1943).

Los seres vivos continuamente afrontan retos ante cambios en las condiciones ambientales que generan situaciones de estrés desencadenando respuestas que van desde el nivel subcelular hasta el nivel de organismo como un todo. Lo que hasta ahora se ha analizado, son las respuestas metabólicas que los camarones mostraron a nivel del organismo. Sin embargo, las evaluaciones de los diferentes componentes de la hemolinfa como los metabolitos y los correspondientes a la respuesta inmune, y su comparación entre organismos recién capturados y los que se mantuvieron en cautiverio, dan la pauta para tratar de complementar el análisis del proceso de aclimatación.

Un aporte interesante en la presente investigación, son los resultados que derivaron de la evaluación del efecto de las cámaras respirométricas en los camarones. A excepción del trabajo de Carvalho y Phan (1997), no existen en la literatura reportes en los que se haya evaluado la aclimatación de los camarones a las cámaras metabólicas comúnmente utilizadas en este tipo de estudios. Estos autores encontraron que un lapso de 24 h fue suficiente para la aclimatación de *Xiphopenaeus kroyeri* en cámaras respirométricas, a partir de lo observado en el consumo de oxígeno y la excreción de amonio. En el presente estudio, a partir de la comparación de los diferentes componentes de la hemolinfa entre los camarones que las habitaron y aquellos que

permanecieron en los tanques de 400 L durante los 8 días de cautiverio (tabla 5), no hubo diferencias significativas en ningún caso del total de componentes de la hemolinfa considerados (tabla 5); ni siquiera para los que se han usado como indicadores de estrés en diferentes crustáceos, como el lactato y la glucosa (tabla 6) (Telford, 1974; Johnson y Uglow, 1985; Spicer *et al.* 1990; Santos y Keller, 1993; Paterson, 1993; Webster, 1996; Hall y Ham, 1998; Lignot *et al.* 1999), y la presión ósmótica (AQUACOP *et al.*, 1992; Chen y Lin, 1998; Soyez, 1998; Lignot *et al.*, 1999).

Un aspecto importante en el análisis de aclimatación, es desde la perspectiva del efecto del cautiverio a través de los indicadores de estrés, como la capacidad osmótica. En el presente estudio, la capacidad osmótica de los camarones aumentó en ambas temperaturas experimentales (fig. 20) y las diferencias en estos valores, quizá reflejan los mecanismos regulatorios que estos organismos despliegan en el rango de temperatura que se presenta en condiciones naturales. La recuperación de la capacidad osmótica se observó en dos especies de acociles, *Procambarus clarkii* y *P. zonangulus* expuestos a 4 diferentes temperaturas (10, 15, 25 y 30 °C) en un valor óptimo de salinidad (20 ‰) establecido para estas especies (Newsom y Davis, 1994). Como parte de los mecanismos regulatorios en las variaciones de la osmolaridad en la hemolinfa se tiene el intercambio iónico entre la hemolinfa y el medio externo (cambios en las concentraciones de sodio y cloro), pero otra parte puede relacionarse con mecanismos presentes en especies eurialinas, como *L. setiferus*, y que están relacionados con el transporte rápido de moléculas orgánicas del hepatopáncreas a la hemolinfa, como la glucosa (Lignot *et al.* 1999), o bien, por la alteración en los aminoácidos libres como una consecuencia de la biosíntesis de aminoácidos no esenciales y/o por el catabolismo de proteínas (Claybrook, 1983; Rosas *et al.*, 2000).

Otro de los elementos evaluados en la hemolinfa que se ha considerado como indicador de estrés, es la glucosa. Su incremento en el plasma se ha asociado con el estrés generado por cualquier situación que involucre una intensa actividad muscular. Hall y van Ham (1998) afirman que donde no existe un estrés de este tipo, y donde además los organismos se habitúan a las condiciones de cautiverio, no se presenta hiperglicemia, ni un comportamiento variable en los niveles de glucosa. El patrón observado en la glucosa en los camarones expuestos a 27 y 31

°C después de haber permanecido.

descrito por estos autores: el valor  $\mu$

obtenidos en juveniles de *L. vannamei* bajo cautiverio sin algún tipo de estrés adicional, ( $0.15 \text{ mg mL}^{-1}$ ) y están por debajo de los obtenidos en animales que fueron sometidos a estrés por un muestreo continuo de hemolinfa ( $0.38$  a  $0.50 \text{ mg mL}^{-1}$ ) (Racotta y Palacios, 1998).

Al igual que con la glucosa, el incremento en la concentración de lactato se ha relacionado con hiperactividad, como ocurre cuando los crustáceos son recién tomados del agua (Johnson y Uglow, 1985; Spicer *et al.* 1990). Hasta aquí, las evidencias obtenidas indican que sin que existiera el mecanismo que disparara una respuesta de hiperactividad en los organismos que permanecieron en cautiverio por 8 días en  $27$  y  $31$  °C, la glucosa y el lactato no se incrementaron (anexo 2; fig. 18 A y B).

El comportamiento del lactato en los organismos expuestos a  $31$  °C permite visualizar mecanismos de ajuste en los camarones que repercutieron en el metabolismo de carbohidratos, a partir de la diferencia en los valores de lactato entre los animales aclimatados en las dos temperaturas experimentales y de la disminución observada en la  $R_{RUT}$  de los organismos expuestos a la temperatura mayor (tabla 2, fig. 9). De acuerdo con Paterson (1993), los organismos pueden reducir su consumo de oxígeno, y ocurrir una anaerobiosis, para poder mantener la energía metabólica y con ello traer consigo la acumulación de una gran cantidad de ácido láctico, lo cual quizá explica un valor menor  $R_{RUT}$  pero mayor de lactato en los organismos expuestos a la mayor temperatura.

La acidosis generada por la acumulación del ácido láctico en los organismos mantenidos en  $31$  °C, probablemente explique el aumento significativo observado en el calcio en esta misma condición de temperatura (anexo 2; fig. 19). De acuerdo a Wheatly (1996), de todos los iones presentes en la hemolinfa, el calcio es el que aparece como el mejor regulado. Presenta niveles constantes circulantes, a pesar de las movilizaciones entre otros tejidos durante el ciclo de muda y como respuesta a una variedad de situaciones ambientales como la variación en la salinidad (Ramírez y Taylor, 1985; Ferraris *et al.* 1986) y por estrés termal (Ramírez y Taylor, 1985). El caso en el que se ha visto un aumento en la concentración de este ión, es como respuesta a la

acidosis extracelular generada por una acidosis respiratoria, en la que el incremento del calcio circulante trata de compensar la acidosis a través de la acumulación de bicarbonato (Wheatly *et al.*, 1996).

Se constató una historia alimenticia previa a la captura de los organismos a través de las diferencias significativas encontradas en los triacilglicéridos, el colesterol, y las proteínas, entre ambas líneas bases (anexo 2; figs. 16A y B, 17). En cuanto a los organismos que permanecieron cautivos y sujetos a 27 y 31 °C, se encontraron similitudes en el comportamiento de estos metabolitos, mostrándose con ello mecanismos que involucraron las respuestas nutricionales y de metabolismo energético. Retomando que los procesos de obtención de energía, como la ingestión, la absorción y la asimilación observados en la presente investigación, tendieron a aumentar conforme los organismos se adecuaron al ambiente (figs. 5, 6, 8), aún y con la disminución que de manera uniforme se presentó en las proteínas, lípidos y carbohidratos, los organismos siguieron canalizando energía, no sólo para su metabolismo de mantenimiento, sino también para el crecimiento y la reproducción (aumento de la  $P_T$  al día 7, en ambas temperaturas experimentales) (tabla 2; fig. 13)

La disminución significativa y drástica en las proteínas de la hemolinfa en los organismos mantenidos en 27 °C (fig. 17), coincide con el aumento en la excreción amoniacal de los camarones al séptimo día de cautiverio (fig. 11), ya que el amonio es producto principalmente del catabolismo de proteínas y de desaminación de los aminoácidos (Claybrook, 1983; Wright, 1995).

Como parte integral de la compensación en los camarones, es importante hacer referencia al papel que jugó el tipo de alimento utilizado en esta investigación. El análisis bromatológico del calamar (*Loligo* sp.), indica que su contenido nutricional es en su mayoría de tipo proteico (65 %) y en mucho menor medida glucídico (10 %) y lipídico (5 %). Resulta claro que por su contenido proteico, desde hace tiempo se ha considerado al calamar como un alimento con un alto valor nutricional, probándose éste valor en el crecimiento de varias especies de peneidos (Cruz-Ricque *et al.* 1989).

Tomando como referencia que el sustrato metabólico utilizado por los organismos fue proteínico (razón O:N = 16, tabla 3), podría pensarse entonces que la estabilidad en la concentración de la glucosa y la disminución en los componentes lipídicos se suplió con el uso de las proteínas proporcionadas por el alimento a partir de la activación de rutas metabólicas alternas. Ciertos aminoácidos desaminados son similares a los productos del desdoblamiento que se genera durante el metabolismo de la glucosa y de ácidos grasos, por ejemplo, la alanina desaminada la cual es convertida en ácido pirúvico, y entonces puede convertirse en glucosa o glucógeno (gluconeogénesis) o en acetil-CoA, que a su vez, puede polimerizarse para formar ácidos grasos (cetogénesis) (Zubay, 1983).

Hasta ahora, la integración de las evidencias energéticas y bioquímicas permiten ubicar el proceso de aclimatación de los machos adultos expuestos a 27 y 31 °C, y al parecer el requerimiento alimenticio para su sustento durante los 8 días que permanecieron en cautiverio fue suficiente, es decir, el tipo y la cantidad de alimento mínimo ingerido permitió realizar los procesos metabólicos esenciales manteniendo un balance positivo en la energía metabolizable destinada al crecimiento y la reproducción ( $P_T$ ).

No obstante, a partir del seguimiento diario de las variables metabólicas en la hemolinfa que durante 10 días se llevó a cabo con el fin de observar su dinámica dentro del proceso de aclimatación en camarones adultos expuestos a 33 °C, Pascual (2000) advirtió cambios marcados en la glucosa, proteínas y triacilglicéridos. El patrón de comportamiento de estos metabolitos fue cambiante, pero a partir del día 5 fue de disminución, resaltando que en el octavo día de cautiverio, la disminución es igualmente drástica para las proteínas, triacilglicéridos, glucosa, colesterol y lactato. Al final del periodo de cautiverio, los camarones mostraron una pérdida significativa de biomasa atribuyéndose ésta al uso de las reservas tisulares como parte de los mecanismos de compensación energética. Esta autora afirma que el tipo de dieta jugó un papel clave en los resultados.

Probablemente el panorama del balance positivo al crecimiento y la reproducción observada en los camarones utilizados en este estudio cambiaría, si el tiempo contemplado en el diseño experimental hubiera sido mayor a los 8 días o también por la presencia de un factor estresante.



Efectivamente, durante este lapso, el tipo y la cantidad de alimento y los mecanismos energéticos desplegados permitieron canalizar parte de la energía hacia la producción, sin embargo, el constante uso de la proteína dietética como única fuente metabólica energética (en el caso de que los carbohidratos y lípidos se suplieran por las rutas metabólicas alternas: gluconeogénesis y cetogénesis), a la larga provocaría un déficit en el suministro proteínico adecuado, por lo que se llegaría al uso de proteínas de los tejidos. Aunado a esto, si se visualizan los resultados referentes al colesterol, resulta evidente una insuficiencia dietética de este nutrimento (anexo 2; fig. 16B). Los crustáceos son incapaces de sintetizar el colesterol, por lo que su presencia sólo se puede atribuir a la dieta y a la movilización de las reservas del colesterol previamente consumido.

Como parte de la caracterización del proceso de aclimatación considerando el estado fisiológico de los organismos, se evaluó la respuesta inmune como marco de referencia de la susceptibilidad a infecciones en los camarones después que pasaron 8 días en cautiverio.

La caracterización de células hematopoyéticas no coincide con la de *L. stylirostris* expuestos a condiciones de hipoxia por 24 hrs (Le Moullac *et al.* 1998). La principal disminución en las proporciones celulares en machos adultos de *L. setiferus* recién capturados y en cautiverio se observó en las células semigranulares (CSG) y hialinas (CH) (alrededor de un 50 %) en 27 y 31 °C, y en menor medida, en las granulares (CLG) (aproximadamente un 8 %) (anexo 2). En *L. stylirostris* el 80 % correspondió a las CH; entre 10-13 % a las CSG, y sólo de un 4-10 %, a las CLG. A partir de que la proporcionalidad de los subtipos de hemocitos es semejante entre los organismos recién capturados (LB) y los que permanecieron en cautiverio de *L. setiferus*, la diferencia con respecto a *L. stylirostris*, quizá refleja una especificidad en la proporcionalidad de los subtipos celulares entre las especies de crustáceos peneidos.

No obstante que las proporciones de los tipos celulares no se comportaron igual, se observó un patrón de decremento en la concentración del total y subtipos celulares en los camarones después del cautiverio (anexo 2; figs. 14 A-D). Los hemocitos totales (HT) en ambas temperaturas experimentales mostraron gran diferencia ya que los porcentajes disminuyeron 42.96 % y 15 % en 27 y 31 °C, respectivamente. A su vez, la mayor disminución, de más de un 50 %, coincidió

en las CLG y CSG, y la menor (36 %), recayó en las CH de 27 °C (las CH de 31 °C incrementaron 13 %) (figs. 14B-D).

La disminución en los HT quizá indique un incremento en la susceptibilidad hacia infecciones. Se ha especulado que los organismos que disminuyen el número de células granulares son más susceptibles a infecciones porque se reduce la habilidad de reconocimiento del material extraño, y del inicio de coagulación realizada por las CH (Aono *et al.*, 1994). Además, un menor número de células implica una disminución en los productos del denominado "estallido respiratorio" que intervienen en la actividad microbicida durante la fagocitosis (Le Moullac *et al.*, 1997; Bachere *et al.*, 1995).

La disminución de la actividad de la fenoloxidasa, otro de los componentes de la respuesta inmunológica, se ha relacionado con la susceptibilidad de los organismos a infecciones, como se observó en *P. californiensis* con una exposición a una temperatura extrema por un período de 14 días (Vargas-Albores *et al.*, 1998).

A pesar del conocimiento de la relación existente entre las células granulares y el sistema proFO en crustáceos, por ser las CLG y las CSG donde se localizan compartamentalizados los elementos del sistema proFO (Ashida y Söderhäll, 1984; Johanson y Söderhäll, 1985; Vargas-Albores, 1995), el decremento o el aumento en la cantidad de hemocitos granulares, no necesariamente implica una mayor actividad de la fenoloxidasa. En *C. maenas* Hauton *et al.* (1997) observaron una correlación entre la presencia bacteriana en el ambiente y la fenoloxidasa, pero no con las células granulares. Esto se puede explicar porque la dinámica de activación de la fenoloxidasa en la hemolinfa no sólo depende de la cantidad de células granulares existentes y de cuantas se degranulen, sino también de la acción directa de inhibidores que actúan como regulares plasmáticos sobre la enzima que activa al sistema proFO, la alfa-2-macroglobulina y el inhibidor de tripsina: la macroproteína atrapa la proFO sin desactivarla, pero el inhibidor de tripsina, denominado pacifastina, sí logra su desactivación (Le Moullac *et al.*, 1998).

La complejidad en la gama de respuestas de los componentes inmunológicos para mantener la homeostasis, quizá encuentre explicación en mecanismos de regulación nerviosa que influyen en el comportamiento celular plasmático, como serían la acción de factores neuroactivos en hemocitos, identificados ya en moluscos, y la comunicación inmuno-neuronal de la actividad de los hemocitos por sustancias endógenas identificada en *Aplasia californica* (Clatworthy, 1996).

Aunado a esto, como parte de los complejos mecanismos involucrados en la homeostasis, se encuentra la participación de las células del tejido hematopoyético en el metabolismo energético. Hay una posible participación de los hemocitos como almacén de carbohidratos y como fuente de glucosa (Jonhston y Spencer, 1972; Santos y Keller, 1993), o como vía de transporte de ácidos grasos hacia el hepatopáncreas, en procesos de reabsorción en ovarios. Al octavo día de cautiverio, la disminución casi uniforme en los hemocitos, coincide con lo que Pascual (2000) observó en adultos de *L. setiferus*, en la que además el decremento en las células del tejido hematopoyético a partir del séptimo día de cautiverio, concordó con la disminución de la glucosa. Por lo tanto, el comportamiento de las células del tejido hematopoyético observado en la presente investigación se encaminó posiblemente, más hacia un papel de tipo metabólico que hacia uno de tipo inmunológico.

Por todo lo anterior se puede afirmar que la alteración observada en el conteo de hemocitos y el sistema profenoloxidasa, con la disminución en el total de hemocitos y el aumento en la actividad de la fenoloxidasa en los camarones mantenidos por 8 días en 27 y 31 °C (anexo 2; figs. 14A-D y 15), formó parte de los mecanismos metabólicos de compensación que redujeron el impacto del cautiverio sobre el organismo.

Al final del periodo evaluado, el proceso de aclimatación desplegado por los camarones machos adultos de *L. setiferus* expuestos a las dos temperaturas experimentales por un lapso de 8 días en cautiverio, fue resultado de su capacidad adaptativa genéticamente determinada, donde las variaciones fisiológicas o cambios compensatorios metabólicos, permitieron un funcionamiento relativamente normal en una condición ambiental dentro de un rango termal tolerable, a lo que Prosser (1991) denomina como adaptación de capacidad.

El balance positivo hacia la producción observado en los camarones mantenidos en las dos temperaturas experimentales forma parte de un proceso de aclimatación. Sin embargo de acuerdo a la definición propuesta por Vernberg (1975) y Prosser (1991), la aclimatación involucra una secuencia en las respuestas metabólicas, que pueden ir de un nivel de compensación a otro, hasta alcanzar el denominado estado estable, lo cual depende del tiempo al cual el organismo esté sujeto a la nueva condición experimental. Probablemente el comportamiento observado en los indicadores evaluados en la presente investigación, como la sobrecompensación en la  $R_{RUT}$  de los organismos expuestos a 31°C, forman parte de la secuencia en la que los organismos pasarían de ése nivel de compensación a otro, hasta alcanzar la estabilidad en la respuesta. Al respecto, Sidell, *et al.* (1973) evaluaron en un pez pequeño (*Carassius auratus*) el curso del tiempo de aclimatación metabólica de tres enzimas (citocromo oxidasa, succinato deshidrogenasa y la catalasa) ante un aumento de 15 a 25 °C durante 40 días. Entre los posibles mecanismos que causaron las diferentes oscilaciones que mostraron estas enzimas, se menciona una diferente sincronización en las tasas de síntesis y degradación de proteínas específicas y lípidos donde intervienen los componentes del sistema enzimático, por lo que varios componentes del sistema enzimático pueden estar dentro o fuera de la fase de transición. Otro de los mecanismos mencionados responsable de las fluctuaciones es un control de tipo endocrino y neural, en el que los cambios compensatorios son modulados a través de las funciones de síntesis y degradación.

Sin duda, el control de mecanismos que permiten la homeostasis en los crustáceos no es simple, y la integración funcional de las respuestas bioquímicas, energéticas e inmunológicas en el proceso de aclimatación involucró algún mecanismo nervioso no evaluado en la presente investigación. Como un ejemplo del control nervioso, Fingerman (1987) y Fingerman y Nagabhushanam (1992) mencionan la existencia de neuroreguladores en crustáceos que pueden funcionar como neurotransmisores, o bien, como neuroreguladores en la liberación de hormonas secretadas por el complejo neuroendocrino de la glándula del sinus, una glándula endocrina de origen neural localizada en el pedúnculo de crustáceos. Entre los procesos fisiológicos controlados por las hormonas secretadas por esta glándula están la muda y maduración gonadal (en ambos intervienen hormonas que inhiben y estimulan estos procesos). La movilización de carbohidratos, que es controlada por la Hormona Hiperglicémica de

Crustáceos; y la actividad neuronal, por medio de la Hormona Neurodepresora, que actúa sobre las funciones sensoriales y motoras. De entre los neuroreguladores, se tienen a las aminas biogénicas que se sabe actúan como reguladores de neurohormonas del tejido endocrino en *C. maenas* bajo una situación de estrés (Lüschen *et al.*, 1993).

Retomando el planteamiento del problema que dio origen a la presente investigación que era conocer las alteraciones dentro del proceso de aclimatación que permitan caracterizar el estado fisiológico que da pie a la disminución de la respuesta reproductiva de los machos adultos de *L. setiferus* en condiciones de laboratorio, se consideraron las evaluaciones de la calidad espermática de los organismos recién capturados y los mantenidos por 8 días a 27 y 31 °C. Los resultados generados en el conteo y caracterización espermática no mostraron diferencias significativas para ninguna condición (anexo 2).

Pascual (2000) observó una disminución en los niveles de colesterol, triacilglicéridos y glucosa en la hemolinfa, aunada a la disminución en la calidad reproductiva de machos adultos de *L. setiferus* mantenidos 10 días en cautiverio en 33 °C, y lo explica como un aumento en la demanda de estos metabolitos con el proceso de regeneración del espermátforo. Considerando que este proceso es continuo y toma entre 4 y 7 días (Leung-Trujillo y Lawrence, 1991; Pascual *et al.*, 1998) y que además incluye también la formación de células espermáticas, existe la posibilidad de que la insuficiencia dietética de estos sustratos metabólicos en los camarones machos adultos que enfrentan un continuo ajuste de mecanismos para compensar el efecto del cautiverio por un largo lapso de tiempo (más de 30 días) y/o por algún elemento ambiental estresante (33 °C de temperatura), provoque un desbalance en la homeocinesis y en la homeostasis que conlleven un estado de susceptibilidad a enfermedades y una alteración en los mecanismos reguladores del proceso de maduración como en la glándula androgénica, la cual es responsable de la esteroidogénesis, de la actividad espermatogénica, y del desarrollo y mantenimiento de las características sexuales (Nagabhusman y Kulkarni, 1981; Alfaro, 1990).

Considerando lo observado por Pascual (2000) y de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio en lo referente al comportamiento de los metabolitos y la respuesta inmune, se

propone una secuencia que trata de explicar los síndromes observados en los machos cautivos de *L. setiferus*:

1.- En cautiverio, el estado nutricional produce estrés en los camarones.

2.- Esta condición fisiológica conlleva la alteración de la respuesta inmunológica por medio de la reducción de los hemocitos y el aumento en la actividad de la fenoloxidasa.

3.- Con el aumento de la actividad de la fenoloxidasa, se incrementa la producción de la melanina presente en la células espermáticas, que produce la degeneración celular, dando lugar, finalmente, al SMAR y al SDARM, es decir, la esterilización de los machos.

Con la presente investigación se logró un primer acercamiento en el conocimiento del estado fisiológico durante un proceso de aclimatación en dos temperaturas (27 y 31 °C) que son usuales en un laboratorio de producción de postlarvas. Sin embargo, aún las causas específicas que provocan el SDTRM y el SMTRM en cautiverio, siguen siendo desconocidas. En términos prácticos, este desconocimiento limita establecer un área de maduración o reproducción completamente independiente de las poblaciones del medio natural, por no poder contar con un stock permanente de machos sanos y con calidad reproductiva aceptable, lo que impide lograr el objetivo de la camaronicultura de producir continuamente nauplios, para el caso específico del camarón blanco, *L. setiferus*. Por ello, es fundamental llevar a cabo estudios que permitan elucidar la pieza clave en el deterioro de los machos en cautiverio, como serían los referentes a la naturaleza de las alteraciones individuales del sistema nervioso y endocrino de los camarones durante el proceso de aclimatación.

Como comentario final, al comparar los valores de la calidad reproductiva de los especímenes evaluados en la presente investigación, con los observados en machos de la misma especie capturados en la misma región (Pascual *et al.*, 1998) (tabla 9), se percibe una disminución en la calidad reproductiva. Se tiene conocimiento de la actividad estrogénica de plaguicidas organoclorados, como el DDT, Endosulfán, Dieldrín, en varias especies de vertebrados (Sharpe y Skakkebaek, 1993; Soto *et al.*, 1994; Harries *et al.*, 1996). Este tipo de contaminantes se han

detectado en la laguna de Términos y en la sonda de Campeche, por ser un área sujeta a un continuo aporte de plaguicidas provenientes de los sistemas fluviales (Rosales, 1979). La persistencia de estos químicos en los suelos es alta, por lo que existe la posibilidad que organismos bentónicos, como el camarón, los bioacumulen, como ya lo detectaron Murray y Beck (1989; 1990) en *L. setiferus* y *F. aztecus*. Sería interesante llevar a cabo investigaciones concernientes al efecto de los pesticidas organoclorados en la respuesta reproductiva, como una pieza más en el conocimiento de las alteraciones en el campo reproductivo.

Tabla 8. Calidad espermática de machos de *L. setiferus* de la costa continental del Golfo de México. capturados para la presente investigación (N= 69 especímenes de LB +Cautiverio) y de especímenes capturados en la misma región en 1994 (N= 30). Promedios+Error estándar

	Células Normales (x10 <sup>6</sup> )	Células Anormales (x10 <sup>6</sup> )	Células Muertas (x10 <sup>6</sup> )	Células Totales (x10 <sup>6</sup> )
1998				
cel/espermatóforo	2.1 ± 0.29 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.008 ± 0.006 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.34 <sup>a</sup>
%	67.7	32.2	0.2	100
1994 (Pacual <i>et al.</i> , 1998)				
cel/espermatóforo	4.8 ± 1.3 <sup>b</sup>	0.03 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.014 ± 0.0006 <sup>b</sup>	4.9 ± 1.3 <sup>b</sup>
%	90.2	9.8	0.3	100

Promedios en la misma columna seguidos por distinta letra, difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

## CONCLUSIONES

- Las oscilaciones en las respuestas energéticas mostradas al inicio del periodo de cautiverio, mostraron una tendencia al incremento al final del mismo, dando como resultado un balance positivo hacia la Producción.
- La temperatura tuvo efecto en los elementos del balance energético de los camarones produciendo valores altos en los camarones expuestos a 31 °C en relación con los obtenidos en los expuestos a 27 °C, lo cual concuerda con la respuesta característica de los poiquilotermos ante el aumento en la temperatura.
- En 31 °C, los camarones en cautiverio ajustaron el metabolismo energético al disminuyendo la  $R_{RUT}$ , lo que trajo consigo un aumento en la concentración de lactato como respuesta a una condición de anaerobiosis, con un consecuente aumento en el calcio como mecanismo reductor de la acidosis.
- Al menos por los primeros 8 días de cautiverio, el tipo y la cantidad de alimento ingerido por los camarones expuestos a 27 y 31 °C, les permitió realizar los procesos metabólicos manteniendo un balance positivo en la energía metabolizable destinada al crecimiento y la reproducción.
- Sin embargo, la disminución en los triacilglicéridos, las proteínas y el colesterol, así como la reducción en los hemocitos totales, en contraste con el aumento en la actividad de la fenoloxidasa, indican una alteración nutricional y en los mecanismos regulatorios del sistema inmune.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

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. 1993. Reproductive quality evaluation of male *Penaeus stylirostris* from a grow-out pond. *J. World Aquac. Socie.* 24:6-11.

ALMOHANA, S.Y. y J.A. Nott. 1987. R cells and the digestive cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea, Decapoda). *Mar. Biol.* 95: 129-137.

AONO, H. G. Gómez-Díaz, y K. Mori. 1994. Granular cells recognize non-self signals and trigger the clotting reaction of hemocytes in vitro in the spiny lobster *Panulirus japonicus*. *Comp. Bioch. Physiol.* 107A:37-42.

AQUACOP, J.C., C. Soyez, P. Lemaire, P. Rey, S. Langy, T. Capuano, P. Thuet, J.P. Trilles, G. Charmantier. 1992. Un nuevo taller diagnóstico: La capacidad osmo-reguladora como indicador de estrés en el camarón. Memorias I Congreso Ecuatoriano de Acuicultura. 215-220.

ASHIDA, M. y K. Söderhäll. 1984. The prophenoloxidase activating system in crayfish. *Comp. Biochem. Physiol.* 77B:21-26.

BACHERE, E., E. Mialhe, D. Noël, V. Boulo, A. Morvan, J. Rodríguez. 1995. Knowledge and research prospects in marine mollusc and crustacean immunology. *Aquaculture* 132: 17-32.

BAMBANG, Y., M. Charmantier-Daures, y G. Trilles. 1995. Effect of cadmium on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* Bate (Crustacea, Decapoda). *Mar. Biol.* 123: 443-450.

BEAMISH, F.W.H. y E.A. Trippel. 1990. Heat increment: A static or dynamic dimension in bioenergetic models. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 119: 649-666.

BRAY, W.A., Leung-Trujillo, J.R., Lawrence A.L., Robertson, S.M. 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.

BRAY, W.A. y Lawrence A.L. 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. Development in Aquaculture and Fisheries Science, Vol 23 In: Bray, W.A. and Lawrence A.L.(eds) 1992. *Marine Shrimp Culture: Principles and practices*. Arlo W. Fast and L. James Lester editors.

BROWDY, C. 1992. A review of the reproductive biology of *Penaeus* species: Perspectives on controlled shrimp maturation systems for high quality nauplii production. En: J. Wyban, 1992. Proc. Spec. Sess. on Shrimp Farming, p. 22-51. World Aquacult. Soc., Baton Rouge, LA. 301 p.

BROWN, A., Jr., Mc Vey, J.P., Middledich B.S., and Lawrence A.L. 1979. Maturation of withe shrimp *Penaeus setiferus* in captivity. *Proc. World Maric. Soc.* 435: 135-136

CARVALHO, P.S.M. y V.N. Phan. 1997. Oxygen consumption and ammonia of *Xiphopenaeus kroyeri* Heller (Penaeid) in relation to mass temperature and experimental procedures shrimp oxygen uptake and ammonia excretion. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 209:143-156.

CASTILLE, F.L. y A.L. Lawrence. 1981a. A comparison of the capabilities of juvenile an adult *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris* to regulate the osmotic, sodium, and chloride concentrations in the hemolymph. *Comp. Biochem. Physiol.* 68A: 677-680.

CASTILLE, F.L. y A.L. Lawrence. 1981b. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 68:75-80.

CLATWORTHY, A. 1996. A simple system approach to neural-immune communication. *Comp. Biochem. Physiol.* 115A (1): 1-10.

CLAYBROOK, D.H. 1983. Nitrogen metabolism. pp. 163-213. En: *The Biology of Crustacea*. Vol. V. Mantel H. L. (Edit). Academic Press-New York, E.U.A.

CLIFFORD, H. C. y R.W. Brick. 1979. A physiological approach to the study of growth and bioenergetic in the fresh water shrimp. *Proced. World Mar. Soc.* 10: 701-719.

CHAMBERLAIN, G. W., Johnson S.K., and Lewis D.H. 1983. Swelling and melanization of the male reproductive system of captive adult penaeid shrimp. *Journal of the World Mariculture Society* 14: 135-136

CHARMANTIER, G., Soyez, C., and Aquacop. 1994. Effect of molt stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* 178: 233-246

CHEN, J. Y J. Lin. 1998. Osmotic concentration and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles reared at different salinity and temperature levels. *Aquaculture* 164:173-181.

CRUZ-RIQUE, E.L., J. Guillaume y A. Van Wormhoudt. 1989. Effect of squid extracts on time course appearance of glucose and free amino acids in haemolymph in *Penaeus japonicus* after feeding: preliminary results. *Aquaculture* 76:57-65.

EVANS, D.O. 1990. Metabolic thermal compensation by rainbow trout effects on standard metabolic rate and potential usable power. *Transact. Amer. Fishe. Socie.* 119: 585-600.

FERRARIS, R.P., F.D. Parado-Estepa, J. M. Iadía. y E.G. de Jesús. 1986. Effect of salinity on the osmotic, chloride, total protein and calcium concentrations in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). *Comp. Bioch. Physiol.* 85A(4): 701-708.

FINGERMAN, M., M. M. Hanumate, V.P. Deshpunde, R. Nagabhusan. 1981. Increase in the total reducing substances in the haemolymph of the freshwater crab, *Barytelphusa guerni*, produced by a pesticide (DDT) and an indolealkylamine (serotonin). *Experientia* 37: 178-179.

FINGERMAN, M. y R. Nagabhushanam. 1992. Control of the release of crustacean hormones by neuroregulators. *Comp. Biochem. Physiol.* 102C {3}: 343-352.

FRY, F.E.J. 1947. Effect of the environment on animal activity. University of Toronto Studies, Biol. Series, No. 55. 62 pp.

GIBSON, R y P.L. Barker. 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 17: 285-346.

GUERIN, J.L. y W.B. Stickle. 1997. Effect of salinity on survival and bioenergetics of juvenile lesser blue crabs, *Callinectes similis*. *Marine Biology* 129: 63-69.

GOLLAS-GALVAN, M., J. Hernández-López, y F. Vargas-Albores. 1996. Effect of calcium on the brown shrimp (*Penaeus californiensis*, Holmes) prophenol-oxidase system activation. *Comp. Bioche. Physiol.* 117A{3}: 419-425.

GRACIA A., 1989. Ecología y Pesquerías del camarón blanco *Penaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) en la laguna de Términos Sonda de Campeche. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. UNAM: 298 pp.

HALL, M. R., y Van Ham E.H. 1998. The effects of different types of stress on blood glucose in the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. *J. World Aquac. Soc.* 29{3}: 290-299

HARRIES, J.E., D.Sheahan, S. Jobling, P. Matthiessen, P. Neall, J. Sumpter, T. Tylor y P. Neall. 1996. A survey of estrogenic activity United Kingdom inland waters. *Environ. Toxicol. Chem.* 15{11}: 1993-2002.

HARRIS, S.E.G. y P.A. Sandifer. 1986. Sperm production and effects of the electrically induced spermatophore expulsion in the prawn *Macrobrachium resembergii* (De Man). *J. Crust. Biol.* 6{4}: 633-637.

HAUTON, C., L. Hawkins y J. Williams. 1997. In situ variability in phenoloxidase activity in shore crab *Carcinus maenas*. *Comp. Bioche. Physiol.* 117B: 267-271.

HERNANDEZ-LÓPEZ, J., T. Gollas-Galván y F. Vargas-Albores. 1996. Activation of the prophenoloxidase system of brown shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes). *Comp. Biochem. Physiol.* 113C: 61-66

HILL, R.W. 1976. Energy Metabolism y Thermal Relationship. P 7-57. *En. Comparative Physiology of Animals: An Environmental Approach*. Harper & Row, publishers. New York, USA. 656 pp.

HOCHACHKA, P.W. 1973. Strategies of biochemical adaptation. Edit. Sanders. 337 pp.

JOHANSSON, M.V., y K. Söderhäll. 1985. Exocytosis of the prophenoloxidase activating system from crayfish haemocytes. *J. Comp. Physiol.* 156B: 175-181.

JOHANSSON, M.V., y K. Söderhäll. 1989. Cellular immunity in crustaceans and the proPO system. *Parasitology Today* 5(6): 171-176.

JOHNSON I., y R.F. Uglow. 1985. Some effects of aerial exposure on the respiratory physiology and blood chemistry of *Carcinus maenas* (L.) and *Liocarcinus puber* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 94: 151-165.

JONHSTON, M. y D. Spencer. 1972. Carbohydrates of the hepatopancreas and blood tissue of *Carcinus*. *Comp. Bioche. Physiol.* 41B:433-443.

KING, J.E. 1948. A study of the reproductive organs of the common marine shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus, 1767). *Biol. Bull.*, 94:244-262.

KINNE, O. 1970. Temperature: Animals invertebrates. P. 407-514. *In*: Kinne, O. (Edit.) *Marine Ecology*. Vol. 1. Environmental factors. Pt. 1. Wiley Intersciences. London.

Le MOUILLAC, G., M. Le Groumellec, D. Ansquer, S. Froissard, P. Levy y AQUACOP. 1997. Haematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. *Fish & Shellfish Immunology* 7: 227-234.

Le MOUILLAC, G., C. Soyez, D. Saulnier, D. Ansquer, J. Avarre y P. Levy. 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus*. *Fish & Shellfish Immunolog.* 8:

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*. *J. World Aquaculture Soc.* 22(4): 244-251.

LIN, H.P., G. Charmantier, y J.P. Trilles. 1992. Effects of turbidity on survival, osmoregulation and gill Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATP asa in juvenile shrimp *Penaeus japonicus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 90: 31-37.

LIN, H.P., P. Thuet, J.P. Trilles, R. Mounet-Guillaume, y G. Charmantier. 1993. Effects of ammonia on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus*. *Mar. Biol.* 117: 591-598.

LIGNOT, J. H., Cochard, J.C., Soyez, C., Lemaire, P., y Charmantier G. 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 170: 79-92.

- LOVETT, D.H. y D.L. Felder. 1990. Ontogenetic changes in the digestive activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull.* 178: 144-159.
- LUSCHEN, W., A. Wiling, y P. Jaros. 1993. The role of biogenic amines in the control of blood glucose in the decapod crustacean *Carcinus maenas* L. *Comp. Biochem. Physiol.* 105C: 291-296.
- LUCAS, A. 1996. Bioenergetics of Aquatic Animals. Taylor & Francis Inc. Great Britain. 169 pp.
- MAYZAUD, P. y H. Daltot. 1973. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton II. Studies of metabolic characteristics of starved animals. *Mar. Biol.* 21: 19-28.
- 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.
- MISMORE, 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 profiles: Life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (South Atlantic). White Shrimp. Fish and Wildlife Service-U.S. Department of the Interior y Coastal Ecology Group Waterways Experiment Station-U.S. Army Corps of Engineers. FWS/OBS-82/11.27, TR EL-82-4, Septiembre. U.S.A. 20pp.
- MURRAY, H.E. y J.N. Beck. 1989. Halogenated organic compounds in shrimp from the Calcasieu estuary. *Chemosphere.* 19 (8/9): 1367-1374.
- MURRAY, H.E. y J.N. Beck. 1990. Concentrations of selected chlorinated pesticides in shrimp collected from the Calcasieu river lake complex, Louisiana. *Bull. Environ. Toxicol.* 44: 798-804.
- NAGABHUSHANAM, R. y G.K. Kulkarni. 1981. Effect of exogenous testosterone on the androgenic gland and testis of a marine prawn *Parapenaeopsis hardwickii* (Miers) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Aquaculture* 23: 19-27.
- NEWSOM, J. y K. Davis. 1994. Osmotic responses of haemolymph in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) and white river crayfish (*P. zonangulus*) to changes in temperature and salinity. *Aquaculture.* 126: 373-381.
- O'BANNON, B. K., (ed.) 1993. Fisheries of the United States. 1992. - National Oceanographic and Atmospheric Administration, Fisheries Statistics Division. Silver Spring, Maryland, U.S.A. pp. 1-115.
- PASCUAL, C., E. Valera, C. Re-regis, G. Gaxiola, A. Sanchez, L. Ramos, L.A. Soto, y C. Rosas. 1998. Effect of temperature on reproductive tract condition of *Penaeus setiferus* adult males. *World Aquaculture Society.* 29: 477-484.

PASCUAL, C. 2000. Caracterización fisiológica e inmunológica de una población de machos adultos del camarón blanco (*Litopenaeus setiferus*). Línea base y efecto del estrés térmico. *Tesis Maestría*. Fac. Ciencias, UNAM. México: 88 pp.

PATERSON, B.D. 1993. The rise in inosine monophosphate and L-lactate concentrations in muscle of live penaeid prawns (*Penaeus japonicus*, *Penaeus monodon*) stressed by storage out of water. *Comp. Biochem. Physiol.* 106B (2):395-400.

PRATOOMCHAT, B., S. Piyatiratitivorakul y P. Menasveta. 1993. Sperm quality of pond-reared and wild-caught *Penaeus monodon* in Thailand. *J. World Aquac. Soc.* 24(4): 530-540.

PROSSER, L. (Edit.). 1991. Environmental and Metabolic Animal Physiology. 4<sup>o</sup>. Edición. Wiley-Liss, Inc. Pub. New York, U.S.A. 578 pp.

RACOTTA, I. S. y E. Palacios. 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *P. vannamei*. *J. World Aquacult. Socie.* 29: 351-356

RAMIREZ, de Isla H., S. y A.C. Taylor. 1985. The effect of temperature on osmotic and ionic regulation in the prawn, *Palaemon elegans* (Rathky). *Ophelia* 24(1): 1-15.

REGNAULT, M. 1979. Ammonia excretion of the sand shrimp *Crangon crangon* (L) during the moult cycle. *J. Comp. Physiol.* 141: 549-555.

REGNAULT, M. 1981. Respiration and ammonia excretion of the shrimp *Crangon crangon* (L). Metabolic responses to prolonged starvation. *Jour. Comp. Physiol.* 141: 549-555.

REGNAULT, M. 1993. Effect of severe hypoxia on some aspects of nitrogen metabolism in the crab *Cancer pagurus*. *Mar. Behav. Physiol.* 22: 131-140.

ROBERTSON, L.W.A.B., T. Samocha y A.L. Lawrence. 1993. *Reproduction of penaeid shrimp*. Vol. Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture. CRC Press ed. Boca Raton, Florida, U.S.A.

ROSALES, M.T.L., A.V. Botello, H. Bravo, y E.F. Mandelli. 1979. PCBs and Organochlorine insecticides in oysters from coastal lagoons of the Gulf of Mexico, Mexico. *Bull. Environm. Toxicol.* 21:652-656.

ROSAS, C., I. Fernández, R. Brito y E. Díaz-Iglesia. 1993a. The effect of the eyestalk ablation on the energy balance of the pink shrimp, *Penaeus notialis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1: 183-187.

ROSAS, C., A. Sánchez, M.E. Chimal, G. Saldaña, L. Ramos, y L.A. Soto. 1993b. The effect of electrical stimulation on spermatophore regeneration in white shrimp *Penaeus setiferus*. *Aquaculture* 6: 139-144.

ROSAS, C., A. Sánchez, E. Díaz-Iglesia, y L.A. Soto. 1995. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effect of protein level on substrate metabolism. *Aquat. Living Resour.* 8: 161-169.

ROSAS, C., A. Sánchez, E. Díaz-Iglesia, L. Soto, G. Gaxiola, y R. Brito. 1996. Effect of dietary protein level on Apparent Heat Increment and Post-pandrial Nitrogen Excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae. *J. World Aquac. Socie.* 27(1): 92-102.

ROSAS, C., E. Martínez, G. Gaxiola, R. Brito, E. Díaz-Iglesia, y L.A. Soto. 1998. Effect of dissolved oxygen on energy balanced and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. *Mar. Ecol. Progress Series* 174: 67-75.

ROSAS, C., E. Martínez, G. Gaxiola, R. Brito, A. Sánchez, y L.A. Soto. 1999. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 6: 139-144.

ROSAS, C., G. Cuzon, G. Taboada, C. Pascual, G. Gaxiola, y A. Van Wormhoudt. 2000a. Effect of dietary protein and level energy (P/E) on growth, oxygen consumption, hemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* and *L. setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Aquaculture* (En prensa).

ROSAS, C., G. Cuzon, G. G. Gaxiola, Y. Le Priol, . Pascual, J. Rossignol, F. Contreras, A. Sánchez, y A. Van Wormhoudt. 2000b. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*. effect of salinity and dietary carbohydrates levels. *Mar. Biol.* (En prensa)

ROSAS, C., G. Cuzon, G. Gaxiola, L. Arena, P. Lemaire, C. Soyez y A. Van Wormhoudt. 2000c. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. *Jour. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 249: 181-198.

SANDIFER, P.A., S.J. Hopkins, A.D. Stokes, y C.L. Browdy. 1993. Preliminary comparisons of the native *Penaeus stiferus* and pacific white shrimp *P. vannamei* for the pond culture in South Carolina, USA. *J. World Aquaculture Soc.* 24 (3): 295-303.

SANTOS, A.E. y R. Keller. 1993. Effect of exposure to atmospheric air on blood glucose and lactate concentrations in two crustacean species: a role of the Crustacean Hyperglycemic Hormone (CHH). *Comp. Biochem. Physiol.* 106A(2): 343-347.

SCHMITT, S.C.A. y R.F. Uglow. 1996. Effects of temperature change rate on nitrogen effluxes of *Macrobrachium rosenbergii* (DeMan). *Aquaculture* 140: 373-381.

SHARPE, R.M. y N.E. Skakkebaek. 1993. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract. *Lancet* 341: 1392-1395.

SIDELL, B.D., F.R. Wilson, J. Hazel y C.L. Prosser. 1973. Time course of thermal acclimation in Goldfish. *J. Comp. Physiol.* 84: 119-127.

SMITH, V. and N. A. Ratcliffe. 1980. Host defense reactions of the shore crab, *Carcinus maenas* (L.): clearance and distribution of the injected test particles. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 60: 89-102

- SÖDERHALL, K. 1982. Prophenoloxidase activating system and melanization -a recognition mechanism of arthropods: A review. *Dev. Comp. Immunol.* 6: 601-611.
- SÖDERHALL, K. 1992. Biochemical and molecular aspects of cellular communication in arthropods. *Boll. Zool.* 59: 141-151.
- SÖDERHALL, K. y T. Unestam. 1979. Activation of serum prophenoloxidase in arthropod immunity. The specificity of cell wall glucan activation and activation by purified fungal glycoproteins of crayfish phenoloxidase. *Can. J. Microbiol.* 25:406-414.
- SOTO, A., L.K. Ching, y C. Sonnenschein. 1994. The pesticides Endosulfán, Toxophene and Dieldrin have estrogenic effects on human estrogen -sensitive cells. *Environ. Health. Perspect.* 102(4): 380-383.
- SOUHEIL, H., P. Thuet y J.P. Trilles. 1992. Effect of an infection by *Fusarium salani* on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus japonicus* (Bate, 1888). 1<sup>st</sup>. Eur. Crust. Conf. Abst., pp. 151.
- SOYEZ, C. 1998. Evaluation des conséquences d'une situation hypoxique simulée sur la Capacité Osmorégulatrice des crevettes d'élevage, *Penaeus stylirostris* et *Penaeus vannamei*. Reporte experimental del laboratorio d'Aquaculture Tropicale-Centre Oceanologique du Pacifique. 50pp.
- SPAARGAREN, D.H. 1975. Changes in permeability in the shore crab *Carcinus maenas* (L.) as a response to salinity. *Comp. Bioche. Physiol.* 51A: 549-552.
- SPICER, J.I, A.D. Hill, A.C. Taylor, y R.H.C. Strang. 1990. Effect of aerial exposure on concentration of selected metabolites in blood of the Norway lobster *Nephrops norvegica* (Crustacea, Nephropidae). *Mar. Biol.* 105: 129-135.
- TALBOT, P., D. Howard, J. Legung-Trujillo, T.W. Lee, W. 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.
- TELFORD, M. 1974. Blood glucose in crayfish-II. Variations induced by artificial stress. *Comp. Biochem. Physiol.* 48A: 555-560.
- TESHIMA, S., M. Ishikawa, S. Koshio, y A. Kanasawa. 1997. Necessity of dietary cholesterol for the freshwater prawn. *Fisheries Science* 63(4):596-599.
- UNGLAUB, S. 1975. Hormonal involvement in thermal acclimation in the fiddler crab *Uca pugilator* (Bosc)-II. Effects of extracts on tissue respiration. *Comp. Biochem. Physiol.* 50A: 285-290.
- VANEGAS, C. 1992. Efecto de la salinidad y de la temperatura sobre el balance energético de juveniles de camarón café *Penaeus aztecus* Ives (Crustacea, Decapoda). *Tesis de Maestría*. Fac. Ciencias. UNAM, México: 85 pp.



VARGAS-ALBORES, F. 1991. Posibles indicadores de salud de los camarones y su aplicación en Acuicultura. *Biotecnología* 1(4): 17-25.

VARGAS-ALBORES, F. 1995. The defense system of brown shrimp (*Penaeus californiensis*): Humoral recognition and cellular responses. *J. Mar. Biotech.* 3:153-156.

VARGAS-ALBORES, F., M.A. Guzmán, y J.L. Ochoa. 1993. An anticoagulant solution for haemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*). *Comp. Biochem. Physiol.* 106A:299-303.

VARGAS-ALBORES, F., P. Hinojosa-Baltazar, G. Portillo-Clark, y F. Magallón-Barajas. 1998. Influence of the temperature and salinity on the telowleg shrimp *Penaeus californiensis* Holmes, prophenoloxidase system. *Aquaculture Research*. 29:549-553.

VERNBERG, F.J. (Ed) 1975. Physiological adaptation to the environment. Proceedings of a symposium held at the 1973 meeting of the American Institute of Biological Sciences. Intext Educational Publishers. New York, U.S.A. 650 pp.

VERNBERG, F.J. y S. Piyatitivorakul. 1998. Effects of salinity and temperature on the bioenergetics of adult stages of the grass shrimp (*Palaemonetes pugio* Holthuis) from the North Inlet Estuary, South Carolina. *Estuaries* 21(1):176-193.

VIJAYAN, K.K. y A.D. Diwan. 1996. Fluctuations in Ca, Mg and P levels in the hemolymph, muscle, midgut gland and exoskeleton during the moult cycle of the indian white prawn, *Penaeus indicus* (Decapoda: Penaeidae). *Comp. Bioch. Physiol.* 114A(1): 91-97.

VINAGRE, A.S. y R.S.M. Da Silva. 1992. Effects of starvation on the carbohydrate and lipid metabolism in crabs previously maintained on high protein or carbohydrate-rich diet. *Comp. Bioch. Physiol.* 102A(3):579-583.

WEBER, R.E. y D.H. Spaargaren 1970. On the influence of temperature on the osmoregulation of *Crangon crangon* and its significance under estuarine conditions. *Neth. J. Sea Res.* 5:108-120.

WEBSTER, S.G. 1996. Measurement of crustacean hyperglycaemic hormone levels in the edible crab *Cancer pagurus* during emersion stress. *J. Exp. Biol.* 199: 1579-1585.

WHEATLY, M.G. 1996. An overview of calcium balance in crustaceans. *Physiol. Zool.* 69(2): 351-382.

WHEATLY, M.G., S.C.R. de Souza y M. K. Hart. 1996. Related changes in hemolymph acid-base status, Electrolytes, and ecdysone in intermolt crayfish (*Procambarus clarkii*) at 23°C during extracellular acidosis induced by exposure to air, hyperoxia, or acid. *J. Crustac. Biol.* 16(2): 267-277.

WRIGHT, P. A. 1995. Review. Nitrogen excretion: three end products, many physiological roles. *J. Exp. Biol.* 198: 273-281.

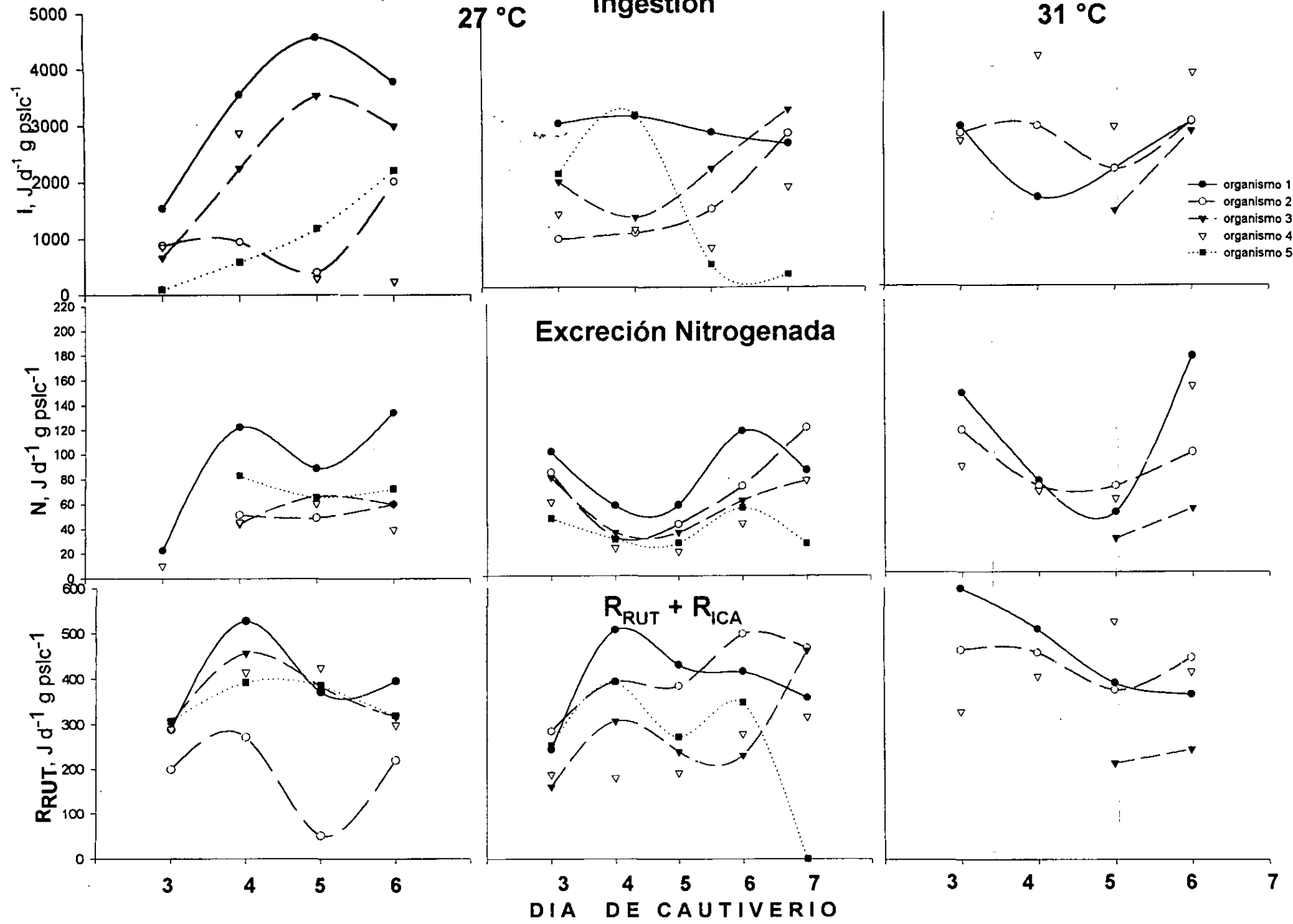
WIESEPAPE, L.M. 1975. Thermal resistance and acclimation rate in young white and brown shrimp, *Penaeus setiferus* Linn. and *Penaeus aztecus* Ives. Texas A&M Univ. Sea Grant 76-202. 196 pp.

ZAR, J.H. 1974. Bioestadistical Analysis. Prentice Hall Englewood Cliffs N.F. 619 p.

ZUBAY, G. Biochemistry. Addison-Wesley Publishing Company, Inc.. U.S.A. 1268 pp.

ZUNIGA, R.O. 1983. Distribución de la energía en juveniles de *Penaeus brasiliensis* alimentados con dietas diferentes. *Cienc. y Tec. del Mar, CONA* 7:27-45.

ANEXO 1.- Comportamiento diario de la ingestión, excreción nitrogenada ( $R_{RUT} + R_{ICA}$ ) y la respiración ( $R_{RUT} + R_{ICA}$ ) que presentaron los muchos crustáceos de *L. setiferus* en cautiverio mantenidos en 27 y 31 °C. Valores promedio.



Anexo 2.- Comparación de los diferentes componentes de la hemolinfa evaluados en machos adultos de *L. setiferus* recién capturados (línea Base, LB) y aquellos que se mantuvieron en cautiverio durante 8 días a 27 y 31 °C (C). Promedios ± Error Estándar

	27 °C		31 °C	
	LB	C	LB	C
<b>INMUNOLOGICOS</b>				
HT cel/mm <sup>3</sup>	60231 ± 3550 <sup>a</sup>	32446 ± 7372 <sup>b</sup>	85866 ± 5371 <sup>a</sup>	72540 ± 5938 <sup>a</sup>
N	54	17	27	14
CG cel/mm <sup>3</sup>	4837 ± 242 <sup>a</sup>	2667 ± 634 <sup>b</sup>	6637 ± 406 <sup>a</sup>	5942 ± 479 <sup>a</sup>
N	54	17	27	14
CSG cel/mm <sup>3</sup>	26437 ± 1547 <sup>a</sup>	16133 ± 3595 <sup>b</sup>	48266 ± 2734 <sup>a</sup>	30514 ± 1833 <sup>b</sup>
N	54	17	27	14
CH cel/mm <sup>3</sup>	26552 ± 1866 <sup>a</sup>	9155 ± 2234 <sup>b</sup>	29333 ± 2316 <sup>a</sup>	34057 ± 3273 <sup>a</sup>
N	54	17	27	14
FO D.O.490 nm	0.50 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.76 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.54 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.72 ± 0.10 <sup>a</sup>
N	58	18	12	14
<b>BIOQUIMICOS</b>				
Calcio mg/MI	0.59 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.62 ± 0.31 <sup>a</sup>
N	56	18	27	13
Triacilglicéridos mg/ml	0.38 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.27 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.49 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>b</sup>
N	58	18	27	14
Colesterol mg/ml	1.06 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.62 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.94 ± 0.12 <sup>b</sup>
N	57	18	27	14
Proteínas mg/ml	707.3 ± 64.2 <sup>a</sup>	345.8 ± 69.3 <sup>b</sup>	254.3 ± 25.1 <sup>a</sup>	219.6 ± 12.3 <sup>a</sup>
N	56	18	27	14
Glucosa mg/ml	0.14 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.009 <sup>a</sup>	0.08 ± 0.007 <sup>b</sup>
N	57	18	27	14
Lactato mg/ml	0.07 ± 0.007 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.003 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.008 <sup>a</sup>	0.07 ± 0.002 <sup>a</sup>
N	58	17	24	14
CO-hipo mOsm/kg	-116.5 ± 5.36 <sup>a</sup>	-185.9 ± 8.5 <sup>b</sup>	-34.1 ± 8.2 <sup>a</sup>	-124.5 ± 5.1 <sup>b</sup>
N	58	18	27	14

Promedios seguidos de letras diferentes en cada temperatura, implican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )