



00366
18
**Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología.
Universidad Nacional Autónoma de México.**



Evaluación de la interacción genotipo-medio ambiente en el crecimiento de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en condiciones de laboratorio.

TESIS

que para obtener el grado académico de
Maestro en Ciencias
(Biología Marina)

Presenta:

Biól. Pesq. José Martín Suárez González

Directora de tesis

Dra. Ana María Ibarra Humphries

Comité Tutorial:

Dr. Federico Alberto Abreu Grobois
Dr. Michel E. Hendrickx Reners

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Mazatlán, Sinaloa, noviembre del 2003



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.

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

PAGINACION DISCONTINUA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo funcional.

NOMBRE: JOSE MARTIN SUAREZ

RODRIGUEZ

FECHA:

6-NOV-87

FIRMA:

Suarez Gonzalez Jose
MARTIN

E oi dezir que Ruy Pérez de Viedma, un caballero muy grande de Galizia, veniendo de la guerra de los moros, yendo para su tierra, pasó en el tiempo de los gazvilanes nuevos por el Pedroche e fizo llevar de allí veinte gazvilanes nuevos primas e torquelos en sus alcabazes e des que los tovo en su tierra fizolos echar en un monte suyo e dizen que después acá ay allí, en aquella comarca, muy buenos gazvilanes, mejores que primero avia.

Pero López de Ayala

Libro de la caça de las aves, Óvidos, Portugal
mes de junio, año de M trezientos e ochenta e seis
era de M ccc xx iiii años

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Con mucho cariño para mi Madre

A Fanny Itzel y Fabián

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Agradecimientos

El primer agradecimiento, no dudo en dirigirlo a quien o quienes por una traición de mi memoria no sean incluidos por su nombre en esta listado. Además considero pertinente aclarar de entrada que los aciertos que hay en este trabajo son de manera innegable producto de la colectividad del mismo, sin embargo los errores en los que se pudo haber incurrido en el análisis y la interpretación posterior son solo míos.

Agradezco el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el otorgamiento de una beca de estudios. A los proyectos CONACyT-Red Mexicana de Acuicultura (proyecto 100-2), "Optimización de la Producción Comercial del Camarón, Línea 1", a cargo de la Dra. Ana María Ibarra y el Dr. Ilie Racotta y también al proyecto SIMAC (Nº. 00BCS7502), a cargo de la Dra. Ana M. Ibarra por el financiamiento total de toda la parte experimental y pruebas de laboratorio. Al programa de posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S. C. Por el otorgamiento de beca. Al posgrado de Ciencias del Mar y Limnología, particularmente al Dr. Martín Merino Ibarra, por el apoyo logístico y económico otorgado a lo largo esta investigación.

Dudé en incluir en esta sección a la Dra. Ana María Ibarra y no se entienda esto como una falta de gratitud, al contrario su ayuda y aportación en este trabajo fue tan profunda, que realmente merece estar es en el listado de autoría. Gran parte de las ideas, resultados y conclusiones aquí plasmadas no hubiesen podido concretarse sin su auxilio. Como no me es posible incluirla como coautor de este trabajo, le externo aquí mi mas profundo agradecimiento, por el tiempo dedicado, por la gran paciencia mostrada y por sus enseñanzas.

Mi mas sincero agradecimiento al Dr. Ilie S. Racotta Dimitrov, además de un reconocimiento adicional porque logró en horas de paciente asesoría que yo haya comprendido de la manera mas sencilla en que pueda plantearse un ciclo fisiológico, a donde van a parar los diferentes componentes de la alimentación después de que el organismo los ingiere y digiere, lamento mucho que su nombre no pueda aparecer como asesor de este trabajo ya que eso fue en realidad en todo momento durante mi estancia en el CIBNOR, La Paz.

Agradezco a mis revisores, Dr. Federico Alberto Abreu Grobois, Dr. Michel E. Hendrickx Reners, Dr. Domenico Voltolina Lobina y Dr. Manuel Uribe Alcocer, por sus acertadas recomendaciones a lo largo de la integración de este trabajo a quienes fueron parte de mi comité tutorial, y las posteriores revisiones ya como sinodales, todas estas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

recomendaciones contribuyeron indiscutiblemente a la mejoría de este trabajo.

Especiales gratitudes al Ing. Acuac. José Luis Ramírez Arce, por ser el director del equipo de técnicos que intervinieron en este trabajo, su experiencia ayudo en gran medida a que la parte experimental y cultivo pudiesen concluirse sin mayores problemas. Su intervención y supervisión en todas las fases del desarrollo técnico de los cultivos fue francamente invaluable. Agradezco también de manera muy especial a la M. en C. Diana Patricia Carreño León, su paciencia y enseñanza en las sesiones de laboratorio de bioquímica las cuales hubiesen sido sencillamente irrealizables sin su ayuda y experiencia.

A Clara Ramírez, Germán Ramírez, Rosalba Alonso y Carolina Ruiz, en la UA-Mazatlán por dedicar parte de su valioso tiempo a ayudarme a encontrar y enviarme la mayoría de los artículos consultados para respaldar este trabajo. También por facilitarme la vida en toda la tramitología especialmente por estar yo mucho tiempo fuera de la sede del instituto y hacer que un porcentaje mayor de mi persona estuviera dedicado a la investigación agradezco a Margarita Cordero. Agradezco también a Horacio Sandoval y Manuel Melero, del posgrado del CIBNOR por las facilidades prestadas en el área de computo.

A todo el equipo del laboratorio de Genética Acuícola del CIBNOR, a Susana Ávila, del laboratorio "seco" por mantenerse pendiente del suministro de reactivos y material de laboratorio. En las áreas de Maduración e Inseminación, cuidados en desarrollo larvario temprano, cuidados de larvarios tardíos y juveniles a: José Luis, Cipriano, Basilio, Carlos Ivan y Fabiola. Apoyo en los muestreos: En las tediosas y maratónicas sesiones de anestesia, medición, pesaje y muestreo de organismos agradezco nuevamente a: José Luis Ramírez, Juan Manuel Macklitz, Gabriel González, Rosalio Maldonado, Armando Monge y Minerva Cerro por su colaboración en esta fase de ambos experimentos. También por su apoyo en la sección Raceway sumados a la lista anterior agradezco a Izmene, Cipriano y Basilio.

¡Muchas Gracias!

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

J. M. S. G.

INDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	2
2.1. Antecedentes	2
2.2. Justificación	13
3. OBJETIVOS	14
3.1. General:	14
3.2. Específicos:	14
4. METODOLOGÍA	15
4.1. Origen de los reproductores	15
4.2. Conformación de las familias	15
4.2.1. Desove, eclosión y cultivo larvario en etapas tempranas	16
4.2.2. Crecimiento post-larvario	16
4.3. Diseño experimental	17
4.3.1. Primer experimento	17
4.3.2. Segundo experimento	20
4.3.3. Análisis bioquímicos	22
4.4. Análisis estadísticos	25
4.4.1. Primer y segundo experimento: Evaluación de la interacción genotipo- ambiente sobre el crecimiento	25
4.4.2. Primer Experimento: Evaluación del efecto de genotipo, salinidad, y temperatura sobre la mortalidad	26
4.4.3. Segundo Experimento: Evaluación del efecto de la salinidad y la temperatura en la mortalidad	27
4.4.4. Composición bioquímica (primer experimento): Efectos de la temperatura, la salinidad y el genotipo	27
5. RESULTADOS	29
5.1. Primer Experimento	29
5.1.1. Crecimiento	29

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.1.2.	Mortalidad	32
5.1.3.	Composición bioquímica	33
5.2.	Segundo experimento	40
5.2.1.	Crecimiento	40
5.2.2.	Mortalidad	43
6.	<i>DISCUSIÓN</i>	44
6.1.	Interacción genotipo-ambiente sobre el crecimiento	44
6.2.	Efectos aislados de la temperatura ó la salinidad sobre el crecimiento	50
6.3.	Interacción temperatura y salinidad sobre el crecimiento	54
6.4.	Composición bioquímica	57
6.5.	Mortalidad	61
7.	<i>CONCLUSIONES</i>	63
8.	<i>LITERATURA CITADA</i>	64

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

- Figura 1.- Representación gráfica de las posibles respuestas al ambiente de 4 genotipos (\times G1; \triangle G2; \square G3; \diamond G4:), sometidos a condiciones ambientales diferentes (E-1, E-2, E-3, E-4). El mérito evaluado es el peso. **A)** Sin interacción genotipo-ambiente **B)** Con interacción genotipo-ambiente expresada como diferencia de sensibilidad **C)** Con interacción genotipo-ambiente (nótese en este último caso cambio en el orden del mérito entre ambientes).....**Página 5**
- Figura 2.- Esquema completo del sistema de cultivo implementado para llevar a cabo ambos experimentos de crecimiento. Cada una de las piscinas esquematizadas en la parte superior representó una combinación de temperatura y salinidad distinta (A = 32°C/35 ‰; B = 28°C/25 ‰; C = 32°C/25 ‰ y C = 28°C/35 ‰) toda esta instalación estuvo en interiores y a temperatura controlada... **Página 20**
- Figura 3.- Detalle de la colocación en el primer segmento abdominal de los juveniles de la marca alfanumérica de elastómero (Northwest Marine Technology; Washington, USA).....**Página 22**
- Figura 4.- Primer experimento. Efecto de la interacción de la salinidad y la temperatura en el crecimiento promedio de 10 familias de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) **A)** Ganancia de peso húmedo total (GP) y **B)** incremento de longitud total (CL). (Letras iguales junto al símbolo de las medias indican que no se observaron diferencias estadísticamente significativas).....**Página 32**
- Figura 5.- Efecto de la interacción de la salinidad y la temperatura en el contenido promedio de carbohidratos en hepatopancreas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (Letras iguales junto a las medias indican que no se observaron diferencias significativas, no se incluyen valores de dispersión por que los datos fueron retransformados de raíz cuadrada).....**Página 35**
- Figura 6.- Efecto de la interacción de la salinidad y la temperatura en el contenido promedio de triglicéridos en hepatopancreas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (Letras iguales junto a las medias indican que no se observaron diferencias significativas, no se incluyen valores de dispersión por que los datos fueron retransformados de raíz cuadrada).....**Página 36**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 7.- Efecto de la interacción de la salinidad y la temperatura en el contenido promedio de proteínas en hepatopancreas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (Letras iguales junto a las medias indican que no se observaron diferencias significativas, no se incluyen valores de dispersión por que los datos fueron retransformados de raíz cuadrada).....**Página 38**

Figura 8.- Interacción entre salinidad, temperatura y genotipo, en el contenido medio de proteínas en hepatopancreas de los juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* utilizados en los experimentos. (* No se muestran las unidades debido a que son los valores de raíz cuadrada y no los observados).....**Página 39**

Figura 9.- Segundo experimento, efecto de interacción salinidad x temperatura en el crecimiento de 10 familias de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) **A**) Incremento de peso húmedo (GP) y **B**) incremento de la longitud (CL).(Letras iguales junto al símbolo de las medias indican que no se observaron diferencias significativas).....**Página 42**

Tabla 1	Tratamientos implementados y aplicados a las unidades experimentales en el primer experimento.....	Página 18
Tabla 2	Tratamientos implementados y aplicados a las unidades experimentales en el segundo experimento	Página 21
Tabla 3	Temperaturas y salinidades nominales y observadas (promedios), durante el primer experimento.....	Página 23
Tabla 4	Primer experimento. MANOVA (valores de P) obtenidos de los efectos de la temperatura, la salinidad y las familia y su interacción en la ganancia en peso húmedo y longitud	Página 30
Tabla 5	Primer experimento, valores observados medias (EE) de crecimiento en longitud y ganancia de peso, en las salinidades y temperaturas evaluadas.....	Página 31
Tabla 6	Primer experimento, resultados de los efectos de temperatura, salinidad, familia y su interacción en la mortalidad. ANOVA (valores de P)	Página 33
Tabla 7	Primer experimento, porcentajes de mortalidad observados en cada uno de los tratamientos (Datos retransformados de arco seno a porcentuales).....	Página 33
Tabla 8	Primer experimento. MANOVA (valores de P) resultado de los efectos de temperatura, salinidad, familia y su interacción en el contenido de CHOS, triglicéridos y proteínas en hepatopáncreas.	Página 34
Tabla 9	Primer experimento, solo medias de los valores observados de los componentes bioquímicos (1), en las salinidades y temperaturas evaluadas.....	Página 34
Tabla 10	Temperaturas y salinidades nominales y observadas (medias), durante el segundo experimento.	Página 40

- Tabla 11
Segundo experimento MANOVA (Valores de P) Resultados de los efectos de temperatura, salinidad, familia y su interacción en la ganancia en peso húmedo (GP) y crecimiento en longitud (CL). **Página 41**
- Tabla 12
Segundo experimento, valores observados (medias) de crecimiento en longitud y ganancia de peso, en las salinidades y temperaturas evaluadas..... **Página 42**
- Tabla 13
Segundo experimento, resultados de los efectos de temperatura y salinidad y su interacción en la mortalidad por familia. ANOVA (Valores de P). **Página 43**
- Tabla 14
Segundo experimento, porcentajes de mortalidad observados en cada uno de los tratamientos (Datos retransformados de arcoseno a porcentaje)..... **Página 44**
- Tabla 15
Estudios de interacción entre genotipo y ambiente (IGA) y su intensidad a nivel familiar dentro de una población para diferentes especies acuícolas (Modificado de Pérez-Rostro 2002).(+) Intensidad mayor, (-) Poca intensidad (*) Intensidad media..... **Página 48**

1. RESUMEN

Se evaluó el efecto del ambiente sobre el crecimiento de 10 familias de hermanos completos (*full-sib*) de *Litopenaeus vannamei*, con el fin de determinar si existía una interacción genotipo-ambiente (IGA). Los datos observados fueron ganancia en peso total (GP) y crecimiento en longitud (CL). Se constituyeron cuatro ambientes de evaluación (A = [35 ‰/32° C]; B = [25 ‰/32° C]; C = [25 ‰/28° C] y D = [35 ‰/28° C]). Se midió además el efecto de el ambiente sobre el contenido de componentes bioquímicos en hepatopancreas como carbohidratos (CHOS), triglicéridos (TG) y proteínas (PROT). Los esquemas ambientales fueron los mismos en ambos experimentos difiriendo la edad de los organismos. Después de 21 días de tratamiento en ambos casos, la IGA para el crecimiento de juveniles de camarón blanco no fue significativa. La ausencia de IGA indicó que la selección resultará en una respuesta similar en cualquiera de los ambientes evaluados. Se observó en cada uno de los experimentos que la ganancia de peso se incremento al incrementarse la temperatura y el crecimiento mostró evidencias de correlacionarse inversamente con la salinidad en los tratamientos. Las condiciones a las cuales ocurrió el mayor crecimiento (B = [25 ‰/32° C]) coincidió con una baja concentración de CHOS y PROT, pero una alta concentración de TG. Las bajas concentraciones de CHOS y PROT pueden ser explicadas como uso de sustratos para la muda por el mayor crecimiento que ocurrió en esas condiciones, al no ser requeridas para osmorregulación en baja salinidad, las PROT pudieron ser movilizadas junto con los CHOS para crecimiento. Las altas concentraciones de TG pueden deberse al hecho de que al movilizar las PROT y CHOS los TG constituyeron una forma de almacenamiento de energía para las demás funciones corporales.

Palabras clave: Crecimiento, Interacción genotipo-ambiente, condición fisiológica, mejoramiento genético, *Litopenaeus vannamei*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. INTRODUCCION

2.1. Antecedentes

El cultivo de camarón a escala comercial ha experimentado un elevado crecimiento en las últimas dos décadas debido principalmente al incremento de la demanda en los mercados europeo y norteamericano (Dore, 1993; Rosenberry, 1996). Sin embargo, aunque esta actividad ha mostrado una tendencia a ser mundial, la producción se ha concentrado en dos áreas principales, que comprenden algunos países del sudoeste asiático y casi la totalidad de los países latinoamericanos con climas tropicales y subtropicales. Esta concentración se debe en parte a que estas regiones cuentan con una cantidad importante de tierras bajas costeras, las cuales presentan un gran potencial de convertirse en granjas camaronícolas y además cuentan con condiciones climáticas adecuadas para el crecimiento del camarón (Rosenberry, 1995).

La industria camaronícola ha continuado su expansión aceleradamente y la resolución de muchos de los problemas que se han generado hacen apremiante la integración en esta industria de conocimientos generados por la ciencia. Para poder alcanzar un control real en el cultivo de camarón, es importante generar conocimiento de áreas tales como los efectos de la domesticación sobre las especies utilizadas en los cultivos e incluir estudios sobre su genética (Newkirk, 1980). Hasta la fecha, se han realizado algunos estudios que indican la presencia de diversidad genética explotable para beneficio de la camaronicultura (Chow y Sandifer, 1991). En cultivos de engorda se detectan diferencias de desempeño en diferentes poblaciones de postlarvas, aun cuando, por estar en el mismo estanque han compartido el ciclo de cultivo, el agua y

el manejo técnico, lo que ha sustentado que las diferencias genéticas son importantes en la determinación del desarrollo y de la talla final en camarones peneidos (Chow y Sandifer, 1991).

La genética es un área que por haber experimentado un gran desarrollo se ha diferenciado en varias ramas importantes como la genética molecular, la citogenética, la genética de poblaciones y la genética cuantitativa, ramas que tienen incidencia en los programas de mejoramiento genético de los organismos. Sin embargo la genética poblacional y la genética cuantitativa cobran una importancia especial, porque constituyen la base sobre la que se fundamentan los métodos de la mejora genética.

El manejo genético es ya un logro tecnológico aplicado a otros procesos productivos agropecuarios terrestres y acuáticos. Por ejemplo, en los cultivos de salmón del Atlántico se ha logrado reducir al 50% el tiempo necesario para alcanzar la talla comercial y , la cantidad de alimento que se necesita para producirlos se ha reducido en un 68% (Gjedrem, 1997).

La genética cuantitativa estudia caracteres métricos, de gran interés tanto desde el punto de vista evolutivo como desde una perspectiva de aplicación. Esto se debe a que una buena parte de los cambios evolutivos se producen por acción de la selección natural sobre pequeñas variaciones de los organismos en características fenotípicas como la forma, el tamaño o alguna característica fisiológica (Alvares-Jurado, 1987). Por otro lado la mayor parte de los caracteres de interés comercial son precisamente de tipo cuantitativo (Falconer, 1981). Estas características fenotípicas o cuantitativas están determinadas por la acción de múltiples genes y debido a que la segregación múltiple de

todos esos genes no puede ser evaluada en forma individual, estos caracteres son estudiados por la genética cuantitativa a través de patrones de variación en grupos genéticos de parentesco conocido.

Los cambios genéticos que tienen lugar en los procesos evolutivos se producen básicamente por la acción de la mutación, la migración, la deriva genética y en especial, la selección natural. Esta última actúa sobre la variabilidad genética existente en las poblaciones promoviendo su adaptación al ambiente (Falconer, 1981). Cuando se hace selección artificial (mejoramiento) se actúa precisamente sobre esa variabilidad, seleccionando aquellos genotipos que determinan alguna característica física ó fenotípica deseable desde el punto de vista económico ó comercial (Alvares-Jurado, 1987). El seleccionador utiliza estos criterios para definir el mérito de interés, es decir lo que se quiere seleccionar y mejorar de un organismo en particular como por ejemplo el peso, la longitud y la eficiencia de crecimiento entre otros.

La genética cuantitativa reconoce dos hechos importantes: el primero es que la mayoría de los caracteres cuantitativos implican la contribución de genes diferentes (poligénicos) y el segundo es que estos caracteres cuantitativos son con frecuencia afectados por factores ambientales. Por otro lado, el efecto que el ambiente puede tener sobre los caracteres cuantitativos puede no ser necesariamente el mismo sobre todos los genotipos representados en una población (Falconer y Mackay, 1996). Esto es, al ocurrir un cambio de ambiente, todos los genotipos pueden responder similarmente con un cambio en un valor fenotípico como por ejemplo el peso (figura 1 "A") ó de manera diferente resultando en lo que se conoce como una interacción genotipo-ambiente (IGA). Mientras que algunas de estas interacciones entre genotipos y ambientes pueden ser atribuidas a diferencias en sensibilidad de los diferentes genotipos al

ambiente (Falconer y Mackay, 1996), sin que esto resulte necesariamente en un cambio de rango ú orden de mérito (Figura 1, "B").

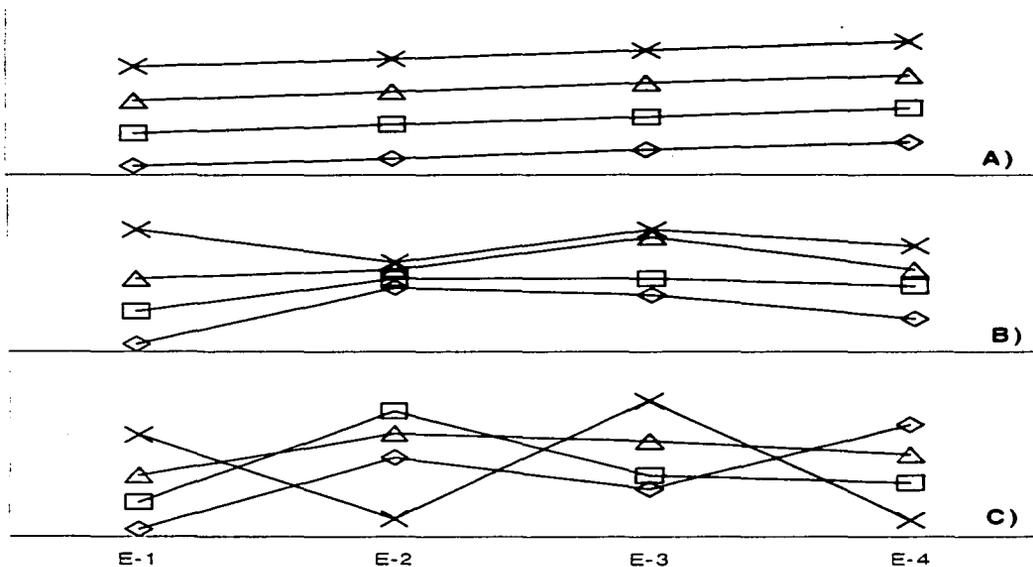


Figura 1.- Representación gráfica de las posibles respuestas al ambiente de 4 genotipos (X G1; △ G2; □ G3; ◇ G4), sometidos a condiciones ambientales diferentes (E-1, E-2, E-3, E-4). El mérito evaluado es el peso. **A)** Sin interacción genotipo-ambiente **B)** Con interacción genotipo-ambiente expresada como diferencia de sensibilidad **C)** Con interacción genotipo-ambiente (nótese en este último caso cambio en el orden del mérito entre ambientes).

En otros casos algunos genotipos con desempeño óptimo en un ambiente pueden presentar el peor desempeño en otro, esta interacción genotipo-ambiente es caracterizada por la presencia de un cambio en el

orden de mérito de los genotipos cuando se les evalúa en diferentes medios ambientes (Figura 1, "C"). y es la de mayor interés en programas de mejoramiento genético.

Se han observado estas interacciones significativas entre genotipos y el ambiente al estudiar diferentes sistemas de engorda, por ejemplo en bagre de canal (Sneed, 1971), en carpas (Moav *et al.* 1975); en el salmón del Atlántico (Gunnes y Gjedrem, 1978) y en la trucha arco iris (Gunnes y Gjedrem, 1981).

Una distribución geográfica amplia frecuentemente requiere que las poblaciones se adapten a condiciones ambientales diversas. Aún en una misma región es de esperar que algunas poblaciones estén adaptadas a las condiciones ambientales imperantes en zonas particulares de agregación, ya que los factores ambientales como la temperatura y la salinidad entre otros, son capaces de modificar el efecto de la expresión de los genes en el fenotipo (Kirkpatrick y Lande, 1989).

La necesidad de contar con estos conocimientos en el cultivo de camarón ha sido reconocida desde hace mucho tiempo (Primavera, 1985; Malecha y Hedgecock, 1989; Hedgecock y Malecha, 1991). En particular, es importante conocer si este tipo de interacción entre genotipos y ambientes ocurre en el caso de *Litopenaeus vannamei* debido a la gran variedad de ambientes en los cuales se cultiva esta especie.

La importancia de conocer si existe IGA en un programa de selección radica en el hecho de que, si esta interacción existe, por ejemplo para el crecimiento del camarón, se tendrían que desarrollar diferentes líneas para las diferentes condiciones ambientales existentes en las zonas de cultivo. Esto en términos económicos no es la mejor opción, ya que

requiere no sólo seleccionar diversas líneas, sino además mantener sus descendencias en cultivo, el uso de una sola línea de selección cuando existe una IGA resultará en beneficios solamente para aquellos productores que operen en zonas con condiciones ambientales similares a aquéllas donde se llevó a cabo la selección de la línea específica.

En la región noroeste de México, donde el cultivo de camarón ha tenido un gran desarrollo, la temperatura media anual en los cultivos es de 28° C y al igual que en otras regiones, la mayoría de las granjas utilizan ambientes estables de agua marina (35 ‰) o estuarinas (15‰ a 40 ‰), donde la temperatura y la salinidad de los cultivos es la misma que se encuentra de manera natural (Parado-Esteva et al., 1993). Esta apreciación es importante porque la temperatura y la salinidad son consideradas los factores ambientales que más afectan a los organismos marinos y sus efectos sobre la biología de las especies son complejos y amplios (Kinne, 1963).

La temperatura del medio controla los procesos bioquímicos y fisiológicos y por ende el crecimiento de los organismos acuáticos, influyendo en las reacciones bioquímicas relacionadas con el metabolismo (Fry, 1947; Neill y Bryan, 1991). Al aumentar la temperatura dentro de los límites de tolerancia de las especies, aumenta el consumo de alimento y se obtiene un crecimiento mayor. Aumentos de temperatura cercanos a los límites superiores de tolerancia resultan en respuestas metabólicas elevadas. Por ejemplo Venkataramiah et al. (1974) observaron en *P. aztecus* que a 31° C se dio la tasa más alta de consumo de alimento y la mejor utilización del mismo se dio a 26° C. La temperatura óptima y su intervalo de tolerancia pueden diferir no sólo entre especies y sus poblaciones, sino también entre los diferentes estadios de edad de los organismos. Por ejemplo Wyban et al. (1995)

observaron que el desarrollo y la conversión alimenticia se incrementa directamente con la temperatura, pero que este efecto térmico se torna inverso al comparar diferentes clases de edad, comportándose de manera inversa a la talla de los organismos. Estos autores al hacer comparaciones en un intervalo de 23° C a 30° C concluyeron que la temperatura óptima es probablemente superior a los 30° C, pero sólo en tallas pequeñas, ya que en tallas mayores ellos encontraron una temperatura óptima de 27° C.

Por otro lado, se sabe que las temperaturas extremas pueden convertirse en un factor letal, lo cual delimita la distribución de los organismos (Lester y Pante, 1992). Huang (1983) observó que la temperatura máxima letal para *Penaeus vannamei* criado a 25‰ fluctuó entre los 37° C y 38° C y para *P. stylirostris* crecido a 30‰ entre 38° C y 39° C. Las temperaturas óptimas encontradas para el cultivo de camarón están cercanas a los 28° C, observándose un intervalo que va de los 27° C a los 32° C. La temperatura óptima es aquella a la cual se obtienen los mejores resultados de crecimiento y supervivencia para un grupo de individuos. Sin embargo es importante señalar que es difícil definir el concepto de temperatura óptima en un cultivo, ya que generalmente interactúa estrechamente con otros factores ambientales como la salinidad ya que se sabe que la salinidad y la temperatura tienen un papel importante en el desarrollo y la supervivencia (Staples y Heales, 1991; O' Brien, 1994), aunque es aceptado que la temperatura tiene un efecto más importante (Parado-Esteba et al., 1998).

La salinidad es otro de los factores ambientales que afectan de manera importante las características fisiológicas en organismos acuáticos (Chiyokubo et al. 1998). En la mayor parte de los crustáceos se ha observado una mayor tolerancia a fluctuaciones de salinidad en los

adultos que en los juveniles, aunque pueden afectar, por ejemplo, su capacidad reproductiva (Gilles et al.; 1998). Así como los diferentes estadios de vida varían en su tolerancia a cambios en salinidad, diferentes poblaciones y especies presentan diferentes rangos óptimos de salinidad. Por ejemplo, se ha observado que existen diferencias de tolerancia entre poblaciones de langostinos de las especies *Macrobrachium carcinus* (Choudhury, 1971) y *M. rosenbergii* (Sarver et al., 1979), en los peneidos, los efectos de cambios abruptos en la salinidad han sido más estudiados en estadios larvarios y generalmente como pruebas de estrés asociadas a evaluaciones de tolerancia a esta variable. Por ejemplo, Berry (1982) sometió larvas de camarón café *P. californiensis* a pruebas de choque osmótico con diferentes salinidades, y encontró que las larvas pueden tolerar disminuciones hasta en 10 ‰ sin morir, por su parte Porchas-Cornejo (1996) observó que las larvas de *P. californiensis* cultivadas a diferentes salinidades tienden a ser ligeramente mayores cuando la salinidad es menor dentro del intervalo utilizado en el cultivo larvario de esta especie que está entre las 30 y 36 ‰.

Entre los efectos más importantes de los cambios en la salinidad en el camarón está el rompimiento del equilibrio osmótico, que resulta en que considerables cantidades de energía sean utilizadas para reajustar ese equilibrio (Chen y Lin, 1998), afectando el crecimiento y la supervivencia. Así, Hewitt-Contreras (1992) observó una relación inversa entre la salinidad y el peso final promedio en *P. esculentus* y entre la salinidad y la supervivencia.

Aunque efectos de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento y la supervivencia pueden ser estudiadas independientemente, el estudio conjunto de estas dos variables permite predecir las condiciones óptimas

de cultivo, ya que la temperatura óptima puede variar dependiendo de la salinidad del cultivo. Por ejemplo, el análisis de los efectos individuales y combinados de temperatura y salinidad, permitió conocer que el efecto de la temperatura sobre el crecimiento y la supervivencia en peneidos, es mayor que el de la salinidad así como que la combinación de ambos factores influyen de manera importante en el ciclo de muda, afectando de manera indirecta el crecimiento (Lester y Pante, 1992).

El estudio de los efectos combinados de la salinidad y la temperatura sobre diferentes genotipos nos permite establecer metodologías para el mejoramiento genético óptimo. Entre los estudios previos sobre las interacciones genotipo-ambiente está el trabajo de Beachman (1987), quien encontró que familias de hermanos completos (*full-sib*) de salmón crecieron mejor en ambientes de temperatura relativamente alta y agua dulce que en ambientes de baja temperatura y agua salada, encontrando una interacción significativa entre genotipos (familias) y ambiente para peso final.

En las langostas del género *Homarus* cultivadas a diferentes temperaturas se ha observado una interacción entre genotipos y ambientes (Hedgecock y Nelson, 1978). En copépodos, Bradley (1986) sometió diferentes familias del copépodo *Eurytemora affinis* a variaciones de temperatura y salinidad y observó que la respuesta fue similar en organismos emparentados. Okoshi *et al.* (1987) informaron de una interacción genotipo ambiente en el ostión, observando que la formación de "cámaras" (una deformidad no letal) en la concha del ostión japonés, *Crassostrea gigas*, tenía relación con el origen genético de las líneas, aunque su aparición fue dependiente del ambiente.

Cruz *et al.* (1998) observaron en almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) diferencias en desarrollo y supervivencia causada por sensibilidad de uno o más genotipos al ambiente, pero solamente cuando fueron criadas en condiciones diferentes a las de su ambiente de origen.

La respuesta de los organismos a los cambios en salinidad y temperatura además esta muy relacionado a su condición fisiológica. Esta puede ser evaluada a través del contenido de diferentes elementos de tipo energético (glucosa y carbohidratos), estructural (proteínas) y de reserva (triglicéridos), así como también indirectamente al someter a los organismos a pruebas de estrés de baja salinidad (Palacios *et al.*, 1998) y asociando su respuesta a este estrés con la condición fisiológica.

Una forma de evaluar la condición fisiológica se sustenta en el análisis de los niveles de reservas de energía utilizadas por la célula animal, como los triglicéridos (TG) y el glucógeno. La ventaja de almacenar TG es que estos proveen mas energía por unidad de peso y pueden ser almacenados de manera mas compacta que el glucógeno. En términos generales los lípidos juegan un papel primordial como fuente de energía en varias funciones fisiológicas de los organismos acuáticos y son sumamente importantes en el desarrollo temprano de animales acuáticos (Holland, 1978). En las larvas de los crustáceos la medición del contenido de TG se ha venido utilizando más ampliamente como una estimación indirecta del nivel nutricional. Su concentración se ha usado para predecir el potencial de supervivencia de un organismo (Fraser, 1989; Ouellet *et al.*, 1992; Mourente *et al.* 1995; Palacios *et al.*, 1998; Palacios *et al.*, 1999). El contenido de TG ha sido usado también para

evaluar el desarrollo y la condición nutricional de zoeas del cangrejo *Chionoecetes opilio* (Lovrich y Ouellet, 1994).

El metabolismo de las proteínas (PROT), por su parte, es clave para entender los requerimientos energéticos de los camarones dado que representan la fuente de energía más utilizada por los camarones (Deshimaru y Shigeno, 1972). Dall y Smith (1986) postularon que los altos requerimientos proteicos en los camarones pueden deberse a una capacidad limitada de almacenar sustancias de reserva como los lípidos y los carbohidratos (CHOS). Además, las PROT pueden actuar como fuente de aminoácidos libres los cuales juegan un papel importante en el equilibrio osmótico de los organismos marinos (Gilles, 1977).

Mientras que en los crustáceos las proteínas y los lípidos son las principales fuentes de energía (Barclay et al., 1983), los CHOS también son utilizados como almacenamiento de reservas de supervivencia y son requeridas durante los ayunos (Regnault, 1981). Por otro lado, el principal papel de los CHOS es la formación del exoesqueleto durante la muda, un proceso fisiológico asociado con el crecimiento.

En este caso los CHOS son utilizados en forma de glucógeno como materia prima para la formación de la quitina, la cual es el constituyente principal del exoesqueleto (van Handel, 1965; Abdel-Rahman, 1979; Sanchez, et al. 1991; Shiau y Peng, 1992; Loret, 1993; Stryer, 1995; Rosas et al., 1995; Omondi y Stark, 1996). Durante la muda, cuando el viejo exoesqueleto es eliminado, una nueva capa quitinosa se forma debajo, la cual tenderá a endurecerse hasta adquirir la consistencia y dureza que caracteriza al exoesqueleto.

2.2. Justificación

El camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), en algunas fases de su ciclo de vida presenta migraciones de ambientes marinos a ambientes estuarinos y viceversa (Kinne, 1963; Dall *et al.*, 1990), lo cual indica que presenta adaptaciones fisiológicas a condiciones variables de temperatura y salinidad.

La generación de datos confiables de los caracteres cuantitativos asociados con la producción en poblaciones de camarón sometidas a cultivo, debe ser cuidadosamente evaluada por que la influencia ambiental en su crecimiento es considerable. Las condiciones en la que se desarrollan los cultivos camarónícolas en México son, en la mayoría de los casos, las que el ambiente proporciona de manera natural, ya que el control total de las variables físicas y químicas está fuera del alcance operativo y muchas veces económico de la mayoría de las empresas que se dedican a cultivos comerciales de camarón.

Este trabajo pretende generar conocimiento para establecer si existe una interacción "genotipo-ambiente" sobre el crecimiento del camarón cuando se cría a diferentes salinidades y temperaturas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3. OBJETIVOS

3.1. General:

Establecer si diferentes condiciones ambientales, en este caso representadas como las combinaciones entre dos valores de temperatura y dos de salinidad, tienen efecto sobre el crecimiento y el orden de mérito de las familias de camarón blanco que conforman pies de cría para el mejoramiento genético.

3.2. Específicos:

Evaluar el efecto de la salinidad y de la temperatura sobre el crecimiento (estimado mediante el incremento en peso total y en longitud) de diferentes familias de camarón blanco, criadas en cuatro ambientes, resultantes de las combinaciones entre dos salinidades y dos temperaturas (cuatro esquemas ambientales).

Establecer el efecto de diferentes condiciones ambientales sobre el contenido de carbohidratos, triglicéridos y proteínas en el hepatopancreas de las diferentes familias de camarón criadas en las mismas condiciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. METODOLOGÍA

4.1. Origen de los reproductores

De diez familias experimentales, nueve fueron producto del apareamiento de progenitores domesticados provenientes de dos líneas: la de Acuacultores de la Paz S.A. de C.V. (APSA) y la de Mélagos , Venezuela, la décima familia fue obtenida de una hembra domesticada (APSA) y un macho silvestre.

4.2. Conformación de las familias

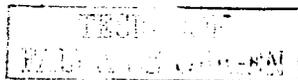
Todas las familias, cada una representando el genotipo promedio de los progenitores que las conformaron, fueron obtenidas en condiciones de laboratorio. Los reproductores fueron mantenidos en tanques rectangulares de 15 m² (3.0 m x 5.0 m). Para ayudar a estimular la maduración de las hembras se realizó la ablación unilateral del tallo ocular y se utilizó alimento fresco congelado incluyendo calamares, poliquetos y mejillones. Se mantuvo el fotoperíodo natural y una temperatura constante de 29° C procurando que su variación no fuera mayor a $\pm 1.0^{\circ}$ C. Diariamente al atardecer se revisó el estadio de madurez de las hembras para ubicar los especímenes que estuviesen maduras para ser inseminadas por la noche, ya que se utilizó el método de inseminación artificial. El espermátforo de los machos fue extraído por métodos manuales y adherido a la hembra. Las hembras ya inseminadas fueron separadas de manera individual en los tanques de desove.

4.2.1. Desove, eclosión y cultivo larvario en etapas tempranas

El desove y la eclosión de cada familia se realizó de manera individual en tanques de plástico de 200 L de capacidad llenados al 35%. Después de la eclosión, los nauplios fueron seleccionados aprovechando su fototropismo positivo o su geotactismo negativo. El cultivo de nauplio cinco (NV) hasta postlarva de 15 días de edad se hizo a una densidad de 100 larvas/L, en contenedores de plástico de 120 L con fondo plano. Las larvas fueron alimentadas con nauplios de *Artemia* vivos de reciente eclosión, hojuelas de *Artemia* (*Artemia* Flake) y peletizados comerciales cuidadosamente molidos y tamizados al tamaño de partícula adecuado para cada estadio larvario.

4.2.2. Crecimiento post-larvario

Después de 25 días de cultivo larvario (PL15), las postlarvas fueron transferidas a tanques exteriores para continuar con su desarrollo ubicados en un área parcialmente protegida, techada con tanques individuales de concreto de 100 cm x 100 cm x 60 cm, que se mantuvieron con flujo de agua continuo a razón de 300% del volumen cada 24 h y con aireación suplementaria, en estos estanques permanecieron hasta alcanzar la talla experimental. La alimentación suministrada fue peletizado comercial con 40% de contenido de proteína (P.I.A.S.A[®], *particulado "B"*).



4.3. Diseño experimental

4.3.1. Primer experimento

El experimento se diseñó para evaluar si existían diferencias en crecimiento entre 10 familias de hermanos completos de *Litopenaeus vannamei*, evaluadas en 4 diferentes condiciones de cultivo,

Se tomaron de manera aleatoria, para cada uno de los cuatro tratamientos, 80 juveniles de cada una de las 10 familias dentro de un intervalo de edad entre 59 y 70 días. El peso promedio inicial fue de 0.4905 ± 0.2501 g (media \pm S) y la longitud inicial promedio de 36.4 ± 6.74 mm (media \pm S). Veinte organismos de cada familia fueron utilizados en cada tratamiento y fueron distribuidos de manera aleatoria dentro de cuatro grupos (repeticiones) agrupando cinco organismos por familia en cada repetición. Para esto se utilizaron jaulas de plástico de 25 cm de altura con fondo plano de 20 cm de diámetro con el fin de mantener todas las repeticiones de las 10 familias en un solo tanque. En total para los 4 tratamientos se utilizaron 800 juveniles.

Los tratamientos se implementaron en piscinas de fibra de vidrio de 2,000 litros de capacidad, cada una llenada al 35% de su capacidad. Las piscinas se mantuvieron dentro del Laboratorio de Genética Acuícola (CIBNOR) con temperatura controlada artificialmente por medio de calentadores de agua con termostatos automáticos. Las características y distribución de estos tratamientos se describen en la Tabla 1.

Los organismos se aclimataron gradualmente a lo largo de 16 horas en el caso de la salinidad a una razón de 0.5 ‰ por hora y para el caso de la temperatura se requirió de 48 horas a una razón de 0.08° C por hora. Antes de iniciar la aclimatación todos los organismos estaban en las mismas condiciones ambientales (28° C y 35 ‰).

Tabla 1
Tratamientos implementados y aplicados a las unidades experimentales en el primer experimento

	Temperatura 28° C		32° C	
	Salinidad 25 ‰	35 ‰	25 ‰	35 ‰
Nº de Familias	10	10	10	10
Repeticiones	4	4	4	4
Organismos en cada repetición	5	5	5	5
Organismos en cada tratamiento	200	200	200	200

Previamente a la aclimatación se midió la longitud total (LT) y se obtuvo el peso húmedo total (PT) de manera individual en cada uno de los 800 juveniles utilizados en el experimento. Para llevar esto a cabo y con el fin de disminuir el estrés durante la manipulación, los organismos fueron anestesiados con el sedante comercial AQUÍ^S® (AQUI-S, Nueva Zelanda LTD, Australia).

El experimento tuvo una duración de 21 días. A lo largo de este tiempo los juveniles fueron alimentados dos veces al día con un alimento comercial de alta calidad (P.I.A.S.A[®], *particulado "B"*). Se puso especial cuidado en retirar los excedentes no consumidos, limpiando diariamente el fondo de las piscinas con un sifón y recambiando totalmente agua en los tanques de experimentación cada 24 horas. Toda el agua utilizada fue previamente pasada por un filtro de arena sílica, un filtro de diatomeas y dos filtros de cartuchos (5 y 1 micrómetros respectivamente) y se irradió con luz ultravioleta a 253.7 nm y una intensidad de 50,000 $\mu\text{W}/\text{seg}/\text{cm}^2$. Antes de utilizar el agua en los recambios, la temperatura y salinidad fueron cuidadosamente igualadas con la de la piscina del tratamiento correspondiente utilizando tinacos de 1,100 litros de capacidad para cada tratamiento. La aireación en las piscinas fue continua y distribuida en el fondo, promoviéndose la circulación del agua por medio de un par de sifones activados por aire

("airlift"), uno en cada extremo de las piscinas. Se midió la temperatura y salinidad por la mañana y tarde. Se aplicó además un baño antibiótico preventivo de Enroquen® (10% de enrofloxasina base, diluida en propilenglicol) a una concentración de 8 ppm en todos los tratamientos. Se puede ver un esquema completo del sistema en la figura 2.

Un día antes de finalizar el experimento se proveyó de alimento normalmente por la mañana pero se suprimió la ración vespertina con el fin de hacer un muestreo de los animales en ayuno. Al día siguiente los organismos fueron medidos y pesados, empleando nuevamente el anestésico AQUIS®. Al concluir la evaluación biométrica los juveniles fueron sacrificados por congelación en nitrógeno líquido para evitar deterioro en sus tejidos ó en los componentes bioquímicos, y conservados a -70° C hasta su procesamiento.

Las variables biométricas de interés para los subsecuentes análisis fueron el incremento en peso y longitud, las cuales se calcularon mediante las siguientes formulas:

Aumento de peso = Peso Final - Peso Inicial

Crecimiento en longitud = Longitud Final - Longitud Inicial

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

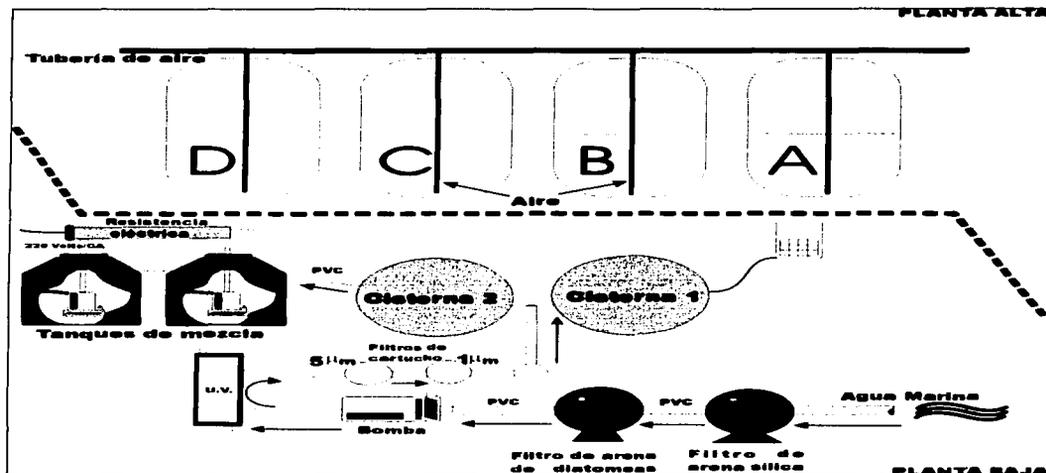


Figura 2.- Esquema completo del sistema de cultivo implementado para llevar a cabo ambos experimentos de crecimiento. Cada una de las piscinas esquematizadas en la parte superior representó una combinación de temperatura y salinidad distinta (A = 32°C/35 ‰; B = 28° C/25 ‰; C = 32° C/25 ‰ y C = 28° C/35 ‰) toda esta instalación estuvo en interiores y a temperatura controlada.

4.3.2. Segundo experimento

El segundo experimento fue diseñado de manera similar al primero en cuanto a los tratamientos evaluados (Tabla 2). Las diferencias principales fueron que en el segundo se evaluaron organismos de mayor edad y talla que en el primero y que se suprimió el uso de jaulas. Para mantener la identidad de cada uno de los organismos se utilizaron etiquetas alfa-numéricas de elastómero, las cuales están provistas de un color y clave única (Northwest Marine Technology; Washington, USA). Estas etiquetas o marcas se insertaron en el músculo del primer segmento abdominal por su cara dorsal utilizando una aguja diseñada especialmente para estos fines (Figura 3). Se respetó además la

configuración de tinas para cada tratamiento, y se utilizaron las mismas familias empleadas en el primer experimento en la medida posible.

Tabla 2
Tratamientos implementados y aplicados a las unidades experimentales en el segundo experimento

	Temperatura	28° C		32° C	
	Salinidad	25 ‰	35‰	25‰	35‰
Nº de Familias		10	10	10	10
Organismos por familia		7	7	7	7
Organismos por tratamiento		70	70	70	70

Las variables evaluadas para conocer si existía una IGA, al igual que en el primer experimento, fueron el incremento en peso (GP) y el crecimiento en longitud (CL) de los individuos durante las tres semanas de duración del experimento.

Se anestesiaron los organismos con AQUIS[®] y se midieron y pesaron de manera individual los 280 organismos utilizados para el experimento, insertando la etiqueta de elastómero antes de distribuirlos en los tratamientos, lo cual se hizo de manera aleatoria. Se colocaron 70 organismos en cada uno de los tratamientos, 7 de cada una de las 10 familias. Diariamente se revisó la población contabilizando los individuos vivos y cada siete días se ajustó la densidad de organismos en las tinas, agregando tantos individuos nuevos (sin marcar) como los que murieron durante esa semana con el fin de mantener la misma densidad entre los tratamientos. Los organismos introducidos para ajustar la densidad no se tomaron en cuenta en las evaluaciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

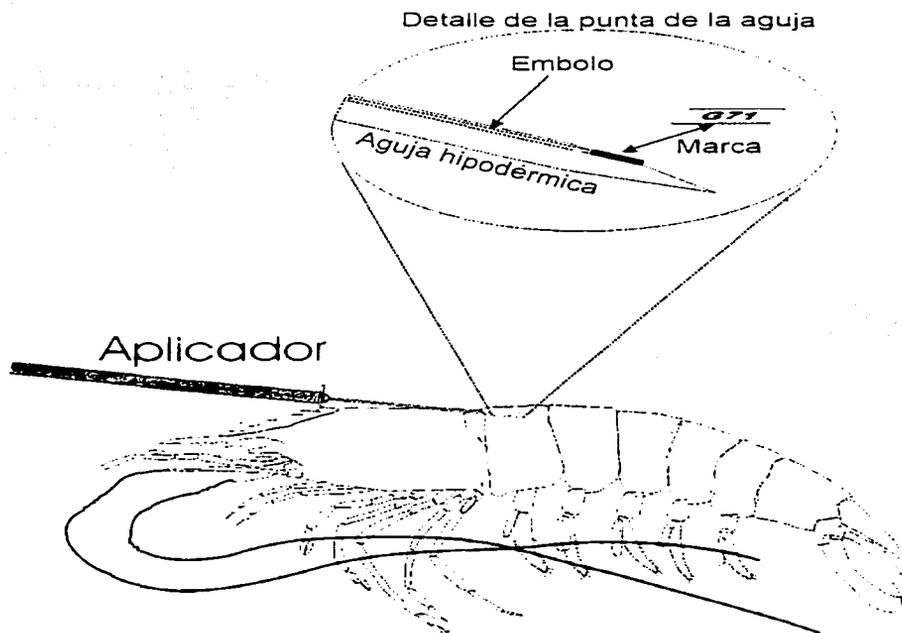


Figura 3.- Detalle de la colocación en el primer segmento abdominal de los juveniles de la marca alfanumérica de elastómero (Northwest Marine Technology; Washington, USA).

4.3.3. Análisis bioquímicos

Para la evaluación del efecto de los tratamientos de salinidad y de temperatura sobre la composición bioquímica de los organismos al final del primer experimento, se midieron los CHOS totales, los triglicéridos y las proteínas en el hepatopáncreas

4.3.3.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

La disección del hepatopáncreas para realizar los análisis bioquímicos fue precedida por la separación del abdomen del cefalotórax y la liberación de este último de los componentes musculares así como de antenas, ojos, pereiópodos y exoesqueleto.

Los hepatopáncreas de tres individuos de cada repetición se homogenizaron mezclados. La homogenización se llevó a cabo con un homogenizador mecánico en 1.5 ml de solución salina isotónica (NaCl 450 μ M, KCl 10 μ M) y a una temperatura entre 5 y 8° C, obteniendo así un extracto crudo.

4.3.3.2. DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS

Para la determinación de CHOS se precipitaron y extrajeron previamente las PROT contenidas en la muestra mediante el uso de ácido tricloroacético (TCA). Para esto se colocaron 500 μ l del extracto crudo en tubos de plástico de 1.5 ml y se le adicionaron 500 μ l de TCA, se homogenizó con ayuda de un vortex e inmediatamente se centrifugó a 3500 RPM a una temperatura de 5° C durante 15 minutos. Se separó 200 μ l del sobrenadante resultante en tubos de cristal y a estos se les añadió 1 ml de antrona al 1% diluida en ácido sulfúrico al 76 %. Se colocaron los tubos en un baño térmico a 80° C durante 2 minutos y se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 620 nm. El estándar utilizado para la curva de calibración (CC) fue solución de glucosa diluida en TCA a concentraciones conocidas de 2, 1, 0.5, 0.25 y 0.125 mg/ml, así como un blanco de referencia constituido únicamente por TCA (Palacios et al., 1998).

4.3.3.3. DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS

Para la determinación de triglicéridos (TG) se colocaron 20 μ l de extracto crudo en cada una de las celdas de la micro placa ELISA

empleada. Así mismo se trazó una curva de calibración de 5 puntos con concentraciones estándar de TG de 200, 100, 50, 25 mg/dl y el blanco de referencia (solo solución salina). Se adicionaron 200 μ l del reactivo comercial (GPO-PAD-Merck) a cada una de las micro-placas y se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente. Después de transcurrido este tiempo se leyeron en el colorímetro a una longitud de onda de 490 nm (Palacios et al., 1998).

4.3.3.4. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

Se colocaron 5 μ l del extracto crudo de hepatopáncreas en un tubo limpio y se adicionaron 20 μ l de solución de NaOH 0.1 N dejándose reposar (predigestión) durante 2 horas a temperatura ambiente (27° C). Transcurrido este tiempo y después de una agitación vigorosa (vortex) se tomó una muestra de 5 μ l y se mezcló con 1 ml de solución de Bradford (Bradford, 1974). Paralelamente se trazó una curva de calibración, con concentraciones conocidas de albúmina bovina de 5, 2.5, 1.25, 0.625 y 0.3125 mg/ml utilizando un blanco de referencia de solución salina. Se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 560 nm (Bradford, 1974)

4.3.3.5. CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES A PARTIR DE LOS DATOS DE ABSORBANCIA

Los resultados de concentración se obtuvieron a partir de los valores de absorbancia en cada uno de los casos y se calcularon mediante la fórmula general siguiente:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

$$\text{Concentración (mg / ml)} = \frac{(\text{Absorbancia})(\text{FD})}{(a)(\text{peso})}$$

Donde:

Absorbancia = lectura directa del espectrofotómetro

FD = factor de dilución, cantidad de agente de dilución usado en los homogenizados o en las posteriores diluciones.

a = pendiente, (regresión lineal absorbancia vs. concentración de la curva de calibración.

Peso = Peso de la muestra

4.4. Análisis estadísticos

4.4.1. Primer y segundo experimento: Evaluación de la interacción genotipo- ambiente sobre el crecimiento

Los experimentos se diseñaron para establecer si diferentes condiciones ambientales (salinidad y temperatura) tienen efecto diferencial sobre el crecimiento, pero además sobre el orden de mérito de las familias involucradas en el experimento. Se utilizó un modelo trifactorial para los datos de crecimiento de los dos experimentos.

Se realizó un análisis de varianza multivariado de efectos mixtos (modelo III) para estudio de los tres factores con fines de evaluar la significancia del efecto aleatorio del genotipo (familia) y los efectos fijos de la temperatura y de la salinidad sobre el crecimiento, evaluado con las variables peso (GP) y longitud (CL). Previamente se probó que los datos cumplieran con las condiciones de normalidad (prueba de Lilliefors) y homoscedasticidad (prueba de Bartlett).

Análisis de varianza multivariado de tres factores (MANOVA, Modelo III)

Factor A: Familias 10 niveles de estudio $i = (1, 2, \dots, 10)$

Factor B: Temperatura con dos niveles de evaluación $j = (28^\circ\text{C y } 32^\circ\text{C})$

Factor C: Salinidad con dos niveles de evaluación $k = (25\% \text{ y } 35\%)$

Todas las posibles interacciones se incluyeron en este estudio.

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + T_j + S_k + F_iT_j + F_iS_k + S_kT_j + F_iT_jS_k + e_{ijkl}$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

donde:

Y_{ijkl} es el crecimiento promedio dentro de la repetición l de la i -ésima familia en la j -ésima temperatura y la k -ésima salinidad, μ es la media paramétrica común, F_i efecto aleatorio de la i -ésima familia, T_j efecto fijo de la j -ésima temperatura y S_k es el efecto fijo de la k -ésima salinidad, $F_i T_j$ es el efecto aleatorio de la interacción de la j -ésima temperatura con la i -ésima familia, $F_i S_k$ es el efecto aleatorio de la interacción de la k -ésima salinidad con la i -ésima familia, $S_k T_j$ es el efecto fijo de la interacción de la k -ésima salinidad con la j -ésima temperatura, $F_i T_j S_k$ es la interacción aleatoria de la i -ésima familia con la j -ésima, temperatura y la k -ésima salinidad y e_{ijkl} corresponde al error aleatorio en el grupo l de los subgrupos ijk . Se destaca que $F_i T_j$, $F_i S_k$ y $F_i T_j S_k$ son las interacciones de interés en este estudio ya que son las que representan genotipo-ambiente (Fam. x Temp., Fam. x Sal. y Fam. x Temp. x Sal.).

4.4.2. Primer Experimento: Evaluación del efecto de genotipo, salinidad, y temperatura sobre la mortalidad

El efecto de diferentes salinidades, diferentes temperaturas y diferente genotipo (familia) en la tasa de mortalidad fue evaluado mediante un análisis de varianza, modelo mixto, para tres factores en el caso del primer experimento. Los porcentajes de mortalidad fueron previamente transformados a arco seno ($p' = \sin^{-1}(p^{1/2})$) como una medida para reducir la tendencia de la varianza a ser función de la media (Sokal y Rohlf, 1981) y aproximarlos a una distribución normal (Zar, 1999).

Análisis de varianza de tres factores (ANOVA, Modelo III)

Factor A: Familias 10 niveles de estudio $i = (1..10)$

Factor B: Temperatura con dos niveles de evaluación $j = (28^\circ \text{ C y } 32^\circ \text{ C})$

Factor C: Salinidad con dos niveles de evaluación $k = (25\% \text{ y } 35\% \text{ o})$

Todas las posibles interacciones serán incluidas en este estudio.

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + T_j + S_k + F_i T_j + F_i S_k + S_k T_j + F_i T_j S_k + e_{ijkl}$$

En donde:

Y_{ijkl} es el porcentaje de mortalidad en repetición l transformado ($p' = \sin^{-1}(p^{1/2})$), μ es la media paramétrica común, F_i es el efecto aleatorio de la i -ésima familia, T_j es el efecto fijo de la j -ésima temperatura y S_k es el efecto fijo de la k -ésima salinidad, $F_i T_j$ es el efecto aleatorio de la interacción de la j -ésima temperatura con la i -ésima familia, $F_i S_k$ es el efecto aleatorio de la interacción de la k -ésima salinidad con la i -ésima familia, $S_k T_j$ es el efecto fijo de la interacción de la k -ésima salinidad con la j -ésima temperatura, $F_i T_j S_k$ es la interacción

triple de la i -ésima familia con la j -ésima temperatura y la k -ésima salinidad y e_{ijk} es el error observacional aleatorio en la l -ésima repetición.

4.4.3. Segundo Experimento: Evaluación del efecto de la salinidad y la temperatura en la mortalidad

En el segundo experimento, para evaluar la mortalidad el modelo fue de tipo fijo (modelo I) y constó de dos factores. Esto fue necesario en este caso porque no se contó con repeticiones. El dato observado fue la mortalidad por familia transformada a arcoseno.

Análisis de varianza bifactorial (ANOVA, Modelo I)

Factor A: Temperatura con dos niveles de evaluación $i = (28^\circ \text{C y } 32^\circ \text{C})$

Factor B: Salinidad con dos niveles de evaluación $j = (25 \text{‰ y } 35 \text{‰})$

Todas las posibles interacciones se incluyeron en este estudio.

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + S_j + T_i S_j + e_{ijk}$$

En donde:

Y_{ijk} = es el porcentaje de mortalidad en la k -ésima familia transformado ($p' = \sin^{-1}(p^{1/2})$) μ = es la media paramétrica común; T_i = es el efecto fijo de la i -ésima temperatura en el porcentaje de mortalidad; S_j = es el efecto fijo de la j -ésima salinidad sobre la mortalidad; $T_i S_j$ = es la interacción de la temperatura y la salinidad en el porcentaje de mortalidad; e_{ijk} = es el error observacional aleatorio.

4.4.4. Composición bioquímica (primer experimento): Efectos de la temperatura, la salinidad y el genotipo

Para el caso de la composición bioquímica se buscó definir si diferentes salinidades, temperaturas y genotipos, así como sus respectivas interacciones generaban diferencias en la concentración de cada uno de los componentes analizados (CHOS, TG y PROT). El dato observacional fue el de concentración bioquímica por repetición transformada a su raíz cuadrada para normalizar los datos, verificado mediante la prueba de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Lilliefors. Se implementó un análisis de varianza multivariado para los tres componentes.

Análisis de varianza multivariado de tres factores (MANOVA, Modelo III)

Factor A, aleatorio: Familias 10 niveles de estudio $i = (1, 2, \dots, 10)$

Factor B, fijo: Temperatura con dos niveles de evaluación $j = (28^\circ\text{C y } 32^\circ\text{C})$

Factor C, fijo: Salinidad con dos niveles de evaluación $k = (25\% \text{ y } 35\%)$

Todas las posibles interacciones serán incluidas en este estudio.

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + T_j + S_k + F_iT_j + F_iS_k + S_kT_j + F_iT_jS_k + e_{ijkl}$$

En donde:

Y_{ijkl} es la concentración del componente bioquímico analizado en la repetición l . μ es la media paramétrica común. F_i es el efecto aleatorio de la i -ésima familia en la concentración del componente bioquímico. T_j es el efecto fijo de la j -ésima temperatura en la concentración del componente bioquímico y S_k es el efecto fijo de la k -ésima salinidad en la composición bioquímica. F_iT_j es el efecto fijo de la interacción de la j -ésima temperatura con la i -ésima familia. F_iS_k es el efecto fijo de la interacción de la k -ésima salinidad con la i -ésima familia. S_kT_j es el efecto fijo de la interacción de la k -ésima salinidad con la j -ésima temperatura. $F_iT_jS_k$ es la interacción triple aleatoria de la i -ésima familia con la j -ésima, temperatura y la k -ésima salinidad y e_{ijkl} es el error observacional aleatorio.

En todos los análisis anteriores, en los casos donde se observaron diferencias significativas de los efectos fijos sobre las medias se realizaron pruebas de Tukey para evaluar cuales tratamientos diferían entre sí. El nivel de confianza establecido en todos los análisis fue de 95%.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5. RESULTADOS

Este estudio constó de dos experimentos, realizados en etapas de crecimiento diferentes del camarón. En ambos experimentos se evaluó el efecto de la combinación de dos salinidades (25 ‰ y 35 ‰) y dos temperaturas (28° C y 32° C) en el crecimiento de 10 diferentes familias (genotipos) de camarón durante un periodo de 21 días. En el primero de estos experimentos además se realizó un análisis de la composición bioquímica de los juveniles sometidos a las diferentes condiciones ambientales al concluir los 21 días.

5.1. Primer Experimento

Las condiciones ambientales nominales y observadas en este experimento permiten concluir que se logró el control ambiental deseado (tabla 3).

Tabla 3
Temperaturas y salinidades nominales y observadas (promedios), durante el primer experimento.

Tratamientos	Nominales		Observadas	
	‰	°C	‰	°C
A	35	32	35.07	31.65
B	25	28	25.32	27.92
C	25	32	25.47	31.72
D	35	28	35.02	28.08

5.1.1. Crecimiento

5.1.1.1. EFECTOS INDIVIDUALES DE LA SALINIDAD, DE LA TEMPERATURA Y DEL GENOTIPO

La ganancia en peso húmedo total (GP) fue de 1.12 g a 25 ‰ y 0.95 g a 35 ‰. El crecimiento en longitud (CL) fue de 19.6 mm a 25 ‰ y de 17.4 mm a 35 ‰. La comparación de las medias por efecto particular de la salinidad mostró diferencias significativas tanto para GP ($P = 0.0006$) como para CL ($P < 0.0001$) (Tabla 4), registrándose mayor GP y CL a menor salinidad (25‰).

Tabla 4

Primer experimento. MANOVA (valores de P) obtenidos de los efectos de la temperatura, la salinidad y las familia y su interacción en la ganancia en peso húmedo y longitud

Factor	Tipo de efecto	Grados de libertad	Crecimiento	
			Peso	Longitud
Familia	Aleatorio	9	0.01 *	0.00 *
Salinidad	Fijo	1	0.00 *	0.00 *
Temperatura	Fijo	1	0.00 *	0.00 *
Fam x Sal	Aleatorio	9	0.44	0.96
Fam x Temp	Aleatorio	9	0.50	0.70
Sal x Temp	Fijo	1	0.01 *	0.10
F x S x T	Aleatorio	9	0.59	0.27

* Indica significancia al nivel establecido ($P < 0.05$).

El efecto individual de la temperatura en la GP fue también altamente significativo ($P < 0.05$) (Tabla 4). El promedio de GP a 32° C fue mayor, (1.14 g) que a 28° C (0.93 g). La diferencia en CL en los dos valores de temperatura evaluados fue también significativa ($P < 0.0001$), observándose promedios individuales de CL de 17.2 mm a 28° C y de 19.7 a 32° C.

El efecto aleatorio individual del genotipo (media de las familias) en las medias de GP y CL fue también significativo ($P = 0.0149$ y $P < 0.0001$ respectivamente).

5.1.1.2. EFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE SALINIDAD Y TEMPERATURA

Las medias de crecimiento en GP evaluadas tomando en cuenta la interacción de la salinidad y la temperatura indicaron el mayor crecimiento (1.26 g) en el tratamiento de 25 ‰ y 32° C. Todas las otras combinaciones de salinidad y temperatura resultaron en un menor crecimiento (Tabla 5; figura 4A).

Con respecto al CL los resultados indicaron el mejor crecimiento (21.5 mm) también en 25 ‰ y 32° C (Tabla 5). Todas las otras combinaciones de salinidad y temperatura resultaron en menor crecimiento, al igual que con la GP. En 35 ‰ y 32° C el promedio fue de 17.9 ± 0.046 mm. A 25 ‰ y 28° C se observó un valor promedio 17.6 ± 0.47 mm y en el tratamiento de 35 ‰ y 28° C un promedio de 16.8 ± 0.46 mm (figura 4B).

Las gráficas de la figura 4 muestran las medias de GP y CL de los juveniles en cada uno de los tratamientos, las cuales representan el promedio de cada uno de los genotipos.

Tabla 5

Primer experimento, valores observados medias (EE) de crecimiento en longitud y ganancia de peso, en las salinidades y temperaturas evaluadas.

Temperaturas	Salinidad 25 ‰		Salinidad 35 ‰	
	28° C	32° C	28° C	32° C
Ganancia de Peso (g)	0.98 (0.04) ^b	1.26 (0.04) ^a	0.88 (0.04) ^b	1.02 (0.04) ^b
Crecimiento en longitud (mm)	17.6 (0.47) ^b	21.5 (0.46) ^a	16.8 (0.46) ^b	17.9 (0.46) ^b

Letras diferentes en superíndice en el mismo renglón indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

5.1.1.3. EFECTO DE LA INTERACCIÓN GENOTIPO-AMBIENTE

Para el caso del efecto de interacción de salinidad-familia, así como el de temperatura-familia en la respuesta de GP, la interacción no fue significativa siendo similar el resultado para la variable CL (Tabla 4). Esto significa que no se presentó una IGA, , por lo que se infiere que el orden de mérito se conservó en los dos niveles de salinidad y temperatura evaluados.

La manera en que se observó el crecimiento de los juveniles tomando en cuenta ambas interacciones, indicó que en cada condición ambiental evaluada fueron las mismas familias las que presentaron mayor

crecimiento como las que presentaron una respuesta menor. Al evaluar el efecto que tuvo la triple interacción entre la salinidad, temperatura y familia, el análisis mostró que no ocurrió este tipo de interacción (Tabla 4).

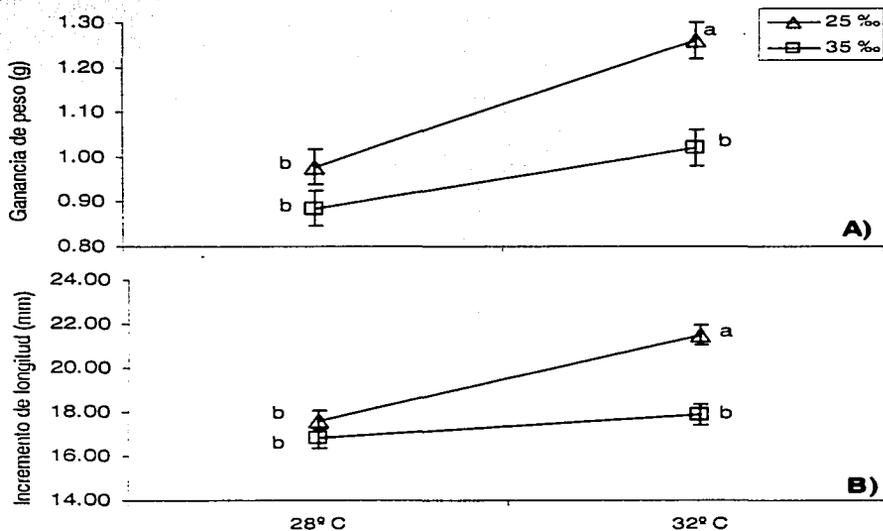


Figura 4.- Primer experimento. Efecto de la interacción de la salinidad y la temperatura en el crecimiento promedio de 10 familias de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) A) Ganancia de peso húmedo total (GP) y B) incremento de longitud total (CL). (Letras iguales junto al símbolo de las medias indican que no se observaron diferencias estadísticamente significativas).

5.1.2. Mortalidad

En el tiempo de evaluación no se observó efecto significativo de la temperatura, la salinidad ó de familia en la mortalidad, así como tampoco se observó ninguna interacción (Tabla 6). Los porcentajes

medios de mortalidad registrados en los diferentes tratamientos de temperatura y salinidad fueron relativamente bajos (Tabla 7), sin diferencias significativas entre sí.

Tabla 6
Primer experimento, resultados de los efectos de temperatura, salinidad, familia y su interacción en la mortalidad. ANOVA (valores de P)

	Tipo de efecto	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Temperatura	Fijo	1	0.00	0.66	0.4387
Salinidad	Fijo	1	0.01	1.07	0.3287
Familia	Aleatorio	9	0.02	3.62	0.4352
Sal x Temp	Fijo	1	0.04	3.47	0.0956
Temp. x Fam	Aleatorio	9	0.01	0.60	0.7717
Sal x Fam	Aleatorio	9	0.01	0.83	0.6054
Temp. x Sal x Temp	Aleatorio	9	0.01	0.83	0.5871
Error	Fijo	120	0.01		

Tabla 7
Primer experimento, porcentajes de mortalidad observados en cada uno de los tratamientos (Datos retransformados de arco seno a porcentuales)

Salinidad (‰)	Temperatura (° C)	% mortalidad
25	32	8.69 % ^a
35	28	6.08 % ^a
25	28	4.55 % ^a
35	32	4.26 % ^a

Letras iguales en superíndice entre tratamientos indican que no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$)

5.1.3. Composición bioquímica

Los componentes bioquímicos analizados fueron carbohidratos (CHOS), triglicéridos (TG) y proteínas (PROT) con el fin de observar las influencias individuales y combinadas de la temperatura, salinidad y genotipo sobre estas variables. Así mismo se buscó el poder relacionar esta medida con el desempeño en crecimiento de las familias.

Tabla 8

Primer experimento. MANOVA (valores de P) resultado de los efectos de temperatura, salinidad, familia y su interacción en el contenido de CHOS, triglicéridos y proteínas en hepatopáncreas.

	Tipo de efecto	Grados de libertad	CHOS	TG	PROT
Familia	Aleatorio	9	0.37	0.17	0.51
Salinidad	Fijo	1	0.16	0.00 *	0.00 *
Temperatura	Fijo	1	0.00 *	0.00 *	0.00 *
Fam x Sal	Aleatorio	9	0.47	0.37	0.56
Fam x Temp	Aleatorio	9	0.39	0.36	0.53
Sal x Temp.	Fijo	1	0.09	0.00 *	0.00 *
Fam x Sal x Temp	Aleatorio	9	0.54	0.54	0.01 *
Error	Fijo	114			

* denota significancia al nivel establecido ($P < 0.05$)

Tabla 9

Primer experimento, solo medias de los valores observados de los componentes bioquímicos ⁽¹⁾, en las salinidades y temperaturas evaluadas.

Temperaturas	25 ‰		35 ‰	
	28° C	32° C	28° C	32° C
CHOS (mg/g)	10.42 ^a	9.43 ^{ab}	10.52 ^a	8.42 ^b
TG (mg/g)	37.44 ^b	54.24 ^a	34.60 ^b	34.86 ^b
PROT (mg/g)	22.90 ^c	21.71 ^c	35.21 ^b	64.56 ^a

⁽¹⁾ Retransformados de raíz cuadrada. No se muestran valores de dispersión por no ser válidos después de la retransformación. Letras diferentes en superíndice en el mismo renglón indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

5.1.3.1. CARBOHIDRATOS

5.1.3.1.1. Efectos independientes de la temperatura, la salinidad, y el genotipo

La concentración media de CHOS fue significativamente mayor a 28° C (10.47 mg/g) que a 32° C (9.06 mg/g) En relación a la salinidad no se observaron diferencias significativas ($P = 0.16$) entre las medias obtenidas a 25 ‰ (10.08 mg/g) y 35‰ (9.52 mg/g). Tampoco se observó un efecto aleatorio significativo atribuible al genotipo ó familia ($P = 0.37$; Tabla 6).

5.1.3.1.2. Efecto de las interacciones

Las diferencias entre las medias de contenido de CHOS en hepatopáncreas no mostraron un efecto significativo de Interacción entre salinidad y temperatura, aunque se detectó cierta tendencia ($P = 0.09$). Las concentraciones más altas de CHOS se observaron a la temperatura de 28°C independientemente de la salinidad (10.42 mg/g en el tratamiento a 25 ‰ y 28°C , y 10.52 en 35 ‰ y 28°C), seguidas por el tratamiento a 25 ‰ y 32°C , cuya concentración de CHOS fue intermedia entre la concentración observada a 28°C y la menor (a 35 ‰ y 32°C , con 8.42 mg/g) (Tabla 7; figura 5). No se observó interacción significativa entre genotipo y salinidad ($P = 0.47$), genotipo y temperatura ($P = 0.39$), o entre genotipo, temperatura y salinidad ($P = 0.54$).

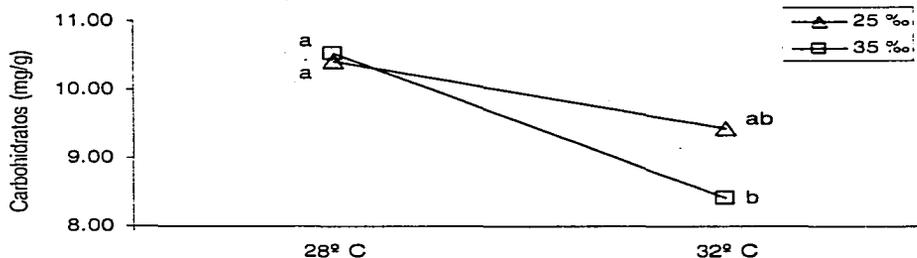


Figura 5.- Efecto de la interacción de la salinidad y la temperatura en el contenido promedio de carbohidratos en hepatopancreas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (Letras iguales junto a las medias indican que no se observaron diferencias significativas, no se incluyen valores de dispersión por que los datos fueron retransformados de raíz z cuadrada)

5.1.3.2. TRIGLICÉRIDOS

5.1.3.2.1. Efectos independientes de la temperatura, la salinidad y el genotipo

Este componente bioquímico sí presentó diferencias significativas entre los dos niveles evaluados en cada una de las variables ambientales de temperatura ($P < 0.0001$) y salinidad ($P < 0.0001$). A 28°C se observó una concentración menor de TG (36.44 mg/g) en hepatopáncreas que a 32°C (45.32 mg/g). Las concentraciones de TG fueron significativamente mayores (46.74 mg/g) a baja salinidad (25 ‰) que los observados (35.02 mg/g) a alta salinidad (35 ‰). No se observó un efecto de genotipo en la concentración de este componente ($P = 0.17$).

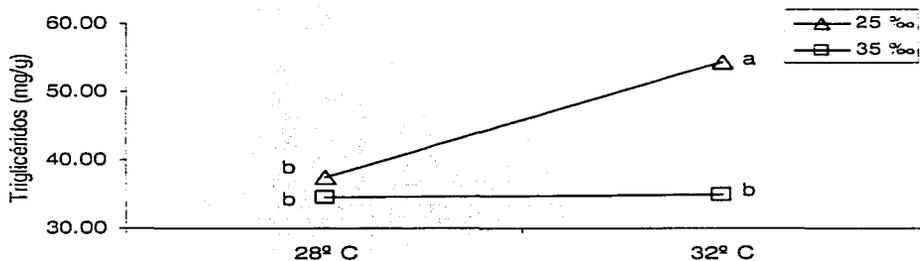


Figura 6.- Efecto de la interacción de la salinidad y la temperatura en el contenido promedio de triglicéridos en hepatopáncreas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (Letras iguales junto a las medias indican que no se observaron diferencias significativas, no se incluyen valores de dispersión por que los datos fueron retransformados de raíz cuadrada)

5.1.3.2.2. Efecto de las interacciones

Solamente se observó un efecto significativo de la interacción entre temperatura y salinidad ($P < 0.0001$). El análisis de la comparación de medias de la concentración de TG en los diferentes tratamientos indicó que la mayor concentración correspondió al tratamiento a 25 ‰ y 32°C

C con el valor de 54.24 mg/g, tratamiento donde se observó la mejor respuesta en crecimiento. Todos los otros tratamientos resultaron con un valor de TG significativamente menor y no diferentes entre ellos (Tabla 6, figura 6).

5.1.3.3. *PROTEÍNAS*

5.1.3.3.1. *Efectos aislados de la temperatura, de la salinidad y de el genotipo.*

Se observaron diferencias significativas entre la concentración de PROT en ambos niveles de temperatura (41.84 mg/g a 28° C y 23.42 mg/g a 32° C), en ambos niveles de salinidad (23.64 a 25 ‰ y 50.95 a 35 ‰), pero no entre genotipos ($P = 0.51$). El efecto de la mayor temperatura fue el mismo que el de la mayor salinidad; incrementar la concentración de PROT en hepatopáncreas.

5.1.3.3.2. *Efecto de las interacciones*

Se observaron interacciones entre la temperatura y la salinidad ($P < 0.0001$; Fig. 7), así como entre temperatura, salinidad y genotipo (familia) ($P = 0.01$; Fig. 8). Las interacciones entre temperatura y familia ($P = 0.53$) y entre salinidad y familia ($P = 0.56$) no fueron significativas (Tabla 6). La comparación de medias entre tratamientos para evaluar la interacción temperatura-salinidad indicó que la mayor concentración de PROT correspondió al tratamiento de 35 ‰ y 32° C (64.56 mg/g), seguido del tratamiento a 35 ‰ y 28° C (35.21 mg/g). Los valores más bajos de PROT (23.85 y 23.42 mg/g) correspondieron a los tratamientos a 25 ‰ y 28° C y a 25 ‰ y 32° C respectivamente, y no fueron diferentes estadísticamente entre si (Fig. 7).

TECNOLOGIA
FALLA DE ORIGEN

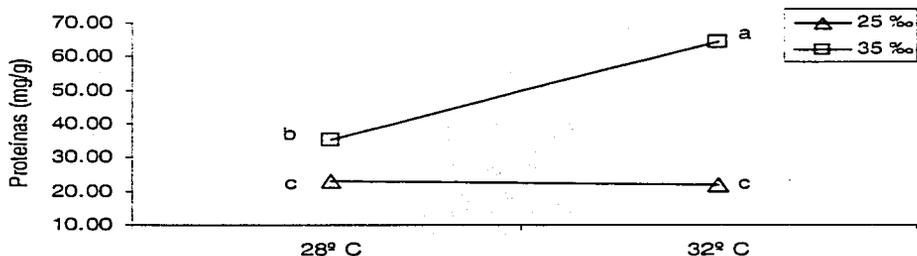


Figura 7.- Efecto de la interacción de la salinidad y la temperatura en el contenido promedio de proteínas en hepatopancreas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (Letras iguales junto a las medias indican que no se observaron diferencias significativas. no se incluyen valores de dispersión por que los datos fueron retransformados de raíz cuadrada)

La triple interacción observada entre temperatura, salinidad y genotipo (familia) en PROT del hepatopáncreas fue aparentemente el resultado de una respuesta desigual entre familias a las dos salinidades evaluadas, ocurriendo principalmente a 32° C. Esto es, que cuando se evaluaron a 28° C no se observó cambio en la concentración de PROT en combinación de ninguna de las dos salinidades, sin embargo si se observó cuando se les mantuvo a 32° C (figura 8).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

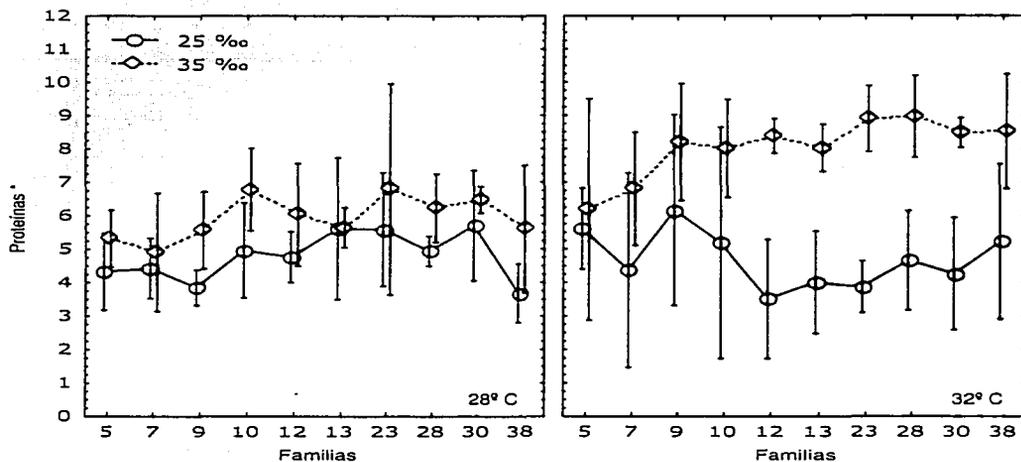


Figura 8.- Interacción entre salinidad, temperatura y genotipo, en el contenido medio de proteínas en hepatopancreas de los juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* utilizados en los experimentos. (* No se muestran las unidades debido a que son los valores de raíz cuadrada y no los observados).

5.2. Segundo experimento

5.2.1. Crecimiento

En este experimento se evaluó el efecto de los mismos cuatro ambientes en la GP y CL. Se utilizaron también 10 familias (genotipos) de hermanos completos de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, 9 de estas familias fueron las mismas en ambos experimentos, aunque el peso y la longitud inicial fueron mayores en este experimento (peso inicial = 2.32 ± 0.82 g y longitud inicial = 66.04 ± 7.7 mm). Los tratamientos se describen en la Tabla 10.

Tabla 10
Temperaturas y salinidades nominales y observadas (medias), durante el segundo experimento.

Tratamientos	Nominales		Observadas	
	Salinidad (‰)	Temperatura °C	Salinidad (‰)	Temperatura °C
A	35	32	35.04	31.68
B	25	28	25.26	27.76
C	25	32	25.26	31.63
D	35	28	35.04	27.75

5.2.1.1. EFECTOS DE LA TEMPERATURA, LA SALINIDAD Y EL GENOTIPO EN EL CRECIMIENTO.

Las diferencias entre las medias evaluadas bajo el efecto individual de la temperatura fueron altamente significativas tanto en GP ($P = 0.0001$) como en el CL ($P = 0.0004$) (Tabla 11). Las medias de crecimiento a 32° C fueron significativamente mayores que a 28° C, con una GP observada de 2.31 g y un CL de 35.1 mm a 32 ° C, mientras que a 28° C el promedio de GP fue 1.91 g y el de CL 27.6 mm. Para el caso de la salinidad, las medias de GP y CL evaluados para este factor no mostraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los dos niveles evaluados (tabla 11), con promedios de crecimiento en 25 ‰ de 2.12 g para GP y 32.7 mm para CL, y en 35 ‰ de 2.10 g en

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GP y 30.1 mm en CL. Por otro lado, sí se observó un efecto significativo del factor aleatorio genotipo (familia) para GP y CL ($P = 0.03$, tabla 11).

Tabla 11

Segundo experimento MANOVA (Valores de P) Resultados de los efectos de temperatura, salinidad, familia y su interacción en la ganancia en peso húmedo (GP) y crecimiento en longitud (CL).

Factor	Tipo de efecto	Grados de Libertad	Crecimiento	
			CL	GP
Familia	Aleatorio	9	0.03 *	0.03 *
Salinidad	Fijo	1	0.97	0.19
Temperatura	Fijo	1	0.00 *	0.00 *
Fam x Sal	Aleatorio	9	0.11	0.08
Fam x Temp	Aleatorio	9	0.60	0.49
Sal x Temp.	Fijo	1	0.03 *	0.03 *
F x S x T	Aleatorio	9	0.44	0.67

* Denota significancia al nivel establecido ($P < 0.05$)

5.2.1.2. EFECTO DE LAS INTERACCIONES

Mientras que la salinidad no mostró un efecto significativo analizado independientemente, sí lo mostró en la interacción con la temperatura. El análisis de comparación de medias entre los tratamientos indicó que el mejor crecimiento se observó en el tratamiento a 25 ‰ y 32° C en donde la GP fue de 3.75 g y el CL fue de 23.90 mm. Este tratamiento fue seguido por el de 35 ‰ y 32° C en donde la GP (3.24 g) no fue diferente del primero. El CL (22.10 mm) sí fue menor que a 25 ‰ y 32° C. Los otros dos tratamientos (25 ‰ y 28° C, 35 ‰ y 28° C) resultaron en la menor GP (2.71 y 2.81 g) y en el menor CL (18.00 y 20.00 mm) (Tabla 12; figura 9A y 9B).

Tabla 12

Segundo experimento, valores observados (medias) de crecimiento en longitud y ganancia de peso, en las salinidades y temperaturas evaluadas.

Salinidad	25 ‰		35 ‰	
Temperaturas	28° C	32° C	28° C	32° C
Ganancia de peso (g)	2.71 (0.15) ^c	3.75 (0.14) ^a	2.81 (0.14) ^{bc}	3.24 (0.15) ^b
Crecimiento en longitud (mm)	18.00 (0.87) ^c	23.90 (0.83) ^a	20.00 (0.82) ^{bc}	22.10 (0.87) ^{ab}

Letras diferentes en superíndice en el mismo renglón indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

No se presentaron interacciones significativas entre el genotipo (familia) y alguna de las variables ambientales (temperatura y salinidad) para GP ó CL (Tabla 11).

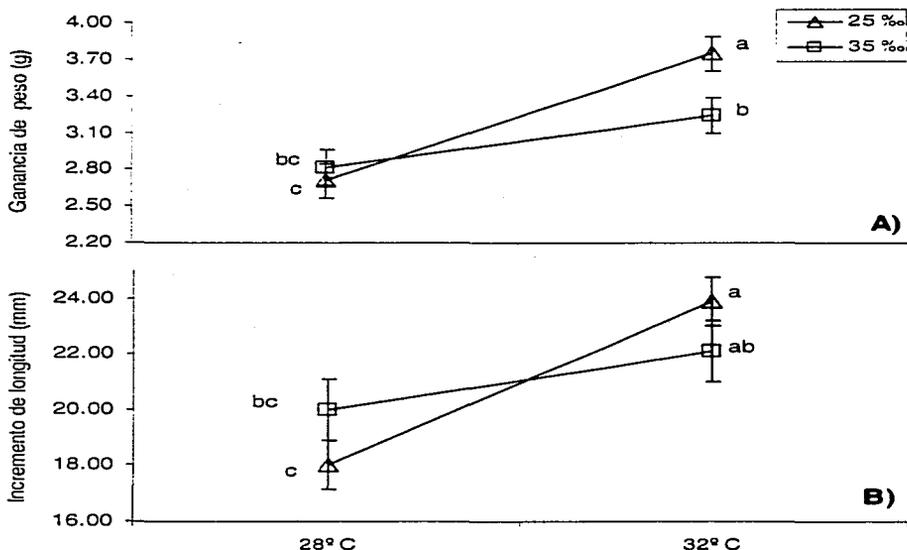


Figura 9.- Segundo experimento, efecto de interacción salinidad x temperatura en el crecimiento de 10 familias de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) **A)** Incremento de peso húmedo (GP) y **B)** incremento de la longitud (CL). (Letras iguales junto al símbolo de las medias indican que no se observaron diferencias significativas).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.2.2. Mortalidad

Los efectos de temperatura y salinidad en la mortalidad fueron los únicos evaluados en este experimento ya que no fue posible la evaluación a nivel genotipo, debido a que en el afán de minimizar el posible efecto de jaula al utilizar individuos marcados, se eliminó también la separación necesaria para poder constituir repeticiones. El dato observado en este caso fue el promedio de mortalidad por familia. No se observaron efectos significativos de temperatura o salinidad (Tabla 13). Las medias de mortalidad por tratamiento se presentan en la Tabla 14, donde se puede observar que las mortalidades fueron aparentemente mayores que en el primer experimento.

Tabla 13
Segundo experimento, resultados de los efectos de temperatura y salinidad y su interacción en la mortalidad por familia. ANOVA (Valores de P)

Efecto	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Temperatura	1	0.00	0.03	0.8637
Salinidad	1	0.02	0.33	0.5680
Temp x Sal	1	0.08	1.48	0.2311
Error	36	0.05		

Tabla 14
Segundo experimento, porcentajes de mortalidad observados en cada uno de los tratamientos (Datos retransformados de arcoseno a porcentaje)

Temperatura	Salinidad	% mortalidad
28	25	34.85 % ^a
32	35	29.64 % ^a
32	25	25.11 % ^a
28	35	22.23 % ^a

Letras iguales en superíndice entre tratamientos indican que no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$)

6. DISCUSIÓN

El conocimiento del comportamiento de los genotipos presentes en una población objeto de mejoramiento en diferentes condiciones ambientales es necesario con fines de entender si presentan el mismo patrón de valor genotípico independientemente del ambiente donde se les cría. Para conocer esto, en este trabajo se evaluó el efecto conocido como interacción genotipo-ambiente (IGA).

6.1. Interacción genotipo-ambiente sobre el crecimiento

Los resultados del presente estudio indicaron que, en ambas salinidades y temperaturas evaluadas, las mismas familias fueron las que presentaron el mayor crecimiento, y en contraparte las que presentaron una respuesta menor conservaron esta característica en todos los tratamientos de estudio. Esto es, el orden de mérito de ambas variables biométricas evaluadas se mantuvo a pesar de las edades diferentes en ambos experimentos. Podemos decir entonces que en las edades evaluadas no existe IGA para crecimiento en camarón blanco cuando este es criado en las diferentes temperaturas y salinidades del presente estudio.

La importancia de conocer si existe esta interacción radica en que, si se hubiese presentado una interacción significativa entre salinidad y familia, esto indicaría que para obtener la mejor respuesta, la selección de las familias debería de hacerse en cada salinidad (Kinghorn, 1983). Esta misma interpretación se puede aplicar a la interacción temperatura-familia, la cual de haber ocurrido, indicaría que diferentes

líneas tendrían que ser conformadas y seleccionadas en cada temperatura. Es importante señalar que la existencia de una IGA estadísticamente significativa no necesariamente indica un requerimiento de programas de selección en cada condición ambiental, ya que la decisión también debe de tomarse al evaluarse la magnitud de la varianza generada por esta interacción con la varianza total observada. Por ejemplo, De Tomas y Lawrence (1998) observaron una IGA significativa en el crecimiento y supervivencia del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* evaluado a diferentes temperaturas, pero señalan que la pequeña contribución de la varianza de la IGA observada en su trabajo con respecto a la variación total, sugiere que el programa de selección puede concentrarse en un solo ambiente. Estas interpretaciones de la IGA son importantes, ya que el costo que implica el llevar a cabo dos programas simultáneos de mejoramiento puede llevar a que ninguno de ellos se realice adecuadamente.

Adicionalmente a este trabajo y al de De Tomas y Lawrence (1998), no existe información publicada que relacione aspectos genéticos del crecimiento del camarón blanco con factores ambientales inducidos experimentalmente, como la salinidad y la temperatura. Por otro lado, los resultados de este estudio son apoyados por los de Suárez et al. (1999) y los de Pérez-Rostro e Ibarra (2003), quienes han reportado que el crecimiento del camarón *L. vannamei* en diferentes ambientes geográficos no presentó interacción genotipo-ambiente. En los trabajos de estos autores se evaluaron familias de camarón en diferentes granjas de Colombia o de México, concluyendo que los genotipos (representados por las familias) presentaban el mismo orden de mérito independientemente del ambiente donde fueron criados.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La IGA puede ser evaluada utilizando como genotipos ya sea diferentes poblaciones o diferentes familias de una población. Los estudios que evalúan poblaciones buscan determinar si esas poblaciones son diferentes y si presentan las adaptaciones requeridas para ser criadas en diferentes condiciones ambientales. En otros grupos taxonómicos, como peces y moluscos, existen estudios que han evaluado la existencia de interacción entre genotipos y ambientes utilizando diferentes poblaciones. En los moluscos por ejemplo, en experimentos de trasplante para el mejillón azul y la almeja catarina se han encontrado interacciones entre genotipos (poblaciones diferentes) y ambientes (Dickie et al., 1984; Mallet et al., 1987a,b; Cruz et al., 1998). En esos experimentos se concluyó que la interacción observada fue una consecuencia de diferencias en adaptación entre las poblaciones, siendo la mejor población aquella adaptada al ambiente más estresante o demandante. En cuanto a los efectos ambientales controlados en laboratorio, el efecto de la salinidad sobre la interacción entre los genotipos y el ambiente fue evaluado en el ostión americano por Newkirk et al. (1977) y Newkirk (1978), quienes encontraron que diferentes líneas (poblaciones) presentaban un cambio de rango entre diferentes ambientes. Esto es, encontraron una interacción entre genotipos y ambiente. En peces salmónidos, cuando diferentes líneas o poblaciones han sido evaluadas se ha observado una IGA en crecimiento y desarrollo temprano y tardío cuando son sometidos a diferentes ambientes, como por ejemplo diferentes temperaturas (Wangila y Dick, 1988; Fishback et al., 2002), ó diferentes densidades y cantidades de alimento (Iwamoto et al., 1986). En poblaciones y cruza de carpas también se ha observado una IGA sobre el crecimiento cuando se crían a diferentes densidades y con diferente nivel de alimentación (Wohlfarth et al., 1983).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Por otro lado es importante señalar que en el proceso del mejoramiento genético, la IGA importante es la evaluada dentro de poblaciones con familias representativas de los diferentes genotipos de una misma población, y no la evaluada entre poblaciones, debido a que en el mejoramiento genético se trabaja con poblaciones en cautiverio estructuradas en familias, cada una de las cuales representa un genotipo promedio, y para el cual se busca conocer su respuesta a diferentes condiciones ambientales. La finalidad de evaluar la IGA es conocer si todas las familias (o genotipos) tienen el mismo desempeño relativo independientemente del ambiente donde se les criará. Esta interacción ha sido evaluada en algunas especies sujetas a cultivo, como los peces salmónidos, las truchas y las carpas, así como en algunos moluscos cultivados (Tabla 15). En el grupo de los crustáceos solo existen cuatro estudios de evaluación de la IGA, el ya mencionado de De Tomas y Lawrence (1998) con *L. vannamei*, uno con langosta (*Homarus americanus*) donde se encontró una IGA significativa cuando se evaluó el efecto de diferentes temperaturas y sistemas de cultivo sobre el crecimiento (Hedgecock y Nelson, 1978), y los de Pérez-Rostro e Ibarra (2003a) y Suárez et al. (1999) donde no se observó interacción entre genotipos y ambientes de cultivo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 15

Estudios de interacción entre genotipo y ambiente (IGA) y su intensidad a nivel familiar dentro de una población para diferentes especies acuícolas (Modificado de Pérez-Rostro 2002).

(+) Intensidad mayor, (-) Poca Intensidad (*) Intensidad media

Especie	Efectos ambientales evaluados	Intensidad de la IGA.	Autor(es)
Abulón rojo: <i>Haliotis rufescens</i>	Cultivo en granja sobre supervivencia y tamaño	-	Jonasson et al., 1999
Ostión chileno: <i>Ostrea chilensis</i>	Sitio de cultivo sobre tasa de crecimiento	+	Toro, 1996
Almeja: <i>Mercenaria mercenaria</i>	Sitio de cultivo sobre tasa de crecimiento	+	Rawson y Hilbish, 1990
Ostión del Pacífico: <i>Crassostrea gigas</i>	Sitio de cultivo vs. crecimiento y contenido de carbohidratos	+	Pongthana, 1987
Carpa común: <i>Cyprinus carpio</i>	Temperatura y aislamiento de parásitos sobre niveles de infección	+	Price y Clayton, 1999
Salmon "Chinook": <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	Sitios de agua salada y dulce sobre el crecimiento.	+	Winkelman y Peterson, 1994
"	Temperatura sobre tasa de crecimiento, niveles de hematocrito, glucosa en plasma y cortisol después de someterlos a estrés	+	Heath et al., 1994
"	Temperatura sobre incidencia de madurez precoz	+	Heath et al., 1994
Salmón "chum": <i>Oncorhynchus keta</i>	Temperatura y salinidad sobre el crecimiento	+	Beacham, 1987
Salmón rosado: <i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	Temperatura sobre tasa de desarrollo en el embrión	*	Hebert et al., 1998
Salmón "coho": <i>Oncorhynchus kisutch</i>	Temperatura sobre incidencia de madurez precoz	+	Iwamoto et al., 1984
Salmón "del Atlántico" <i>Salmo salar</i>	Sitios de cultivo sobre incidencia de madurez precoz	+	Wild et al., 1994
	Fotoperíodos sobre el crecimiento	+	Hanke et al., 1989
Trucha arcoiris: <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Densidad de siembra sobre el crecimiento.	+	Bagley et al., 1994

Con relación a los genotipos (familias) evaluados, es importante señalar que mientras que en el presente trabajo no se observó una IGA, los resultados sí mostraron diferencias genotípicas importantes de crecimiento, indicando que las familias utilizadas para estos estudios presentan una variación genética para el crecimiento sin importar el ambiente en el que se les crece. La importancia de este resultado es clara, ya que al no haberse observado una IGA, esto podría ser resultado de haber evaluado genotipos iguales entre los cuales no se esperaría dicha interacción. Esto concuerda con estudios paralelos al presente ya que aunque en este trabajo solo se evaluaron 10 familias, Pérez-Rostro e Ibarra (2003 a, b) han demostrado que en el pie de cría del cual se tomaron las 10 familias sí existe una variación genética significativa.

La selección genética podría ser una opción para mejorar no solamente el crecimiento, sino también la capacidad de adaptación de los camarones a condiciones estresantes generadas por el ambiente. Para lograr esto último se requiere que exista variación natural en cuanto a su capacidad de adaptación. Aunque en este estudio no se evaluó esto, Lemaire et al. (2002) observaron en algunos individuos una capacidad de adaptación y osmorregulación superior al promedio poblacional en condiciones de temperatura y salinidad distintas, situación a la cual estaban adaptados, y señalan que si este carácter es heredable podría usarse en un programa de mejoramiento genético con miras de obtener camarones más resistentes a las variaciones en los ambientes de crianza.

Mientras que la interacción genotipo por ambiente no fue significativa, tanto los efectos principales "temperatura" y "salinidad", así como la interacción entre ellas sí lo fueron. Esta interacción se observó tanto

para el crecimiento como para la composición bioquímica del hepatopáncreas, ambas de las cuales se discutirán a continuación.

6.2. Efectos aislados de la temperatura ó la salinidad sobre el crecimiento

Se sabe que la temperatura óptima para el crecimiento de *L. vannamei* varía dependiendo de la talla de los organismos (Jiang et al., 2000). En este trabajo se observó un marcado incremento en el crecimiento de los juveniles de camarón, tanto en longitud como en peso, cuando la temperatura fue de 32° C comparando con 28° C. Estos resultados coinciden con trabajos previos (Wyban et al. 1995; Staples y Heales 1991; Villarreal et al. 1994; O' Brien 1994; De Tomas y Lawrence 1998). En general la causa de un mejor crecimiento a mayor temperatura se puede explicar por el hecho de que mayores temperaturas incrementan el metabolismo en general y el consumo de alimento (Ponce-Palafox et al., 1997), aunque la eficiencia de crecimiento tiene un intervalo térmico óptimo de incremento del crecimiento (Wyban et al., 1995). Cerca de la temperatura mínima letal, los procesos metabólicos descienden por debajo del nivel requerido para el mantenimiento celular, lo cual afecta el crecimiento e incluso la supervivencia. Por el contrario, cerca de la temperatura máxima letal las proteínas se desnaturalizan más rápidamente y la función de las membranas se altera, lo cual resulta en disfunciones metabólicas generalizadas que finalmente llevan a la muerte del organismo (Lester y Pante, 1992). El rango o intervalo térmico varía entre especies, y depende del tiempo de exposición. Por ejemplo, *Penaeus aztecus* muestra a corto plazo un intervalo de tolerancia a las temperaturas experimentales muy amplio, observándose supervivencias de 80 a

100% en intervalos tan grandes como de 7 a 35° C. Por otra parte, a largo plazo la supervivencia se reduce cuando la temperatura se aproxima a 35° C y sobre todo cuando se conjuga con salinidades inferiores a 30 ‰ (Zein-Eldin y Aldrich, 1965).

La salinidad tiene un menor efecto que la temperatura sobre la supervivencia de los peneidos (Lester y Pante, 1992), aunque la salinidad óptima varía con el estadio de vida. Esto se debe a que la capacidad de osmorregular está relacionada con adaptaciones específicas a la etapa del ciclo de vida de los camarones en el medio natural (Lester y Pante, 1992). La tolerancia a baja salinidad es diferente entre postlarvas ó juveniles tempranos y adultos; las postlarvas y juveniles están aparentemente adaptadas a condiciones estuarinas, mientras que los adultos están mejor adaptados a condiciones oceánicas (Charmantier, 1998; Lawrence et al. 1998). En el presente estudio las tallas utilizadas corresponderían con las de juveniles, los cuales estarían adaptados a condiciones de menor salinidad o estuarinas, y el mejor crecimiento coincide con una salinidad similar a la estuarina. Esto es, el mejor crecimiento de juveniles se observó cuando la salinidad fue la menor de las dos evaluadas (25‰ y 35‰). La salinidad óptima para el crecimiento de *L. vannamei* no ha sido definida, aunque se ha demostrado en estudios experimentales que *L. vannamei* puede tolerar un amplio intervalo de salinidad, el cual va desde aguas poco salobres (1-2 ‰) hasta aguas francamente hipersalinas (50 ‰) (Pante, 1990; Stern et al., 1990). Mientras que el intervalo de tolerancia a la salinidad puede ser amplio cuando se considera la supervivencia, no lo es necesariamente cuando se considera el efecto sobre el crecimiento. Por ejemplo, Bray et al. (1994)

mostraron que salinidades entre 5 y 15 ‰ resultaron en mejor crecimiento de *L. vannamei* que salinidades que semejan un ambiente hipersalino (49 ‰). Huang (1983) encontró que esta misma especie creció mejor a salinidades intermedias, alrededor de 20‰, mientras que a salinidades extremas (5 y 45‰) se observó menor crecimiento. Por su lado, Bartlett et al. (1990) encontraron que dentro del intervalo de temperatura óptima, la tolerancia a cambios en la salinidad de *L. vannamei* es amplia y pueden esperarse buenos crecimientos entre 25 y 45‰. Otras especies de peneidos tienen diferentes condiciones óptimas. Por ejemplo, Venkataramiah et al. (1974) determinaron que el mejor crecimiento de *P. aztecus* se presentó a bajas salinidades (8.5 ‰) cuando la temperatura fue también alta (31° C), y el menor crecimiento lo obtuvieron a 21° C y a una alta salinidad (34 ‰). Similarmente, en *P. monodon*, Manik et al. (1980) observaron que altas salinidades (32 a 40‰) con temperaturas desde 25.5° C hasta 32.2° C resultan en baja supervivencia y lento crecimiento.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, en donde la menor salinidad evaluada (25‰) coincidió con el mejor crecimiento, pueden ser interpretados a un nivel fisiológico. Esa salinidad prácticamente coincide con la salinidad asociada con el conocido punto isosmótico del camarón blanco, definida por Castille y Lawrence (1981) en 24.7‰ a una temperatura de 30° C. El punto isosmótico es una relación entre la salinidad a la cual la osmolaridad interna (de la hemolinfa) y la osmolaridad del medio son iguales y por lo tanto no se activan mecanismos de osmorregulación (Chen y Lin, 1998). En general, una salinidad mayor al punto isosmótico induce un mayor transporte de los iones necesarios para evitar la deshidratación de los tejidos provocada

por un ambiente hiperosmótico. Este transporte de iones requiere de un alto gasto de energía, la cual en un ambiente isosmótico podría ser canalizada para crecimiento. Esto puede ser explicado por el hecho de que la tasa metabólica basal se incrementa por arriba del punto isosmótico debido a un incremento en el costo energético asociado con la osmorregulación requerida en una alta salinidad (Jiang et al., 2000).

Los estudios de otro crustáceo (*Mysidopsis bahia*) de McKenney y Celestial (1995) coinciden con este punto de vista, ya que encontraron que la salinidad a la cual se dio el crecimiento óptimo coincidió con el punto isosmótico de esa especie, y concluyeron que un menor crecimiento en otras salinidades es resultado del estrés osmótico cuando se criaron a salinidades mayores o menores que el punto isosmótico. En apoyo a esto, Panikkar (1968) reportó que menos energía es usada por los camarones cerca del punto isosmótico en el proceso de osmoregulación, lo cual resulta en que puedan aprovechar mejor la energía disponible por ejemplo, para crecimiento. Chen y Lin (1998) reportaron en *P. chinensis* que la salinidad a la que se observa el menor gasto de energía disminuye cuando la temperatura se incrementa. Esto puede significar que la combinación salinidad baja y temperatura alta permite que exista energía remanente empleada en el crecimiento.

Mientras que a altas salinidades la activación de mecanismos de osmorregulación implica un costo energético que compite con el crecimiento, con base en estos resultados esta competencia parecería ser menor en juveniles de mayor edad (segundo experimento), lo cual puede tener diferentes explicaciones. Una posible explicación sería que

el punto isosmótico, y por ende el costo energético asignado a la osmorregulación, podría ser diferente a las dos edades evaluadas en este experimento. Otra explicación sería que en los juveniles de mayor tamaño, la relación superficie/volumen es menor y por lo tanto la ganancia pasiva de iones también sería relativamente menor. Este concepto muy probablemente sea extrapolable a la relación superficie branquial/volumen corporal, dado que al menos en mamíferos se sabe que la superficie de intercambio gaseoso no tiene una relación isométrica con respecto al peso corporal (Schmidt-Nielsen, 1997). De esta manera, el costo osmorregulatorio de la eliminación de sales probablemente sea menor en un organismo de mayor tamaño en el cual la entrada pasiva de estos iones es menor tanto en la superficie corporal como en los órganos respiratorios. Debido a que se sabe que la salinidad óptima depende del estadio del ciclo de vida y es posible que los juveniles de edad avanzada ya hayan presentado adaptaciones a salinidades oceánicas similares a las presentes en los adultos.

Es importante señalar que en la mayor parte de los trabajos mencionados anteriormente no se evaluaron los efectos combinados de la salinidad y temperatura, lo cual sí se analiza en el presente estudio y se examina a continuación.

6.3. Interacción temperatura y salinidad sobre el crecimiento

Una interacción entre dos factores ambientales implica que los factores no actúan en forma independiente, o que el efecto de un factor depende de efectos del otro. Por ejemplo, el efecto de la temperatura sobre los mecanismos de transporte de iones implicados en la osmorregulación es

directo (se incrementa el transporte de iones al aumentar la temperatura y decrece al disminuir esta). Esto es, a mayores temperaturas dentro del intervalo específico de cada especie o población, se esperaría mayor eficiencia en la osmorregulación y viceversa (Gilles et al., 1998). Una temperatura superior al rango óptimo representará un factor adicional de estrés que comprometerá la función osmorreguladora.

En el presente estudio la significancia estadística de la interacción entre la salinidad y la temperatura para el crecimiento de juveniles de camarón en ambos experimentos nos indica claramente que estos dos factores ambientales no actúan independientemente y que la magnitud de su interacción depende del estadio del ciclo de vida en que los organismos se encuentren. En el primer experimento con juveniles tempranos, una temperatura alta (32° C) con una salinidad baja (25‰) resultó en el mejor crecimiento, mientras que en el segundo experimento una alta temperatura con una baja salinidad resultó en crecimiento similar al observado cuando se utilizó una temperatura baja con una alta salinidad, indicando que un incremento en la temperatura a cualquier salinidad resultará en un mejor crecimiento.

En el misidaceo *Mysidopsis bahia* se ha encontrado que no solamente existe una interacción entre la salinidad y la temperatura sobre el crecimiento, sino que también existe una interacción entre la temperatura, la salinidad y la edad (McKenney y Celestial, 1995). Es de resaltarse que, en nuestro caso, mientras tal triple interacción no se evaluó debido a que los diseños experimentales a cada edad fueron

diferentes (repeticiones dentro de familias en el primero, e individuos dentro de familias en el segundo), las diferentes respuestas observadas entre los experimentos, en donde la salinidad no presentó un efecto significativo en el segundo experimento donde se trabajó con juveniles tardíos, indican que tal interacción posiblemente se dé en el camarón *L. vannamei*. Esto tendrá que ser evaluado en futuros estudios. La importancia de conocer si esta interacción existe se sustenta en información existente en la bibliografía, la cual indica que dependiendo del estadio del ciclo de vida que se evaluó (postlarva, juvenil, adulto), se ha llegado a conclusiones diferentes.

Aunque pocos estudios han evaluado la interacción entre temperatura y salinidad (T-S) en crustáceos, este tipo de estudio si ha sido realizado en diversas especies en peces. Por ejemplo, para *Scophthalmus maximus* se ha encontrado que la temperatura óptima para el crecimiento y la conversión alimenticia varía dependiendo de la salinidad (Imsland et al., 2001); en *Dicentrarchus labrax* se ha encontrado que la demanda metabólica se incrementa con la temperatura, lo cual depende de la salinidad, ya que existe un costo metabólico de osmorregulación diferente a distintas salinidades (Claireaux y Lagardere, 1999).

A pesar de que existe una explicación fisiológica asociada con el crecimiento obtenido a las diferentes salinidades y temperaturas o a la combinación de éstas, las causas de un mayor crecimiento de juveniles bajo ciertas condiciones ambientales también pueden ser explicadas por el análisis de la composición bioquímica del hepatopáncreas de los individuos, análisis que se hace a continuación.

6.4. Composición bioquímica

Partiendo del hecho que la temperatura del medio puede actuar como un factor que puede afectar algunas reacciones bioquímicas involucradas en la tasa metabólica (Fry, 1947; Neill y Bryan, 1991) y en la tasa de conversión alimenticia, se revisaron en primer lugar los posibles efectos de esta variable en la composición bioquímica del hepatopáncreas.

En el presente trabajo se observó la menor concentración de los CHOS en la mayor temperatura (32° C), y la mayor concentración de las PROT y los TG. Sin embargo, mientras que la temperatura fue el principal factor afectando la concentración de CHOS, en el caso de TG y PROT sus concentraciones se vieron afectadas por ambos, la temperatura y la salinidad, y no en una relación directa.

En condiciones normales, la utilización de los CHOS en los camarones puede ser limitada como consecuencia de adaptaciones metabólicas para usar proteínas como fuente primaria de energía, ya que estas constituyen la mayoría de las reservas orgánicas en peneidos y pueden ser convertidas a carbohidratos por medio de la gluconeogénesis (Campbell, 1991). Por ejemplo, Rosas et al. (2001) observaron que los camarones pueden producir glucosa y concentrar glicógeno en la glándula digestiva aun cuando solamente se incluya una cantidad mínima de CHOS en la dieta. La mayor concentración de CHOS en el presente trabajo a la temperatura de 32° C puede ser explicada si la conversión de PROT a CHOS fue menor debido a que la PROT se utilizó

como recurso energético con fines de satisfacer el incremento en el metabolismo por efecto de la alta temperatura.

Alternativamente, nuestras observaciones de menores niveles de CHOS asociados con una mayor temperatura podrían explicarse por una mayor frecuencia de muda, requerida por observarse un mayor crecimiento y por ende por una movilización mayor de glucosa de la glándula digestiva para satisfacer la síntesis de quitina. La muda o ecdisis es indispensable en los crustáceos para llevar a cabo el proceso de crecimiento, y ocurre de forma cíclica cada vez que el organismo está preparado para aumentar de talla y peso. El viejo exoesqueleto es liberado rápidamente y se produce una nueva capa quitinosa que se endurecerá hasta adquirir la consistencia y dureza del exoesqueleto anterior. Dado que la quitina es un polímero de glucosamina que a su vez se deriva de la glucosa (Stryers, 1995), el papel de los CHOS en crustáceos es esencial en la formación del exoesqueleto durante la muda (Chang y O'Connor, 1983).

De acuerdo con Santos y Keller (1993) y Stevenson (1985), la glucosa-6-P en la hemolinfa puede ser reabsorbida por los músculos y la glándula digestiva para sintetizar glicógeno o para ser usada como una fuente de macromoléculas para funciones fisiológicas específicas, como la N-Acetilglucosamina, una molécula principalmente empleada para la formación de quitina en los crustáceos (Stevenson, 1985). La glucosamida puede ser sintetizada en la glándula digestiva y transportada a la epidermis para la síntesis de quitina (Gibson y Barker 1979). También Cuzon et al. (1980) observó nuevamente glicógeno en la hipodermis en *Penaeus japonicus*, lo que indica una intensa actividad

metabólica y un transporte importante de nutrientes de un órgano a otro.

Como ya se mencionó, a diferencia de los CHOS, los niveles de TG y PROT fueron mayores a 32° C que a 28° C. Sin embargo, como lo indica la interacción significativa entre salinidad y temperatura, las concentraciones observadas a cada temperatura dependieron de la salinidad, y por lo tanto se tienen que analizar los efectos de ambas combinaciones ambientales sobre estas variables bioquímicas. En el caso de las PROT, se observaron en general mayores niveles a 35 ‰, pero el efecto fue aun más pronunciado a la temperatura de 32° C. Se sabe que en altas salinidades los camarones utilizan PROT como una fuente de amino ácidos libres para mantener la presión osmótica intracelular (Claybrook, 1983). Este es un mecanismo por medio del cual muchas especies eurihalinas pueden responder a los cambios de salinidad del medio: al incrementar el contenido de aminoácidos libres en sus tejidos hay un equilibrio osmótico con el medio extracelular que tiene una alta concentración de iones inorgánicos, lo que evita la pérdida de agua intracelular (Gerard y Gilles, 1972; Claybrook, 1983).

Este incremento de aminoácidos libres puede darse de manera relativamente rápida durante la aclimatación a altas salinidades por un proceso de proteólisis. Por lo anterior el incremento en los niveles de PROT observado en este trabajo a 35 ‰ parecería contradictorio con una proteólisis generalizada. Sin embargo este incremento en los niveles de PROT fue observado a largo plazo y una mayor reserva de PROT en el hepatopáncreas podría indicar un ahorro de su utilización como fuente de energía para ser utilizada gradualmente como fuente de aminoácidos

libres para otros tejidos (e. g. músculo). El ahorro en el uso energético de PROT a altas salinidades ha sido mostrado por una alta relación entre el oxígeno consumido y el nitrógeno excretado (Rosas et al, 1999) y por una disminución en la excreción de compuestos nitrogenados (Chen y Lin, 1998). Por el contrario a 25 ‰, que es cercano al punto iso-osmótico (Castille y Lawrence, 1981), esta estrategia de almacenamiento no es necesaria y las PROT del hepatopáncreas estarían siendo utilizadas para fines energéticos y transferidas a músculo para crecimiento. El almacenamiento de proteínas a alta salinidad fue aun más evidente a alta temperatura lo cual puede deberse a un incremento en la asimilación de PROT de la dieta por un aumento en el consumo del alimento y en la eficiencia en la digestión. Por otro lado, la alta concentración de proteínas observada también puede deberse a que se estuviesen utilizando alternativamente otras sustancias energéticas como los CHOS, que de hecho fueron encontrados a menores concentraciones a altas temperaturas, ó bien lípidos que se analizarán a continuación.

En cuanto a los TG, los niveles de este componente bioquímico fueron mayores a alta temperatura únicamente cuando la salinidad fue baja. Al igual que para las PROT, esto se puede deber a una mayor eficiencia de asimilación de lípidos de la dieta. Sin embargo, a 35 ‰ la utilización de energía en forma de lípidos para el crecimiento fue probablemente mayor si consideramos que las PROT a está salinidad están siendo también siendo utilizadas para osmorregular, y por ende los niveles de TG en el hepatopáncreas fueron menores.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.5. Mortalidad

La mortalidad puede influir en el crecimiento evaluado en un grupo porque modifica la relación de densidad y de competencia dentro del grupo en cultivo. Los presentes resultados indican que este factor no fue determinante en el crecimiento. La ausencia de diferencias significativas en la supervivencia entre los distintos tratamientos indica que no se usaron valores extremos o letales de salinidad y temperatura, y muestra que en nuestro estudio no hubo efecto de densidad sobre el crecimiento que hubiera podido enmascarar el verdadero efecto del tratamiento. Esto es, las temperaturas utilizadas en este estudio se encuentran muy posiblemente dentro del intervalo de tolerancia de *L. vannamei*, ya que no originaron el decremento de la supervivencia encontrado en otros estudios cuando la temperatura aumenta hasta niveles muy próximos al letal (Yang 1990; Wyban et al. 1995; Martínez-Palacios et al. 1998).

La mortalidad ha sido asociada principalmente con altas temperaturas y no necesariamente con cambios en los niveles de salinidad. Por ejemplo, Kumlu et al. (2000) observaron que el intervalo de temperatura en el cual las larvas de *P. semisulcatus* mostraron una mejor supervivencia y un mejor desarrollo fue relativamente estrecho comparado con el de salinidad. Por su parte, Bray et al. (1994) no encontraron diferencias significativas en las tasas de supervivencia de juveniles de 2 g evaluados en 5 y 40 ‰, ni entre 5 y 35 ‰. Samocha et al. (1998) tampoco observaron diferencias de supervivencia en juveniles de 2 g evaluados en 2 y 8 ‰ respectivamente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados generados por este trabajo son relevantes porque pueden ser integrados en un programa de mejoramiento genético, dado que permitirán definir algunos criterios para conocer la conformación óptima de pies de cría de camarón y seleccionar, con bases genéticas, las características productivas deseadas por los productores de camarón. De igual manera, la integración de la información de crecimiento con la información de la respuesta fisiológica de los organismos en diferentes condiciones ambientales permitirá entender algunas de las causas que provocan un crecimiento diferencial en ambientes distintos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

7. CONCLUSIONES

Después de 21 días de tratamiento, la IGA para el crecimiento de juveniles de camarón blanco no fue significativa. La ausencia de esta interacción nos indica que la selección en cualquiera de los ambientes evaluados resultará en una respuesta similar en todos ellos.

Se observó que en cada uno de los experimentos, que tuvieron una duración de 3 semanas, el aumento de peso fue significativo al incrementarse la temperatura, y que el crecimiento mostró evidencias de una correlación inversa con la salinidad de los tratamientos

Las condiciones a las cuales se dio el mayor crecimiento (25 ‰ y 32° C) coincidieron con una concentración baja de CHOS y PROT, pero una alta concentración de TG. Las concentraciones bajas de CHOS y PROT pueden ser explicadas por ser elementos indispensables asociados a la muda. Adicionalmente esto se asocia con el mayor crecimiento que se dio en condiciones de baja salinidad, ya que al no ser requeridas las PROT para osmoregulación posiblemente pudieron ser movilizadas junto con los CHOS para funciones de crecimiento. Las altas concentraciones de TG pueden deberse a que al movilizar las PROT y CHOS, los TG constituyeran una forma de almacenamiento de energía más eficiente para las demás funciones corporales, ya que proveen más energía por unidad de peso. Esto parece revelarse al observar que la alta concentración de TG que se menciona se dio en las mismas condiciones ambientales en las que ocurrió el mayor crecimiento.

8. LITERATURA CITADA

- Abdel-Rahman, S. H., Kanazawa A., Teshima S., 1979. Effects of dietary carbohydrate on the growth and the level of the hepatopancreatic glycogen and serum glucose of prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 45, 1491-1494
- Alvarez-Jurado, G., 1987. Genética y Acuicultura. En: Genética en Acuicultura, Espinosa de los Monteros J. y Labarta U. (Eds). 1-23 pp. Industrias Gráficas España S. L., Madrid.
- Bagley, M. J., Bentley B., Gall G. A., 1994 A genetic evaluation of the influence of stocking density on the early growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Aquaculture 121(4), 313-326.
- Barclay, M. C., Dall, W., Smith, D.M., 1983. Changes in lipid and protein during starvation and the moulting cycle in the tiger prawn, *Penaeus esculentus* Haswell. J. Exp. Mar. Biol. & Ecol. 68, 229-244.
- Bartlett, P., P. Bonilla, L. Quiros, y M. Takano. 1990. Effect of high salinity on the survival and growth of juvenile *Penaeus vannamei*, *P. stylirostris*, and *P. monodon*. In: World Aquaculture, 90, 121/CP6 National Research Council, Ottawa, Ontario, Canada.
- Beachman, T. D., 1987. Genotype-environment interactions in growth of chum salmon. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. 1517, 14 pp.
- Berry, R. L. 1982. Growth, Survival and Salinity Tolerances of Penaeid Shrimp in Thermal Effluents. Texas A&M University, M.Sci. thesis.
- Bradford, M. M., 1974. A refined method of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-253.
- Bradly, B. P. 1986. Genetic expression of temperature tolerance in the copepod *Eurytemora affinis* in different salinity and temperature environments. Mar. Biol. 90(4), 561-565
- Bray, W.A., Lawrence, A.L., Leung-Trujillo, J.R., 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHNV virus and salinity. Aquaculture 122, 133-146.
- Campbell, J. W. 1991. Excretory nitrogen metabolism. In: Prosser C. L.(Ed.) Comparative Animal Physiology. Pp. 277-324. Wiley-liss, New York.
- Castille, F. L., Lawrence A.L., 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. Comp. Biochem. Physiol. 68A, 75- 80.

- Claireaux, A. y J. P. Lagardere, 1999. Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass. *J. Sea Research* 42(2), 157-168.
- Claybrook, D. L., 1983. Nitrogen metabolism. In: Mantel, L.H. (Ed.), *The Biology of Crustacea, Internal Anatomy and Physiological Regulation*. Academic Press, New York, vol. 5, pp. 163-202.
- Cruz, P., J. L. Ramírez, G. A. Garcia, A. M. Ibarra., 1998. Genetic differences between two population of catarina scallop (*Argopecten ventricosus*) for adaptation for growth and survival in stressful environment. *Aquaculture* 166, 321-335.
- Chang, E. S y J. D. O'Connor, 1983. *Metabolism and transport of Carbohydrates and Lipids. The Biolgy of Crustacea, 1983*, Academic Press.
- Charmantier, G., 1998. Ontogeny of osmoregulation in crustaceans: A review. *Invertebrate Reproduction & Development* 33 (2-3), 177-190.
- Charmantier, G., Charmantier-Daures, 2001. Ontogeny of osmoregulation in crustacean: The Embryonic Phase. *Amer. Zool.* 41, 1078-1089.
- Chen, J.-C., Lin, J.-N., 1998. Osmotic concentration and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles reared at different salinity and temperature levels. *Aquaculture* 164, 173- 181.
- Chiyokubo, T., T. Shikano, M. Nakajima, Y. Fujio., 1998. Genetic features of salinity tolerance in wild and domestic guppies *Poecilia reticulata*. *Aquaculture* 167, 339-348
- Choudhury, P. C., 1971. Responses of larval *Macrobrachium carcinus* to variation in salinity and diet. *Crustaceana* 20, 113-120.
- Chow, S. and P. A. Sandifer, 1991. Differences in growth, morphometric traits and male sexual maturity among Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, from different commercial hatcheries. *Aquaculture* 92, 65-178
- Cuzon, G.; C. Cahu, J. F. Aldrin, J. L. Messenger, G. Stephan y M. Mevel, 1980. Starvation effect on metabolism of *Penaeus japonicus*. Proceedings of the eleventh annual meeting. World Mariculture Society, New Orleans, Louisiana, March 5-8 1980., p. 410-423.
- Dall, W. and D. M. Smith. 1986. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns *Penaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture* 55, 23-33.

- Dall, W., Hill, B. J., P. C. Rothlisberg y D. J. Staples, , 1990 The Biology of the Penaeidae. Advances in Marine Biology, Vol. 27. Academic Press, London, 489 pp.
- De Tomas Kutz, A., Lawrence, A. L., 1998. Quantitative genetic analysis of growth and survival in *Penaeus vannamei* versus temperature. In: Jory, D.E. Ed., Proceedings 1st Latin American Shrimp Farming Congress, October, Panama City, Panama.
- Deshimaru, O., y K. Shigeno, 1972. Introduction to artificial diet for prawn, *Penaeus indicus*. Aquaculture 1, 115-133.
- Diaz, F., C. Farfan, E. Sierra, 2001. Effects of temperature and salinity fluctuation on the ammonium excretion and osmoregulation of juveniles of *Penaeus vannamei*, Boone. Marine and Freshwater Behaviour & Physiology. Vol. 34, No. 2, pp. 93-104.
- Dickie, L. M., P. R., Boudreau y K. R. Freeman, 1984. Influences of stock and site on growth and mortality in the blue mussel *M. edulis*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41, 134-140.
- Dore, I., 1993. Shrimp, Product and Marketing in the Aquaculture Age. Urner Barry Publications Inc. New Jersey, USA.
- Dore, I., y C. Frimodt., 1987. An Illustrated guide to shrimp of the world. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Falconer, D.S., 1981. Introduction to Quantitative Genetics. 3rd edn. Longman Group, Essex, UK, 340 pp.
- Falconer, D.S., Mackay, T.F.C., 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4th edn. Longman, Essex, England, 464 pp.
- Fishback, A. G., R. G. Danzmann, M. M. Ferguson y J. P. Gibson, 2002. Estimates of genetic parameter interactions for growth traits of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as inferred using molecular pedigrees. Aquaculture 206, 137-150.
- Fraser, A. J. 1989 Triacylglycerol contents as a condition index for fish, bivalve, and crustacean larvae. Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Science 46, 1686-1873.
- Fry, F. E., 1947. Effects of the Environment on Animal Activity. University of Toronto Studies, Biological Sciences 55, 1-62
- Gerard, J.F., Gilles, R., 1972. The free amino-acid pool in *Callinectes sapidus* Rathbun tissues and its role in the osmotic intracellular regulation. J. Exp. Mar. Biol. & Ecol. 10, 125-136.

- Gibson, R., y P. L. Barker, 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 17, 285-346
- Gilles R. 1977. Effect of osmotic stresses on the protein concentration and pattern of *Eriocheir sinensis* Blood. *Comp. Biochem Physiol.* 56, 109-114
- Gilles, R., A. Pequeux y A. Bianchini, 1998 Physiological aspects of NaCl movements in the gills of the euryhaline crab, *Eriocheir sinensis*, acclimated to fresh water, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, Volume 90, Issue 1, 1988, Pages 201-207
- Gjedrem, T., 1985. Improvement of productivity trough breeding schemes. *Geojournal* 10, 233-241
- Gjedrem, T., 1997. Selective breeding to improve aquaculture production. *World Aquaculture* 28, 33-45.
- Gunnes, K y T., Gjedrem. 1981. A genetic analysis of body weight and length in rainbow trout reared in seawater for 18 months. *Aquaculture* 24, 161-174.
- Gunnes, K., Gjedrem, T., 1978. Selection experiments with salmon: IV. Growth of Atlantic salmon during two years in the sea. *Aquaculture* 34, 327-332.
- Hanke, A. R., G. W. Friars, R. L. Saunders y J. M. Terhune, 1989. Family x Photoperiod interaction on growth in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Genome* 32, 1105-1112.
- Heath, D. D., Devlin, R.H., Heath, J.W., Iwama, G.K., 1994. Genetic, environmental, and interaction effects on the incidence of jacking in *Oncorhynchus tshawytscha* chinook salmon. *Heredity* 72 (2), 146-154.
- Hebert, K. P., P. L. Goddard, W. W. Smoker, y A. J. Gharrett, 1998. Quantitative genetic variation and genotype by environment interaction of embryo development rate in pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci./J. Can. Sci. Halieut. Aquat.* 55(9), 2048-2057.
- Hedgecock, D. y K. Nelson, 1978. Components of Growth Rate Variation Among Laboratory Culture Lobster (*Homarus*). *J. World Maricult. Soc.* 9, 125-137
- Hedgecock, D. y Malecha, R. S. 1991. Prospects for the application of biotechnology to the development and improvement of shrimp and prawns. In: Sandifer, A. P. Eds. *Shrimp culture in North America and*

the Caribbean. *Advances in World Aquaculture*. Vol. 4. The World Aquaculture Society. 161-200.

- Hewitt-Contreras, D. A., 1992. Response of protein turnover in the brown tiger prawn *Penaeus esculentus* to variation in the dietary protein content. *Comp. Biochem. Physiol.* 103A, 183-187.
- Holthuis, L. B., 1980. *FAO Species catalog, Vol. 1, Shrimp and Prawns of the World*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Holland, D. L., 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. In: Malins, D. C. y J. R. Sargent (eds), *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology*, Academic Press, London, pp. 85-123.
- Huang, H. J., 1983. Factors affecting the successful culture of *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei* at an estuarine power plant: temperature, salinity, inherent growth, variability, damselfly nymph predation, population density and distribution, and polyculture. Ph. D. Dissertation, Texas A&M University.
- Imsland A., A. Foos. S. Gunnarson, M. Berntss, R. Fitzgerald, Bonga. S. W., Ham E. G. Naevdal, S. O. Stefansson., 2001 The interaction of temperature and salinity on growth and food conversion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 198, 353-367
- Iwamoto, R.N., Alexander, B.A., Hershberger, W.K., 1984. Genotypic and environmental effects on the incidence of sexual precocity in coho salmon *Oncorhynchus kisutch* . *Aquaculture* 43, 105-121.
- Iwamoto, R.N., Myers, J.M., Hershberger, W.K., 1986. Genotype-environment interactions for growth of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture* 57, 153-161.
- Jiang D. Huo, A. L. Lawrence, W. H. Neill, H. Gong, 2000. Effect of temperature and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Jour. Exp. Mar. Biol. & Ecol.* 253, 193-209.
- Jonasson, J; Stefansson, S. E; Gudnason, A; Steinarsson, A. 1999. Genetic variation for survival and shell length of cultured red abalone (*Haliotis rufescens*) in Iceland. *Journal of Shellfish Research* 2:621-625.
- Kinghorn, B. P. 1983. A review of quantitative genetic in fish breeding. *Aquaculture* 31, 283-304.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Kinne, O., 1963. The effect of temperature and salinity on marine and brackish water animals: I. Temperature. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 1, 301-340.
- Kirkpatrick M., y Lande, R., 1989. The evolution of maternal effect. *Evolution* 43, 485-503.
- Lawrence, A. M., Velasco, M; Montoya, R; Samocha, T. M., 1998 Sustainable shrimp farming: the need for "environmentally friendly" feeds and feed management strategies. (4th International Symposium on Aquatic nutrition). 4. Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, La Paz, Baja California Sur, Mexico, 15-18 november 1998 pp. 281-284.
- Lemaire P., Bernard E., Martinez-Paz J. A y L. Chim, 2002. Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juveniles and subadult *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 209, 307-317.
- Lester L. J., y M. J. R. Pante, 1992. Penaeid Temperature and Salinity responses. In Fast A. W and L. J. Lester (Eds.), *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam pp. 515-534.
- Lignot, J.-H., Cochard, J.C., Soyez, C., Lemaire, P., Charmantier, G., 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 170, 79- 92.
- Likongwe J. S., T. D. Stecko, J. R. Stauffer, R. F. Carline., 1996. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). *Aquaculture* 146, 37-46.
- Loret, S. M. 1993. Hemocyte differentiation in the shore crab (*Carcinus maenas*) could be accompanied by a loss of glycogenosynthesis capability. *The Journal of Experimental Zoology* 267, 548-555.
- Lovrich, G.A., Ouellet, P., 1994. Patterns of growth and triacylglycerol content in snow crab *Chionoecetes opilio* Brachyura: Majidae zoeal stages reared in the laboratory. *Mar. Biol.* 120, 585-591.
- Malecha, R. S., y Hedgecock, D. 1989. Prospects for domestication and breeding of marine shrimp. Sea Grant Technical Report. UNIH-SEAGRANT-TR-89-01 UH Sea Grant College Program Honolulu, Hawaii.
- Mallet A. L., C. E. A. Craver, S. S. Coffen y K. R. Freeman, 1987a. Winter growth of the blue mussel *Mytilus edulis*. Importance of stock and site. *J. Exp. Mar. Biol. & Ecol.* 108, 217-228.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

NO SE PUEDE VENDER
EN LA BIBLIOTECA

- Mallet, A.L., Freeman, K.R., Dickie, L.M., 1987b. The genetics of production characters in the blue mussel *M. edulis*: I. A preliminary analysis. *Aquaculture* 57, 133-140.
- Manik, R; I. S. Djunaidah y B. Tiensongrusmee, 1980. The Survival and Growth of the Postlarval Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*, Reared in Laboratory with Formulated Feed. Bulletin of the Brackishwater Aquaculture Development Centre, Jepara 6 (1-2), 422-427.
- McKenney C. L. y D. M. Celestial, 1995. Interactions among salinity, temperature and age on growth of the estuarine mysid *Mysidopsis bahia* reared in the laboratory through a complete life cycle. 1. Body Mass and Age Specific Growth Rate. *Journal of Crustacean Biology* 15(1), 169-178.
- Moav, R., G. Hulata., y G. Wohlfarth., 1975. Genetic Analysis Between the Chinese and European Races of Common Carp. I Analysis of Genotype, Environmental Interaction for Growth Rate. *Heredity* 34, 323-340.
- Mourente G., Medina A., Gonzalez S. y A. Rodríguez, 1995. Variation in lipid content and nutritional status during larval development of *Penaeus kerathurus* *Aquaculture* 130, 165-269.
- Neill W., and J.D. Bryan, 1991. Responses of Fish to Temperature and Oxygen, and Response Integration Through Metabolic Scope. In Brune D.E. and J. R. Tomasso (Eds.), *Aquaculture and Water Quality*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, U.S.A. pp. 93 (abstract)
- Newkirk, G. F., 1980. Review of the genetics and the potential for selectives breeding of commercial important Bivalves. *Aquaculture* 19, 209-228.
- Newkirk, G.F., 1978. Interaction of genotype and salinity in larvae of the oyster *C. virginica*. *Mar. Biol.* 48, 227-234.
- Newkirk, G.F., Waugh, D.L., Haley, L.E., 1977. Genetics of larval tolerance to reduced salinities in two populations of oysters, *C. virginica*. *J. Fish. Res. Board Can.* 34, 383-387.
- O' Brien C. J., 1994. The effects of temperature and salinity on growth and survival of juvenile tiger prawns *Penaeus esculentus* (Haswell). *J. Exp. Mar. Biol. & Ecol.* 183 (1), 133-145.
- Okoshi, K. K. Mori and T. Nomura., 1987 Characteristics of Shell Chambers Formation Between the two Local Races in the Japanese Oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 67, 313-320.

- Omondi, J. G. and J. R. Stark. 1996. In vitro carbohydrate digestibility tests in the Indian white shrimp, *Penaeus indicus*. Aquaculture 139, 315-328.
- Ouellet P., Taggart C. T. y Frank K. T., 1992 Lipid condition and survival in shrimp (*Pandalus borealis*) larvae. Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Science 49, 368-379.
- Palacios E, A. M. Ibarra, J. L. Ramírez , G. Portillo y I. S. Racotta, 1998. Biochemical composition of eggs and nauplii in white Pacific shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone) in relation to the physiological condition of spawners in a commercial hatchery. Aquaculture Research 29, 183-189.
- Palacios E., C.I. Perez-Rostro, J.L. Ramirez, A.M. Ibarra, I.S. Racotta, 1999. Reproductive exhaustion in shrimp *Penaeus vannamei* reflected in larval biochemical composition, survival and growth. Aquaculture 171, 309-321
- Panikkar, N.K., 1968. Osmotic behavior of shrimp and prawns in relation to their biology and culture. FAO Fish Rep. 57, 527-538.
- Pante M. J. R. 1990. Influence of environmental stress on the heritability of molting frequency and growth rate of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*, M. S. Thesis Univ. Houston-Clear Lake, Houston TX. USA.
- Parado-Esteva, F. D. 1998. Survival of *Penaeus monodon* postlarvae and juveniles at different salinity and temperature levels. Isr. J. Aquacult. 45(1), 3-7.
- Pérez Rostro C. I. (2002). Parámetros genéticos para caracteres del crecimiento, metabólicos y de respuesta a estrés en larvas, juveniles y adultos de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis Doctoral, CIBNOR, S.C. (La Paz B.C.S., México). 162 p.
- Perez-Rostro C. I y A. M. Ibarra (2003a), Heritabilities and genetic correlations of size traits at harvest size in sexually dimorphic Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) grown in two environments. Aquaculture Research 34, 1079-1085.
- Perez-Rostro C. I y A. M. Ibarra (2003b), Quantitative genetic parameter estimates for size and growth rate traits in pacific white shrimp *Penaeus vannamei* (Boone 1931) when reared indoors conditions. Aquaculture Research 34, 543-553.
- Ponce-Palafox, J; C. A. Martinez-Palacios y L. G. Ross, 1997. The effects of Salinity and Temperature on the Growth and Survival Rates of Juveniles White Shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone 1931. Aquaculture. Vol. 157, no. 1-2:105-113. 15.

- Pongthana, N. 1987. Genetic characteristics and growth performances among five populations of oyster (*Crassostrea belcheri*, Sowerby) along the Coast of Thailand. 5th Asian Fisheries Forum (AFF) International Conference on Fisheries and Food Security Beyond the Year 2000, Chiang Mai (Thailand), 11-14 Nov 1998. (World Meeting Number 984 5047)
- Porchas-Cornejo, M. A. 1996. Efecto de la Salinidad en el Desarrollo Larvario del Camarón Café *Penaeus californiensis* (Holmes, 1900), Tesis (Licenciatura en química-biológica) Universidad de Sonora. Hermosillo, México. 65 p.
- Price D. J., y G. M. Clayton., 1999 Genotype-environment interactions in the susceptibility of the common carp, *Cyprinus carpio*, to *Ichthyophthirius multifiliis* infections. *Aquaculture* 173, 149-160
- Primavera, J. H., 1985. A review of maturation and reproduction in closed thelycum penaeids. In: Taki, Y., Primavera, J.H., Llobrera, J.A. Eds. , Proceedings of the First International Conference on the culture of Penaeid prawn shrimps, Iloilo City, Philippines, 4-7 December 1984, pp. 47-64.
- Rawson, P. D., y T. J. Hilbish, 1990. Heritability of juvenile growth for the hard clam *Mercenaria mercenaria*. *Marine Biology* (Berlin, Heidelberg) 105(3), 429-436.
- Regnault, M. 1981. Respiration and ammonia excretion of the shrimp *Crangon crangon*. Metabolic response to prolonged starvation. *Journal Comparative Physiology* 141, 549-555
- Rosas, C., Sanchez, A., Diaz, E., Soto, L.A., Gaxiola, G., Brito, R., Baes, M.I., Pedroza, R., 1995. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effects of protein level on substrate metabolism. *Aqua. Liv. Res.* 8, 161-169.
- Rosas C., G. Cuzon, G. Gaxiola, Y. Le Priol, C. Pascual, J. Rossignol, F. Contreras, A. Sánchez, A. Van Wormhoudt, 2001. Metabolism and Growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: Effect of salinity and dietary carbohydrate level. *Jour. Exp. Mar. Biol. & Ecol.* 259, 1-22.
- Rosas, C., Ocampo, L., Gaxiola, G., Sanchez, A., Soto, L.A., 1999. Effect of salinity on survival, growth and oxygen consumption of postlarvae (PL10-PL21) of *Penaeus setiferus*. *J. Crustacean Biol.* 19, 67- 75.
- Rosenberry, B., 1995. World Shrimp Farming 1995. *Shrimp News International*, San Diego, Cal. USA.

- Rosenberry, B., 1996. World Shrimp Farming 1996. Shrimp News International, San Diego, Cal. USA.
- Samocha Tzachi M., H. Guajardo, Addison L. Lawrence, Frank L. Castille, Michael Speed, David A. McKeey y Kim I. Page, 1998. A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae, *Aquaculture* 165, 233-242.
- Sanchez A., C. Rosas, E. Escobar, y L. A. Soto, 1991. Skeleton weight free oxygen consumption related to adaptation to environment and habits of six crustacean species. *Comparative Biochemistry & Physiology* 100A, 69-73.
- Santos, E. A., Keller, R., 1993. Crustacean hyperglycemic hormone (CHH) and the regulation of carbohydrate metabolism: current perspectives. *Comp. Biochem. Physiol.* 106A, 405- 411.
- Sarver, D., Malecha, S. y Onizuka, D., 1979. Development and characterization of genetic stock and their hybrids in *Macrobrachium rosenbergii*: physiological responses and larval development rates. Proceedings of the 10th annual meeting. World Mariculture Society, Honolulu, Hawaii, January 22-26, 1979. p. 880-892
- Schmidt-Nielsen, K., 1997 *Animal Physiology. Adaptation and Environment* Cambridge University Press, New York (USA), 607 pp
- Shiau, S. Y., y Peng C. Y. 1992. Utilization of different carbohydrates at different dietary protein levels in grass prawn, *Penaeus monodon*, reared in seawater. *Aquaculture* 101, 241-250.
- Sneed K. E., 1971 Some Current North American Work in Hybridization and Selection of Cultured Fishes. Seminary/Study Tour in the USSR on Genetic Selection and Hybridization of Cultivated Fishes. Rep. FAO/UNDP-TA 2926, pp 143-150.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1981. *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. San Francisco: W. H. Freeman. 859 p.
- Staples D. J. y Heales D.S. 1991. Temperature and salinity optima for growth and survival of juvenile banana prawns *Penaeus merguensis*. *J. Exp. Mar. Biol. & Ecol.* 154, 251-274.
- Stern, S., Daniels, H., Letelier E., 1990. Tolerance of post larvae and juvenile *Penaeus vannamei* to low salinity. In: *World Aquaculture 90*, Halifax Nova Scotia Canada. National Research Council, Ottawa. Abstract.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Stevenson, J.R., 1985. Dynamic of the integument. In: Bliss, D. E., Mantel, D. H. (Eds.), *Integument, Pigments and Hormonal Processes*. Academic Press, New York, pp. 2 -32.
- Stryer L., 1995 *Biochemistry*, fourth edition, volume II, W. H. Freeman and Company, New, York USA, 1008 p.
- Suárez, J. A., Gutterle, T.; M. R. Angarita, y M. Rye, 1999. Primeros resultados del programa de selección familiar del camarón marino *Litopenaeus vannamei* realizado en Colombia. In Cabrera, T. D., Silva M. (Eds.). Mem. Cong. Acuac. 99 (Puerto La Cruz, Venezuela) Tomo II, 287-291.
- Toro J. E., P. Aguila y A. M. Vergara, 1996. Spatial variation in response to selection for live weight and shell length from data on individually tagged Chilean native oysters (*Ostrea chilensis* Philippi, 1845). *Aquaculture* 146, 27-36.
- van Handel, E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Analytical Biochemistry* 11, 256-265.
- Vargas-Albores, F., Ochoa, J.L., 1992. Variation of pH, osmolality, sodium and potassium concentrations in the haemolymph of sub-adult blue shrimp (*Penaeus stylirostris*) according to size. *Comp. Biochem. Physiol. Part A* 102, 1- 5.
- Venkataramiah, A. Lakshmi G. J., Gunter, G., 1974 Studies on the effects of salinity and temperature on the commercial shrimp *Penaeus aztecus* Ives, with special regard to survival limits growth, oxygen consumption an ionic regulations. Gulf Coast Research Laboratory, NTIS, U. S. Department of Commerce, Springfield, VA. USA.
- Villareal H., P. Hinojosa, J. Naranjo. 1994. Effects of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 108A, 331-336.
- Wangila, B. C. C. y T. A Dick, 1988. Influence of genotype and temperature on the relationship between specific growth rate and size of rainbow trout. *Trans. Am. Fish. Soc* 117 (6), 560-564.
- Wild, V., H. Simianer, H. M. Gjoen, B. Gjerde. 1994. Genetic parameters and genotype x environment interaction for early sexual maturity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 128, 51-65.
- Williams, A.B., 1960. The influence of temperature on osmotic regulation in two species of estuarine shrimps (*Penaeus*). *Biol. Bull. (Woods Hole, Mass.)* 119, 560-571.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Winkelman, A. M., Peterson, R. G., 1994. Genetic parameters (heritabilities, dominance ratios and genetic correlations) for body weight and length of chinook salmon after 9 and 22 months of saltwater rearing. *Aquaculture* 125, 31-36.
- Wohlfarth, G. W., R. Moav, y G Hulata., 1983. A genotype-environment interaction for growth rate in the common carp, growing in intensively manured ponds. *Aquaculture* 33(1-4):187-195.
- Wyban, J., W. A. Walsh y D. M. Woldin., 1995 Temperature Effect on Growth, Feeding Rate and Feed Conversion of the Pacific White Shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 138, 267-279.
- Yang, C. H. 1990. Effect of some environmental factors on the growth of chinese shrimp, *Penaeus chinensis*. In: Main, K. L., Fulks, W. (Eds), The culture of Cold Tolerant Shrimp: Proceeding of an Asian-U. S. Workshop on Shrimp Culture, Honolulu, Hawaii, pp. 92-96.
- Zar J. H. Biostatistical Analysis. 1999, Ed. Prentice may, 4th edition, USA. 663 p.
- Zein-Eldin Z. P., Aldrich, D. V., 1965. Growth and survival of postlarvae *Penaeus aztecus* under controlled conditions of temperature and salinity. *Biol. Bull.* 129, 199-216.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN