



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

*Parametrización y desarrollo del sub-modelo del proceso fisiológico de muda de *Litopenaeus vannamei* como parte de un modelo de crecimiento individual de camarones peneidos.*

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA MARINA)**

PRESENTA

Biól. María de Carmen Galindo de Santiago

DIRECTOR DE TESIS

DR. Xavier Chiappa Carrara





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.

DEDICATORIAS

Especialmente y con todo mi amor a Aldo y Valeria, mis hermosos hijos y lo más importante en mi vida. Gracias por existir, todos mis esfuerzos encaminados a ser una mejor persona y profesionalista siempre serán guiados por ustedes. Los amo con toda mi alma.

A Joel por su amor y la amistad que siempre nos va a unir como personas, por la vida en común aunque sea en la distancia y por el apoyo incondicional para cumplir mis metas y mis sueños. Porque sé que nunca me dejarás sola, te amo.

Con mucho amor para mi mamá, Carmen de Santiago, mi mayor ejemplo de que lo que nos proponemos en la vida, con mucho esfuerzo y constancia siempre será posible.

A mis hermanos, Blanca, Alma Rosa, Humberto, Héctor y Maribel, por el inmenso cariño que nos unirá siempre aunque estemos lejos geográficamente y por el apoyo incondicional que siempre me han dado.

A mis sobrinos Samantha, Diego, Roberto Carlos, Mónica, Alexa, Fernanda, Mariana y David, con mucho cariño porque para mi representan la esperanza de un futuro mejor.

A todos los miembros de la familia Loera Pérez, que siempre han estado al pendiente de nosotros y me han brindado su apoyo incondicional y presencial, particularmente a mis suegros Bertha Pérez y José Loera y a mi cuñada Lorena Loera.

A mis amigos más entrañables, Salvador, Rosy, Miguel Angel, Juan José, Carmen, Fabiola, Arturo y Tere por su amistad a través del tiempo y la distancia.

A Xavier, a Gaby y a Nuno porque además de ser mis tutores han sido mis amigos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Xavier Chiappa Carrara, por la dirección de esta tesis, por su gran apoyo tanto académico, profesional e incluso personal. Agradezco particularmente su calidad humana, su enorme paciencia y el apoyo que siempre me manifestó en los momentos más difíciles en pos de este proyecto académico y de vida.

A los revisores de este trabajo, incluso aquellos que no forman parte del jurado:

Al Dr. Nuno Dias Marques Simões (UMDI-Sisal), por su gran calidad académica, sus valiosas y críticas aportaciones al trabajo, por ese espíritu incansable por que el conocimiento trascienda y por su amistad.

A la Dr. Gabriela Gaxiola Cortés (UMDI-Sisal), por su enorme apoyo en la parte bioquímica. Sus conocimientos y su capacidad académica son verdaderamente invaluable.

A la Dra. Adela Monreal Gómez (ICMyL), al Dr. Sergio Cházaro Olvera (FES-I), al Dr. Pedro Duarte da Silva (Universidade Fernando Pessoa), al Dr. Gerard Cuzon (IFREMER), al M. en C. Armando Cervantes Sandoval (FES-Z), a la Dra. Maite Mascaró Miquelajáuregui (UMDI-Sisal), y al M. en C. Joel Loera Pérez (UACH), mi más sincero reconocimiento y agradecimiento por la revisión de esta tesis, sus comentarios y valiosas aportaciones.

A los técnicos académicos de la UMDI-Sisal, Biól. Manuel Valenzuela Jiménez, Biól. Gabriela Palomino Albarrán, Ing. Adriana Paredes Medina, Ing. Miguel Arévalo López, Ing. Luis Enrique Hidalgo Arcos, Ing. Eliodoro Hernández Hernández, Biól. Gabriel Taboada Domínguez, M. en. Ariadna Berenice Sánchez Arteaga, Ing. Vianney Sosa Koh y M. en C. Maribel Badillo Alemán, por su apoyo técnico en las diferentes etapas de este trabajo.

Agradezco a mis compañeros de la UMDI-Sisal, Claudia Galicia González, Cecilia González Martínez, Juan Carlos Maldonado Flores y Andrés Altamira Robles-Gil por su apoyo en los experimentos, por las experiencias que vivimos juntos y por hacer más agradables las jornadas de trabajo. Nunca olvidaré que una noche de experimento vimos juntos por primera vez a un camarón mudar. A Lizbeth Rodríguez Pestaña por sus datos cedidos amablemente a este trabajo y por la ayuda en la información.

A la diseñadora gráfica Adriana Vázquez por el apoyo en el trabajo de digitalización y edición.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Programa de posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, por la oportunidad de continuar con mi formación académica.

Al CONACyT por el apoyo que recibí a través de la beca de posgrado

A la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Facultad de Ciencias, Sisal, por el apoyo en la infraestructura para la fase experimental de este trabajo.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, por el apoyo a través de un permiso en mis actividades docentes para la culminación de esta tesis.

A Industrias Pecis S. A. de C. V., por el aporte de los reproductores, progenitores de los camarones con los que se llevaron a cabo los experimentos de este trabajo.

Este trabajo fue posible gracias al financiamiento de los proyectos PAPIIT-DGAPA-UNAM (IX219404) y CONACyT-Ciencia Básica (44602-Q).

INDICE	
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPITULO I.- PROCESOS FISIOLÓGICOS INVOLUCRADOS EN LA MUDA	8
1.1. HIPÓTESIS	8
1.2 OBJETIVOS PARTICULARES	9
1.3 ANTECEDENTES	10
1.3.1 Biología del camarón Blanco del Pacífico <i>Litopenaeus vannamei</i>	10
1.3.2 Taxonomía	13
1.3.3 Ciclo de muda	14
1.3.3.1 Estadios de muda	17
1.3.4 Factores que afectan el ciclo de muda	19
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS	23
1.4.1 Experimento 1	23
1.4.1.1 Aclimatación	24
1.4.1.2 Primera fase	24
1.4.1.3 Segunda fase	25
1.4.2 Experimento 2	28
1.4.3 Experimento 3	29
1.4.4 Análisis estadístico	30
1.5 RESULTADOS	32
1.6 DISCUSIÓN	52
CAPITULO 2.- ADAPTACIONES BIOQUIMICAS QUE OCURREN DURANTE EL CICLO DE LA MUDA	61
2.1 ANTECEDENTES	61
2.1.1 Control del ciclo de muda	61
2.1.2 Metabolismo en la glándula digestiva	63
2.1.3 Composición y osmoregulación de la hemolinfa	65

2.2 HIPOTESIS	67
2.3 OBJETIVO	67
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS	68
2.4.1 Material biológico	68
2.4.2 Procedimiento experimental	68
2.4.2.1 Procesamiento de muestras	69
2.4.3 Análisis estadístico	71
2.5 RESULTADOS	73
2.6 DISCUSIÓN	80
CAPITULO 3. MODELACIÓN DEL PROCESO FISIOLÓGICO DE MUDA	87
3.1 ANTECEDENTES	87
3.1.1 Fases de la modelación	88
3.1.2 Modelación del crecimiento del camarón	89
3.2 OBJETIVOS	92
3.3 MATERIALES Y MÉTODOS	92
3.4 RESULTADOS	96
3.4.1 Ecuaciones del sub-modelo de muda	97
3.4.1.1 Cantidad de agua corporal	98
3.4.1.2 Tiempo de reducción de consumo de alimento (TRCA)	99
3.4.2 Descripción general del comportamiento del sub-modelo de muda	100
3.5 DISCUSIÓN	104
CONCLUSIONES GENERALES	107
LITERATURA CITADA	110

RESUMEN

El crecimiento es la expresión final de los procesos fisiológicos de un organismo. Los intentos para modelar el crecimiento de los crustáceos se han enfrentado al problema del carácter discontinuo de esta respuesta resultado de los procesos fisiológicos y bioquímicos que ocurren durante el ciclo de muda. El objetivo de este trabajo es generar información cuantitativa para construir un modelo matemático que describa el proceso de muda usando como modelo experimental al camarón *Litopenaeus vannamei*. En el presente trabajo se reporta la información experimental relacionada con la frecuencia de muda en función de la temperatura, incremento en peso entre mudas sucesivas, cantidad de agua bombeada durante la premuda, reducción del consumo de alimento pre y postmuda, así como los cambios a nivel bioquímico que el camarón experimenta a lo largo del ciclo de muda y como estos tienen efecto sobre el control de la homeóstasis del organismo.

Los resultados muestran que existe un efecto de la temperatura sobre la duración del ciclo de muda. En general, una variación en 3° C modifica la duración del ciclo en un día, esta respuesta está asociada con la reducción o aceleración de los procesos metabólicos por efecto de la temperatura. La duración del ciclo de muda tiene una relación lineal directa con el peso de los organismos. Los camarones mantenidos a 32° C ganan una mayor proporción en peso durante la intermuda con respecto a los de las otras temperaturas (26 y 29° C). La combinación de los componentes del crecimiento en los individuos, la duración del ciclo de muda y la cantidad de biomasa acumulada en intermuda fue más eficiente para los camarones en etapa juvenil sometidos a 32° C, lo cual se reflejó en un mayor crecimiento.

La cantidad de agua absorbida por los organismos en el momento de la muda tiene una relación alométrica negativa con respecto a su peso corporal húmedo ($Y=30.183X^{-0.9783}$), está en función de la velocidad de acumulación de biomasa y de la eficiencia en el reemplazo del agua por tejido corporal. La activación del proceso fisiológico de absorción de agua, está regulado hormonalmente por la hormona ecdisona, que actúa sobre la hipodermis modificando la permeabilidad del tegumento y por la hormona hiperglicémica que activa la bomba $Na^+K^+ATPasa$ permitiendo la entrada de agua e iones al organismo. El aumento del volumen de la hemolinfa que precede a este evento fisiológico modifica las

concentraciones de los componentes de la sangre como la glucosa y la hemocianina y tienen un efecto en la capacidad osmótica, la covariabilidad de estos metabolitos es indicadora de la adaptación bioquímica que los camarones presentan, para la regulación homeostática.

La hemocianina como pigmento respiratorio, es un buen indicador indirecto de la energía que el camarón utiliza en el proceso de muda, muestra un aumento en premuda para cubrir la demanda de oxígeno y hacer frente al gasto energético que los camarones experimentarán al momento de la muda. La glucosa es considerada una molécula base en las reservas de energía, tiene una fuerte correlación negativa con las reservas de glucógeno en el hepatopáncreas en la premuda tardía y la postmuda temprana, resultó ser un indicador real en los requerimientos de energía en el ciclo de muda.

Una vez que el tejido reemplaza al agua bombeada, los camarones realizan ajustes bioquímicos y fisiológicos para volver a mudar que se despliegan en períodos de ~72 h en juveniles y de ~108 h en adultos. La tasa de alimentación se reduce desde niveles del 32% en juveniles (3 a 5 g) hasta el 100% en camarones adultos (30 a 50 g).

En términos de crecimiento, el modelo logra reproducir de manera aproximada lo observado experimentalmente. El bajo crecimiento predicho y observado se atribuye principalmente a las condiciones experimentales a las que se sometieron los camarones, como la individualización y no a la estimación de la cantidad neta de agua absorbida en los camarones. Desde el punto de vista fisiológico y bioquímico, en general, el modelo permite la comprensión de la combinación de los factores que intervienen en el ciclo de muda, así como de la importancia de la regulación hormonal en este suceso.

Palabras clave: muda, camarón, fisiología, bioquímica, crecimiento, modelo.

INTRODUCCIÓN

La demanda mundial de la población hacia los productos alimenticios acuáticos va en aumento, la producción global de la pesca de captura y el suministro de pescado para la alimentación son actualmente los mayores jamás registrados y gran parte de las principales zonas pesqueras han alcanzado su máximo potencial. En algunos años, las fuentes que sostienen las industrias pesqueras de captura, no podrán por lo tanto, resolver la creciente demanda alimenticia global (FAO, 2006).

En esta demanda de alimentos, la acuicultura en el mundo ha crecido enormemente durante los últimos cincuenta años, de una producción de menos de un millón de toneladas en la década de 1950 a 59.4 millones de toneladas en 2004 (Figura 1).

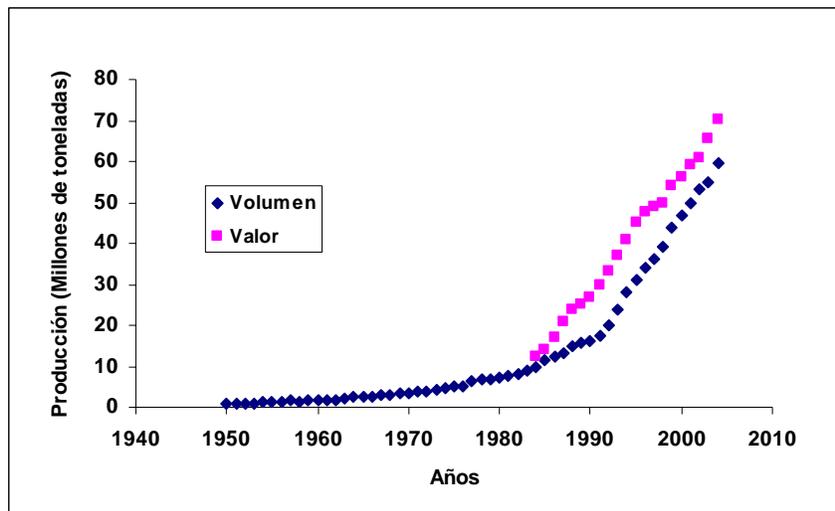


Figura 1.- Tendencia del valor y la producción mundial por acuicultura (incluyendo plantas) de 1950 a 2004 (Tomado de FAO, 2006)

De acuerdo a la proyección de crecimiento poblacional mundial para las próximas dos décadas, la FAO (2006) estima que por lo menos se requerirán 40 millones de toneladas adicionales de alimento acuático antes del 2030 para mantener el consumo *per capita*. Así, la acuicultura se intensifica en casi todas las regiones del mundo por tener el potencial de contribuir significativamente a este aumento en la demanda de alimentos (FAO, 2006).

En la actualidad, no hay muchas industrias primarias en el mundo que hayan registrado un crecimiento anual constante durante las últimas dos décadas. La acuicultura es un sector que ha alcanzado no solamente el crecimiento anual regular sobre una base global, sino que su extensión continúa (De Silva, 2001). Esta industria es vista frecuentemente como un sector primario importante de la producción de alimento, que contribuye a aligerar la pobreza, desde el punto de vista socioeconómico e industrial (De Silva, 2001).

A nivel mundial, la producción de crustáceos por acuicultura, representados por camarones peneidos y cangrejos, tiene valores de producción desproporcionados con respecto a las cantidades de producción. Los camarones peneidos se ubican en el sexto lugar por cantidad de producción (millones de toneladas) pero en el segundo por su valor. Por otra parte, gracias al desarrollo de la acuicultura, especies que eran consideradas “de lujo” como salmones y camarones son más accesibles ahora al aumentar la producción en volumen con tecnología mejorada, lo que ha traído como consecuencia bajos precios, según lo reflejado en los datos del valor. Esto ha dado como resultado una tendencia a bajar el valor por unidad de algunas especies durante los últimos 20 años. El valor en 2004 por unidad para el camarón en América Latina y el Caribe es solamente 58% del valor por unidad con respecto al del año de 1987 (FAO, 2006).

La introducción de la acuicultura en América Latina y el Caribe ocurrió en los años 40. Durante los últimos 20 años su desarrollo ha sido significativo (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2001), a nivel mundial ha crecido en un índice medio anual del 8.8% de 1950 a 2004. En dicha región, el crecimiento medio anual ha sido el más alto, a razón del 21.3% anual en este mismo periodo. La alta tasa de crecimiento en la región es entendible puesto que la acuicultura era casi inexistente de la década de los 50 al inicio de los 70. Durante la década pasada, la producción de salmónidos alcanzó a la de camarón, misma que era considerada como la especie más importante de la acuicultura. Este acontecimiento fue el resultado de brotes de enfermedades en los cultivos (FAO, 2006).

De acuerdo con De Silva (2001), las especies dominantes del camarón en América Latina son el camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) y el camarón azul (*L*

stylirostris). En el Pacífico mexicano son ocho las especies de camarón de importancia comercial y de ellas cuatro constituyen más del 90% de la captura total (*Farfantepenaeus californiensis*, *F. brevirostris*, *Litopenaeus stylirostris* y *L. vannamei*) (Álvarez, 1999).

En México la producción de camarón destaca del resto de las especies cultivadas en el nivel comercial por su volumen, el cual se ha mantenido en crecimiento constante alcanzando una producción máxima de 15,867 toneladas en 1995 y una ligera baja en 1996 con 13,315 toneladas derivada de las enfermedades y problemas sanitarios en los cultivos (Álvarez, 1999) y por su valor que en 1998 fue de 1,190 millones de pesos lo que significó alrededor del 60% del valor de la producción total por acuicultura comercial (Ramírez-Martínez y Sánchez, 1998).

La extensión del cultivo de camarón a nivel mundial, ha causado enormes preocupaciones ecológicas en la comunidad internacional, que se ha convertido en un factor limitante para la extensión de la industria del camarón en América Latina. Algunas de estas observaciones ecológicas son la destrucción del mangle, contaminación y eutrofización de las zonas costeras, el desplazamiento de poblaciones de camarón silvestre o nativo, la longitud de los períodos de cultivo, el aumento de la salinidad en regiones agrícolas y la degradación de las fuentes de agua subterránea (De Silva, 2001). Todo esto asociado a la carencia de conocimiento tanto ecológico como biológico, puede derivar en el derrumbe de la producción y la pérdida de sustentabilidad.

La extensión del cultivo de camarón a nivel mundial, ha causado enormes preocupaciones ecológicas en la comunidad internacional, que se ha convertido en un factor limitante para la extensión de la industria del camarón en América Latina. Algunas de estas observaciones ecológicas son la destrucción del mangle, contaminación y eutrofización de las zonas costeras, el desplazamiento de poblaciones de camarón silvestre o nativo, la longitud de los períodos de cultivo, el aumento de la salinidad en regiones agrícolas y la degradación de las fuentes de agua subterránea (De Silva, 2001). Todo esto asociado a la carencia de conocimiento tanto ecológico como biológico, puede derivar en el derrumbe de la producción y la pérdida de sustentabilidad.

Debido a la importancia comercial del camarón a nivel mundial, se requiere contar con bases cuantitativas sólidas para optimizar su manejo a través de un conocimiento más amplio de los procesos fisiológicos, como alimentación, ingestión, excreción, respiración y muda, cuya expresión final es el crecimiento de los organismos. Asimismo, es importante conocer la influencia de factores ambientales (temperatura, luz, fotoperiodo, concentración de oxígeno, pH, y salinidad) e internos (etapa de desarrollo del organismo y la especie), que influyen en esta expresión. Estos datos pueden sintetizarse en modelos matemáticos de crecimiento individual, herramientas que puede ser usada para optimizar las condiciones de cultivo del proceso productivo. Económica y socialmente, el impacto de estos modelos puede tener mucha trascendencia considerando que el sector privado, principalmente de pequeña y mediana escala, ha desempeñado un papel determinante en el desarrollo del cultivo del camarón en América Latina, más que las compañías que tienen acceso al capital privado y público (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2001). Asimismo, será posible detectar posibles aspectos no considerados en los flujos energéticos de los procesos que generarán futuras investigaciones.

El uso de modelos de crecimiento individual, que involucran procesos fisiológicos es una contribución importante para el desarrollo de la acuicultura, considerando las actuales tendencias regionales de la producción global. Pueden proporcionar estimaciones del crecimiento de los organismos condicionadas por diferentes factores en función de que la acuicultura se encuentra en continúa intensificación y diversificación, utilizando nuevas especies y modificando sus sistemas y prácticas de producción. La simulación del crecimiento individual puede ser utilizada también para estudiar la dinámica de la población con el desarrollo de modelos que pueden predecir el crecimiento de la población y de la biomasa en un ecosistema dado (Franco, 2005). Los modelos poblacionales incorporan la información individual aleatorizando algunos parámetros que permiten obtener una aproximación relativamente fina del crecimiento poblacional.

Los modelos que se han desarrollado para simular el crecimiento de los crustáceos en general se han enfrentado al problema del carácter discontinuo de esta respuesta (García,

1988), puesto que para crecer y aumentar en tamaño, los crustáceos deben sustituir periódicamente su exoesqueleto protector por medio de un proceso llamado muda, que está bajo control hormonal a través de la 20-hidroxiecdisterona, la hormona promotora de la muda en crustáceos. El ciclo de la muda es un proceso definido por cambios conductuales, nutricionales, fisiológicos y bioquímicos que experimenta el organismo en cada estadio.

Este documento está estructurado en tres capítulos. En el primero, se estudia el efecto de la temperatura en el proceso fisiológico de muda, aportando datos sobre la influencia de este factor en la frecuencia de muda y ganancia en peso en un ciclo de muda completo. Se presenta información sobre la cantidad de agua que el organismo absorbe durante la muda y la relación alométrica de este proceso fisiológico. Finalmente, se presenta la evidencia experimental del tiempo en que los camarones reducen su consumo de alimento en pre y post-muda.

En el segundo capítulo, se analizan los cambios en el ciclo de muda de algunos metabolitos sanguíneos en la hemolinfa, relacionados con el metabolismo energético del camarón y del glucógeno como una de las reservas del hepatopáncreas. Esta información, se relaciona con aspectos fisiológicos de la muda como la absorción de agua.

En el tercer capítulo, se sintetiza la información experimental obtenida y se integra a la propuesta del modelo conceptual del crecimiento individual de camarón, en el sub-módulo de muda.

El objetivo general de este trabajo es generar información cuantitativa que permita desarrollar un modelo matemático que describa el proceso de muda para integrar esta información a un modelo general de crecimiento individual utilizando como modelo experimental al camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*.

CAPITULO I.- PROCESOS FISIOLÓGICOS INVOLUCRADOS EN LA MUDA

En este capítulo se estudia el proceso de muda desde un punto de vista fisiológico y se aporta información sobre los factores externos, principalmente la temperatura, que regulan este proceso. Se obtiene información experimental que lleva a establecer la relación alométrica del proceso de absorción de agua, proceso fisiológico que se lleva a cabo en el organismo durante el evento de la muda y del tiempo en que los camarones reducen su consumo de alimento antes y después de mudar.

1.1. HIPÓTESIS

Hipótesis 1

La temperatura, como factor ambiental controlador, regula los procesos metabólicos que se llevan a cabo en organismos ectotérmicos como es el caso del camarón *L. vannamei*. De tal manera que, dentro su *preferendum* térmico (que incluye la temperatura óptima de crecimiento), se espera que a mayor temperatura aumente la frecuencia de muda y se incremente la acumulación de la biomasa en intermuda, dando como respuesta final la promoción del crecimiento de los camarones.

Hipótesis 2

El patrón típico de crecimiento de los camarones peneidos está caracterizado por un aumento rápido de peso durante las etapas tempranas de vida. Esta velocidad disminuye en la edad adulta donde alcanza un comportamiento asintótico. Así, si la cantidad de agua absorbida durante la premuda tardía y la postmuda temprana determina el máximo crecimiento potencial que el camarón tendrá en la siguiente intermuda cuando el agua sea sustituida por biomasa. La proporción de agua absorbida respecto a su peso corporal, será mayor en camarones de tallas pequeñas que en organismos adultos.

Hipótesis 3

Las estructuras digestivas del camarón como la boca, esófago y parte del estómago tienen una membrana quitinosa que está conectada con el exoesqueleto, que cuando se acerca el momento de la ecdisis e inicia el desprendimiento paulatino de la cutícula, comprometen las funciones normales de prensión, tránsito y molienda del alimento al perder rigidez. El

restablecimiento de estas funciones dependerá del tiempo en que estas estructuras se calcifiquen, que en la fase adulta será mayor, debido a que en esta etapa de desarrollo aumenta la cantidad de calcio en la cutícula. De esta manera, el periodo de tiempo en que *Litopenaeus vannamei* reduce el consumo de alimento pre y post muda y la magnitud de esta reducción será menor en organismos juveniles que en adultos.

1.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Cuantificar el efecto de la temperatura en la frecuencia de muda, en el peso ganado en intermuda y en la relación entre el peso del organismo y la duración del ciclo de la muda
- Determinar la cantidad de agua absorbida durante la muda y describir su relación con el peso del camarón en términos de la biomasa
- Determinar el tiempo que los camarones reducen su consumo de alimento antes y después de la muda

1.3 ANTECEDENTES

1.3.1 Biología del camarón Blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*

Los camarones peneidos, en condiciones naturales, tienen preferencia por aguas marinas en su vida de adulto y por aguas estuarinas desde postlarva hasta juvenil (Figura 1.1). En climas templados los camarones migran fuera de los estuarios durante la fría estación invernal y alcanzan la madurez sexual fuera de la costa e inician el ciclo completo otra vez. En climas tropicales los camarones se pueden asociar con estuarios a lo largo de todo el año, solamente se desplazan fuera de la costa para madurar y desovar. En vida silvestre puede alcanzar una talla de hasta 230 mm de longitud (Fernández *et al.*, 1998).

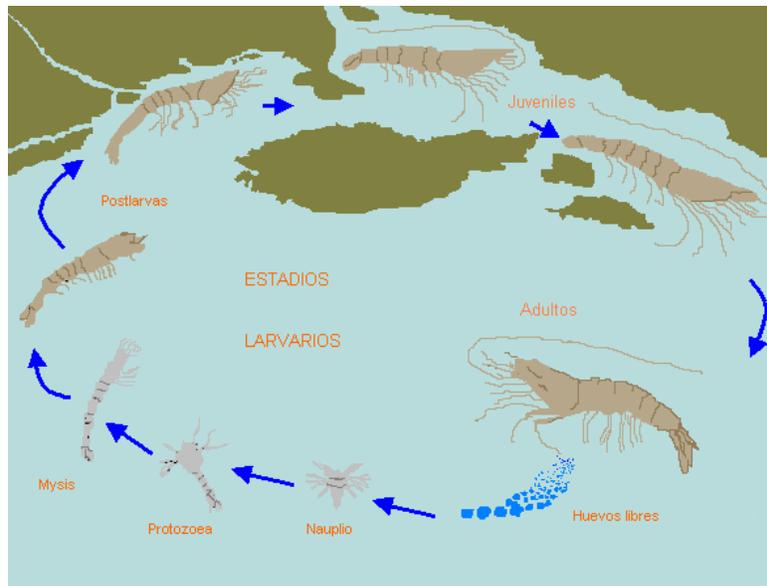


Figura 1.1.- Ciclo de vida de los camarones peneidos silvestres, según Hendricks 2001.

Se reproducen sexualmente, la diferencia morfológica entre machos y hembras no es evidente, sin embargo las hembras pueden alcanzar un tamaño mayor que los machos. El apareamiento y desove usualmente ocurre frente a las costas, donde los huevos son liberados directamente al mar. Los huevos eclosionan dentro de las 18 a las 24 horas a una temperatura de 28° C. Las larvas de camarón pasan por 5 estadios naupliares, tres estadios de protozoa y tres estadios de mysis antes de llegar al estadio postlarval. Pueden tomar de 10 a 18 días para llegar al estadio de postlarva dependiendo de la temperatura y la cantidad y calidad de alimento.



Figura 1.2.- Camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*

El camarón blanco del pacífico, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) (Crustacea, Decapoda, Peneida) (Figura 1.2), se distribuye en la costa este del océano Pacífico, desde Sonora en el Noroeste de México hasta Tumbes en el norte de Perú (Figura 1.3).



Figura 1.3.- Distribución geográfica de *L. vannamei* (Dore y Frimodt, 1987)

Este camarón marino prefiere fondos lodosos, en aguas costeras desde la orilla de la playa hasta profundidades de 72 metros (Dore y Frimodt, 1987). En condiciones naturales, las hembras pueden alcanzar 220 mm de longitud, mientras que los machos alcanzan tallas de

180 mm (Chávez, 1973). Esta especie tiene preferencia por las aguas marinas en su vida de adulto y por aguas estuarinas desde postlarva hasta juvenil (Fernández *et al.*, 1998).

L. vannamei es capaz de tolerar un intervalo amplio de temperatura, sin embargo las tasas más altas de crecimiento ocurren entre los 26 y los 32° C con un óptimo a los 29° C (Fenucci, 1988). Aunque esta especie puede tolerar temperaturas por debajo de los 15° C y por encima de los 33° C, pueden reducir su tasa de crecimiento bajo estas condiciones. Ponce-Palafox *et al.* (1997) obtuvieron el mejor crecimiento en los juveniles de esta especie entre las temperaturas de 25 y 35° C. La temperatura también tiene un efecto en la supervivencia de los organismos y en éste mismo experimento se obtuvo la mayor supervivencia entre las temperaturas de 20 y 30° C.

Wyban y Sweeny (1991), reportaron que esta especie es capaz de tolerar un gran intervalo de temperaturas, creciendo mejor entre los 23-30 °C, con un crecimiento óptimo a los 30 °C para los camarones de 1 g y de 27 °C para los de 12-18 g. Aunque *L. vannamei* tolera temperaturas por debajo de los 15 °C y por encima de los 33 °C, bajo estas condiciones reducen su tasa de crecimiento. En general, esta especie se distribuye donde la temperatura del agua está por encima de 20 °C durante todo el año (Wyban y Sweeny, 1991; Rosenberry, 2002).

Esta especie también tolera un gran intervalo de salinidades, puede sobrevivir entre los 0.5 y 45 ‰ pero su crecimiento es óptimo a salinidades alrededor de los 10-15 ‰ donde el medio interno es isosmótico en relación al ambiente (Wyban y Sweeny, 1991). Ponce-Palafox *et al.* (1997) encontraron poca diferencia en el crecimiento a salinidades de 20, 30, 35, 40 y 50 ‰. La supervivencia de juveniles de *L. vannamei* fue mayor a salinidades cercanas a 20‰.

En la costa del Pacífico mexicano, *L. vannamei* comparte su distribución con 3 especies de camarones peneidos: *Farfantepenaeus californiensis*, *F. brevirostris* y *L. stylirostris*, todos de importancia comercial. Cohabita principalmente con *L. stylirostris*, ya que al igual que

L. vannamei los juveniles prefieren lagunas y aguas salobres, mientras que las otras especies se encuentran en condiciones marinas en todos sus estadios (Edwards, 1977).

1.3.2 Taxonomía

Los peneidos incluyen dos superfamilias, los Penaeoidea (familias Aristeidae, Benthescymidae, Penaeidae, Sicyoniidae y Solenoceridae), y la Sergestoidea (familias Luciferidae y Sergestidae). La familia Penaeidae tiene 26 géneros, incluido *Litopenaeus*. En 1997, el subgénero *Litopenaeus* fue elevado a la categoría de género junto con otros 4 subgéneros (Pérez-Farfante y Kensley, 1997).

La posición taxonómica de *L. vannamei* es la siguiente:

Phylum: Artropoda

Subphylum: Crustacea

Clase: Malacostraca

Subclase: Eumalacostraca

Superorden: Eucarida

Orden: Decapoda

Suborden: Dendrobranchiata

Superfamilia: Penaeoidea

Familia: Penaeidae

Género: *Litopenaeus*

Especie: *L. vannamei* (Boone, 1931)

La morfología de las estructuras reproductivas tanto internas como externas, juega un papel fundamental en la interpretación de la sistemática de los Dendrobranchiata. Estos aspectos de la biología del grupo reciben considerable atención, dado el papel central de la reproducción en el conocimiento de la fecundidad, historia de vida y explotación del grupo (Pérez-Farfante y Kensley, 1997). La importancia del télico (cerrado o abierto) en los sucesos evolutivos de este grupo impone poner particular atención a las características que se encuentran en la morfología reproductiva. Los espermátóforos tienen un patrón básico

para cada género y pueden exhibir variaciones entre especies congénicas, como en las especies de *Litopenaeus* (Pérez-Farfante, 1975).

1.3.3 Ciclo de muda

Dentro de los procesos fisiológicos más importantes involucrados en el crecimiento de los camarones está la muda (Franco *et al.*, 2006, de Oliveira *et al.*, 2006). Este proceso está relacionado con la mayoría de los sistemas que controlan los procesos metabólicos y reproductivos del camarón (Passano, 1960; Kuo y Lin, 1996) y representa para los crustáceos la posibilidad de llevar a cabo los procesos normales de crecimiento. Cada ciclo de muda termina con la eliminación del viejo exoesqueleto que es liberado rápidamente y se produce una nueva capa quitinosa que paulatinamente se endurece mediante la absorción de minerales y proteínas, hasta adquirir la consistencia y dureza del exoesqueleto anterior (Chang, 1992). Esto ocurre en forma cíclica cada vez que el organismo está preparado para aumentar de talla y peso (Skinner, 1985).

Tanto antes como después de la ecdisis, suceso definido por Passano (1960) como el desprendimiento de la exuvia, ocurren los mayores eventos metabólicos específicamente asociados con el crecimiento. El cuerpo del camarón absorbe agua y se favorece la división celular, provocando el incremento de volumen y peso del animal (Van Wormhoudt y Bellon-Humbert, 1996). En la langosta *Panulirus longipes* el porcentaje de agua en el cuerpo se incrementa unas horas antes de la muda y es máximo durante la ecdisis. La cantidad de agua absorbida se correlaciona directamente con el peso ganado durante un ciclo de muda (Dall y Smith 1978). En los camarones, el agua absorbida antes de la ecdisis se acumula en las branquias y en los intestinos (Renaud, 1949, Charmantier, 1985). El catabolismo neto de los tejidos ocurre en los periodos de intermuda, donde se lleva a cabo la sustitución de agua por tejido y el aumento en biomasa. Cheng *et al.* (2002) estudiaron las concentraciones osmóticas e iónicas de proteínas en la hemolinfa en relación al sexo, tamaño y estadio de muda. Revelaron que los niveles iónicos en la hemolinfa eran más bajos durante la postmuda y más altos en la intermuda y la postmuda temprana

posiblemente debido a la entrada súbita de agua que ocurre en la muda (de Oliveira *et al.*, 2006).

Los estadios de la premuda tardía y postmuda, son caracterizados por una reducción en el consumo de alimento (Dall, 1986 y Chan *et al.*, 1988). Durante estos periodos, los nutrientes acumulados en el hepatopáncreas son utilizados de forma eficiente. A la conducta cíclica de no alimentación se le denomina “ayuno fisiológico” y se sugiere que se debe al hecho de que en el proceso de despojarse de exoesqueleto, algunas estructuras como la boca, el esófago y parte del estómago dejan de ser funcionales. Estos órganos poseen una capa de quitina que es continuación de las capas externas del exoesqueleto, que en el momento de la muda se desprende junto con el antiguo sistema digestivo impidiendo que se sigan realizando las funciones normales de prensión, tránsito y molienda del alimento (Ceccaldi, 1997). De hecho las branquias quedan inutilizadas por esta causa y el camarón no volverá a respirar normalmente hasta que éstas vuelvan a adquirir la rigidez necesaria. Debido a que el desprendimiento de las capas quitinosas del sistema digestivo comienza durante la premuda final, el animal no puede comer desde este momento y comienza a utilizar las grasas y azúcares que tiene de reserva para poder llevar con éxito las etapas subsecuentes de la muda así como la construcción del nuevo exoesqueleto. Después de la muda, las estructuras digestivas reblandecidas no serán funcionales hasta varias horas después (Fernández-Luna, 1998; Vega-Villasante *et al.*, 1999). En *Penaeus esculentus* se encontró que el 70% de los camarones no se alimentan la noche en que ocurre el desprendimiento del exoesqueleto (Wassenberg y Hill, 1984). La muda se ha estudiado como parámetro fundamental para el cálculo de la ración diaria de alimento en un estanque considerando que los crustáceos modifican su comportamiento alimentario en función de este proceso (Vega-Villasante *et al.*, 2000).

Estudios realizados sobre el comportamiento de los camarones indican que existe una relación entre la periodicidad de las fases lunares y el proceso del ciclo de muda (Dall *et al.*, 1990, Robertson *et al.*, 1987). Ésta posible relación tiene importancia en el manejo de sistemas de cultivo de camarón. Molina *et al.* (2000) evaluaron el efecto del ritmo circadiano y el ciclo de muda sobre la actividad enzimática y su relación con el crecimiento

y conversión alimenticia bajo condiciones experimentales. Los resultados muestran una sincronización de la muda con el ciclo lunar, encontrándose en cuarto menguante aproximadamente el 50% de la población de camarones mudados, alcanzando el pico máximo en luna nueva (80%) que corresponde a los primeros días de marea baja y alta.

El estudio del ciclo de muda en los crustáceos se ha enfocado principalmente en aspectos biológicos y las características particulares de cada especie durante este fenómeno, desde el punto de vista endócrino básico y aplicado al estudio del efecto de hormonas exógenas sobre este fenómeno (Hagerman, 1983, Harpaz *et al.*, 1987, Dittel, 1993), demostrando que la muda está relacionada directamente con aspectos de *madurez* de los organismos y por lo tanto reproductivos (Amestoy, 1983).

La duración del ciclo de la muda varía dependiendo de la edad, talla y especie. Los organismos en tallas pequeñas tienen una tasa de crecimiento alta con ciclos de muda cortos y conforme aumentan en tamaño su tasa de crecimiento por unidad de biomasa decrece. Este proceso tiene influencia en la morfología, fisiología y comportamiento de estos animales (Bureau *et al.*, 2000; Vega-Villasante *et al.*, 2000).

En el proceso de crecimiento, los crustáceos decápodos experimentan un estado dinámico y continuo de atrofia y restauración proteica del músculo para facilitar la liberación del caparazón durante el evento de muda. El equilibrio entre estos procesos metabólicos que están en conflicto, determina en última instancia el crecimiento total del animal (Koenders *et al.*, 2002). Como la mayoría de los otros crustáceos, el crecimiento del camarón depende de la capacidad de restauración del músculo después de la muda. De Oliveira *et al.* (2006), usando un método modificado de determinación setal de las etapas de la muda, analizaron los cambios bioquímicos y celulares de los músculos abdominales de *L. vannamei* en un ciclo completo de muda, encontrando que la fibra del músculo cambia a lo largo del ciclo de muda, especialmente en las etapas del pre y postmuda. La acumulación abdominal del músculo ocurre sobre todo durante la etapa del intermuda así como un aumento en el tamaño de la fibra. Los cambios morfológicos en el músculo abdominal se asociaron a cada etapa de la muda.

1.3.3.1 Estadios de muda

De acuerdo a la clásica clasificación de los estadios de muda realizada por Drach (1939), el ciclo de muda se subdivide en 5 estadios, basado en la dureza de regiones específicas del exoesqueleto del cangrejo de tierra *Gecarcinus lateralis*. Drach y Tchernigovtzeff (1967) definieron en el camarón *Palaemon serratus* cinco estadios principales del ciclo de muda, los cuales también se encuentran en el resto de los crustáceos (A, B, C, D y E) con varias subdivisiones. A y B son estadios posteriores a la muda, C es la fase de intermuda, D es la fase de premuda y E, la muda o ecdisis, cuando el animal se desprende del exoesqueleto completamente. Aquacop *et al.* (1975), proponen una modificación en las subdivisiones de la premuda para el camarón *Penaeus merguensis* (Natantia Penaeidae) y de igual manera proponen 5 estadios con las siguientes agrupaciones: Postmuda (A, B₁, B₂), Intermuda (C), Premuda (D₀, D₁' , D₁" , D₁"", D₂) y Ecdisis (E).

Estadio A.- Se caracteriza por la consistencia de la cutícula y por el aspecto de la epidermis con respecto a las bases setales. Este estadio empieza después del desprendimiento de la vieja cutícula del camarón (muda). Los conos setales empiezan a formarse y la bases setales están llenas con la epidermis, la cual puede notarse transparente, y presenta poca pigmentación.

Estadio B.- El exoesqueleto empieza a adquirir rigidez debido a los depósitos de calcio. Empieza la secreción de la endocutícula, la cual se completa en la intermuda (Chan *et al.*, 1988; Dall *et al.*, 1990). La formación de los conos setales continúa (Smith y Dall 1985; Chan *et al.*, 1988).

Estadio C.- La textura dura que toma el exoesqueleto se debe a una completa calcificación de éste (Smith y Dall, 1985; Chan *et al.*, 1988). La epidermis llena las bases de las setas y forma una línea a lo largo de las bases setales conocida como la línea epidermal (Stevenson, 1985; Kuo y Lin, 1996), en intermuda se completa la formación de los conos setales. En este estadio la cutícula está absolutamente clara, el material celular es más turgente. Éste es el período de máximo crecimiento somático (Aquacop *et al.*, 1975).

Estadio D₀.- Representa el umbral del período pre-exuvial. Se produce una separación de la epidermis de los lazos cuticulares. La retracción de la epidermis termina cuando se recoge totalmente de las bases setales, formando una línea sinuosa y paralela a los nódulos. Esta retracción se lleva a cabo de dos maneras, según la región, ya sea en el área apical o del borde del urópodo:

Estadio D₁.- El desarrollo de las nuevas setas (setogénesis) es la principal característica de este estadio en el que se pueden apreciar con cierta dificultad las nuevas setas. En algunas especies de crustáceos desde cangrejos, jaibas y peneidos, esta etapa se subdivide en D₁' , D₁'' y D₁''' . Otro proceso que se manifiesta en esta fase es la invaginación de la epidermis, que consiste en la retracción de la epidermis de las bases setales (Smith y Dall, 1985; Chan *et al.*, 1988).

Estadio D₂.- La secreción de la nueva epicutícula se observa en este estadio (Smith y Dall, 1985). Las nuevas setas se observan más formadas, mientras que el exoesqueleto es frágil y blando. Se caracteriza por ser el periodo en el cual se llega al máximo de reabsorción de los componentes que se encuentran en el viejo exoesqueleto. El exoesqueleto se encuentra bastante frágil que puede romperse fácilmente (Smith y Dall, 1985).

Estadio E.- Es un estadio corto en el que se produce la absorción activa de agua que rompe el exoesqueleto debido a la presión que se ejerce y el animal se desprende de su viejo caparazón. Algunos componentes del viejo exoesqueleto se degradan o se reabsorben.

Se han descrito dos tipos de intermuda en los crustáceos, anecdisis y diecdisis. En el primero, la fase de intermuda está definida por ser de periodo largo; en este grupo están incluidos los cangrejos y langostas. La diecdisis, comprende un tiempo corto entre el término de la postmuda y el comienzo de la intermuda; en este grupo están los camarones (Smith y Dall, 1985; Chan *et al.*, 1988, Kuo y Lim, 1996)

Los métodos usados para determinar los estadios de muda son: exploraciones histológicas del integumento, regeneración de los periópodos y la determinación del desarrollo setal (setogénesis) en los apéndices como son los urópodos y pleópodos (Stevenson, 1985; Smith y Dall, 1985; Sandifer y Smith, 1985; Anderson *et al.*, 1985; Chan *et al.*, 1988). La duración de cada estadio y sus subdivisiones dependen de la especie y la edad del organismo.

1.3.4 Factores que afectan el ciclo de muda

Luz y fotoperiodo

Entre los factores externos que afectan la muda están la intensidad de luz y el fotoperiodo. El papel que desempeña la luz es importante en la conducta de los animales, influye en migraciones y en los hábitos alimenticios (Dowling y Motheshill, 1999). Entre el 80 y 90% de los crustáceos mudan durante la noche bajo condiciones de intensidad de luz y fotoperiodo similares a las que se encuentran en la naturaleza (Fowler *et al.*, 1971).

El fotoperiodo y la intensidad de luz afectan el proceso normal de muda. En cangrejos del género *Gecarcinus*, una iluminación constante de aproximadamente 10 lux inhibe por meses el proceso de la muda (Passano, 1960).

Dall (1965) hace referencia que la muda en el camarón *Metapenaeus bennettiae* se inhibió bajo la influencia, tanto de una iluminación constante como de oscuridad constante. Sin embargo, el mismo autor en 1990, no encuentran diferencia en la frecuencia de muda de *P. duorarum* durante las 8 semanas en que los camarones fueron sometidos a condiciones de baja a ligera oscuridad o 12 h luz y 12 h oscuridad.

Temperatura

En los intervalos óptimos en los que se desarrolla una especie, las temperaturas bajas retrasan el proceso de la muda, mientras que temperaturas mayores lo promueven. En general, la temperatura tiene relación directa con el crecimiento, la frecuencia de muda y la reproducción. Crisp y Patel (1958) muestran por primera vez que existe esta relación en cirrípodos sésiles. En *L. anatifera* se observó que mientras los individuos gestan embriones

no mudan, después de que termina el desarrollo embrionario, se liberaran los nauplios y simultáneamente experimentan ecdisis (Patel, 1959).

Patel y Crisp (1960) reportan que las tasas de muda de cuatro especies de balanos operculados (crustáceos), *Chthamalus stellatus* (Poli), *Elminius modestus* Darwin, *Balanus perforatus* Bruguiere y *B. amphitrite* var. *dentriculata* (Broch), son dependientes de la temperatura y de la nutrición. La tasa de muda de especímenes bien alimentados se incrementa de manera lineal. El ritmo de muda sigue un patrón lineal en relación a la temperatura hasta un nivel máximo, por arriba y por debajo del cual la tasa de muda experimenta un descenso.

Temperaturas mayores a las del intervalo óptimo de crecimiento de los crustáceos pueden provocar un efecto inhibitorio del proceso de muda. En *Lepas anatifera* L., al aumentar la temperatura de 10 a 25° C, la tasa de muda se incrementa linealmente, sin embargo a 30° C la tasa de muda decrece y finalmente una temperatura de 34° C resulta ser letal (Patel, 1959).

Fowler *et al.* (1971), estudiaron los efectos de la temperatura en los periodos de intermuda (frecuencia de muda) en crustáceos eufásidos bajo condiciones de laboratorio. Los resultados muestran que los periodos medios de intermuda de *Euphausia pacifica* y *Meganyctiphanes norvegica* están inversa y linealmente relacionados a la temperatura en los intervalos de temperatura en los cuales los eufásidos normalmente se encuentran en el mar.

Choe (1971), en experimentos con *P. japonicus*, determinó que el ciclo de muda varía dependiendo principalmente de la temperatura del agua y del tamaño del camarón. A una temperatura de 25-28° C, *P. japonicus* de 3 a 15 g tiene ciclos de muda de 6 a 15 días, cuando la temperatura del agua es de 20-25° C en camarones de 1.5 a 15 g los ciclos fueron de 7 a 16 días.

En *Panaeus setiferus* (de 17 a 30° C), un aumento en la temperatura favoreció el incremento en la frecuencia de muda (Dall, 1990). En un intervalo entre 25-30° C se observó un mejor crecimiento en los camarones *P. aztecus* y *P. stylirostris* (Rubino *et al.*, 1983).

En el medio natural se determinó la relación entre la variación interanual del crecimiento individual del camarón marrón *Farfantepenaeus californiensis* y la temperatura del agua de mar a lo largo de la costa central del este del Golfo de California. La temperatura fue un factor decisivo en el crecimiento porque controla el índice del metabolismo, que en especies cuyo ciclo de vida es corto, como el camarón, se hace particularmente evidente. La temperatura óptima para el crecimiento de esta especie estaba entre 24.5 y 25.5° C con disminuciones de la eficacia del crecimiento hacia ambos lados de este valor (López-Martínez *et al.*, 2003).

Salinidad

Los cambios de salinidad no tienen efecto directo sobre la frecuencia de la muda. En el cangrejo de agua dulce *Cherax tenuimanus* el efecto de la salinidad, en un intervalo de 0 a 100 mg/l, no fue significativo en el número de mudas observadas (Rouse y Kartamulia, 1992). Estos resultados fueron similares en *P. aztecus* y *P. setiferus* (Hysmith y Colura, 1976).

Oxígeno disuelto

La calidad del agua también es importante en el proceso de muda del camarón. En *Panaeus esculentus*, el consumo de oxígeno a una temperatura de 25° C en varios estadios de muda, incluyendo la ecdisis, muestra que existe un cambio diferencial en el uso de la energía (evaluada como mg de oxígeno \times g en peso húmedo⁻¹ \times día⁻¹). *Cherax tenuimanus* aproximadamente 3 días antes y 1 día completo después de que el organismo ha mudado presentan un incremento en el consumo de oxígeno del 55% (Dall, 1986) por lo que un déficit en la cantidad de oxígeno disuelto provoca el retraso en el ciclo normal de muda. Organismos de *P. semisulcatus* mantenidos en concentraciones de oxígeno de 2 ppm no mudaron en 17 días, sin embargo, en cuanto la concentración aumentó a 5 ppm se presentó

la muda (Clark, 1986). En esta misma especie de camarón, se comprobó que a bajas concentraciones de oxígeno disuelto, el ciclo completo de muda se extendió 3 días más de lo normal (Dall, 1990).

En *Xiphopenaeus kroyeri* se evaluó la respiración rutinaria (r) en organismos juveniles con estadios de muda diferente (C/D₀, A/B, D₁ y D₂). La tasa respiratoria varía a lo largo de un ciclo de muda, con niveles inferiores durante las etapas C/D₀, aumentando en las etapas D₁, D₂, y en la ecdisis y alcanzar los niveles más altos en las etapas A (Carvalho y Phan, 1988).

Factores intrínsecos

La etapa de desarrollo del organismo (edad), la talla y la especie son los principales factores intrínsecos que influyen en la frecuencia de muda de los crustáceos (Franco, 2006). Estudios en varias especies de crustáceos muestran que, en general, existe una relación directa entre el tamaño del individuo y los periodos de intermuda en individuos de la misma especie y sometidos a las mismas condiciones ambientales (Fowler *et al.*, 1971).

Existe una correlación entre el tamaño y la frecuencia de muda, especialmente evidente en especies como *Meganyctiphanes norvegica* y *Nyctiphanes couchii*, que tienen un intervalo amplio de peso. La relación que se reporta es una curva que indica que en individuos que crecen sanos, la frecuencia de muda está relacionada con el crecimiento, es decir, individuos más pequeños, de crecimiento más rápido tienen periodos de intermuda más cortos que individuos de mayor talla (Fowler *et al.*, 1971)

En *L. vannamei* se reportó una alta correlación de la frecuencia de muda con la edad del organismo. Los camarones juveniles de un mes de edad mudaron más rápidamente (4.6 ± 0.5 días/ciclo), a los tres meses de edad el ciclo aumenta a 11.8 ± 1.7 días/ciclo y alcanzan un ciclo de muda largo a los seis meses (17.2 ± 2.7 días/ciclo) (de Oliveira *et al.*, 2006).

1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Para la parametrización del modelo se obtuvo información experimental relacionada con la cantidad de agua absorbida durante el proceso de muda y el número de días en ayuno durante las fases de pre y postmuda. La información obtenida con respecto al efecto de la temperatura en la frecuencia de muda, las relaciones entre la duración del ciclo muda y el peso de los organismos, así como el incremento en peso entre una muda y otra, fue considerada en el modelo, por un lado, para validar las predicciones que éste realizó sobre el tiempo de duración de un ciclo de muda en función del peso y como esto afectó el crecimiento y por otro lado para que en un momento dado se pueda hacer un análisis de sensibilidad con respecto a condiciones ambientales, en este caso con las variaciones de temperatura.

1.4.1 Experimento 1

◆ *Frecuencia de muda*

Para evaluar la variación de respuesta de la frecuencia de muda en función a la temperatura, se llevó a cabo un experimento con un diseño experimental anidado, en el que los organismos se sometieron a 3 temperaturas diferentes (tratamientos) 26, 29 y 32° C, que son los extremos del intervalo de temperatura óptima de crecimiento y el valor medio óptimo (Fenucci, 1988).

Este experimento se realizó en dos partes: la primera se llevó a cabo de noviembre a diciembre de 2005 y se utilizaron camarones PL₅₀ (0.5 g) que eclosionaron a partir del desove de una sola hembra en las instalaciones de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación en Sisal, Yucatán. Para la segunda parte del experimento, que se realizó de marzo a abril de 2006, se utilizaron camarones del mismo desove cuando estos alcanzaron un peso promedio de 6 g. Para ambas fases del experimento se obtuvo el registro de tres ciclos de muda completos. Para la mayoría de los organismos de la primera fase, se incluyeron registros del cuarto ciclo de muda en las tres temperaturas.

Por razones relacionadas con las variaciones de temperatura en el ambiente, los tratamientos de la primera fase del experimento tuvieron que iniciar en diferente fecha. El

tratamiento de los organismos sometidos a la temperatura de 26° C, inició el 24 de octubre, el de los de 29° C el día 31 de octubre y el de los de 32° C el día 8 de noviembre.

Se utilizaron 15 acuarios de 56 cm de largo por 31.5 cm de ancho y una altura de 30 cm, con 12 divisiones cada uno, una de las cuales se utilizó para oxigenar y mezclar el agua y así obtener la temperatura deseada. El sistema experimental se alimentó con agua de mar (36 UPS) con recambios continuos a través de un sistema de flujo abierto. El agua se suministró desde un reservorio principal y antes de llegar a los sistemas experimentales pasó por tanques de 10,000 L, donde se filtró (filtros de 30 µm). Una vez filtrada, se almacenó en tanques cubiertos con un aislante térmico (hule esponja y geomembrana) para evitar flujos de calor y mantener la temperatura del agua. Uno de los tanques tenía un dispositivo de enfriamiento (chiller) marca AZOO y el otro se habilitó con varios calentadores sumergibles. A su vez los acuarios fueron aislados térmicamente de manera individual con placas de unicel y se cubrieron con plástico poliburbuja.

1.4.1.1 Aclimatación

La aclimatación permite que los organismos puedan ajustar sus respuestas fisiológicas a las condiciones experimentales de temperatura. Antes del montaje del experimento, los camarones se aclimataron durante 10 días tanto a la temperatura como al alimento. Se mantuvieron en casetones de 400 L con 100 individuos por temperatura. Todos los organismos fueron alimentados al 10% de su biomasa en peso húmedo con una dieta de 40% de proteína animal, que permite una mayor asimilación y eficacia en la producción (Pascual *et al.*, 2004).

1.4.1.2 Primera fase

Para cada temperatura se utilizaron 5 acuarios con 11 organismos individualmente identificados en cada uno. Por lo tanto, se obtuvieron 55 repeticiones por cada tratamiento. El total de individuos para este experimento fue de 165 (Figura 1.4).

El peso promedio de siembra de los organismos sometidos a la temperatura de 26° C fue de 0.35 ± 0.16 g, para los de la temperatura de 29° C de 0.81 ± 0.32 g y para los de la temperatura de 32° C de 0.49 ± 0.19 g.

1.4.1.3 Segunda fase

El diseño experimental fue el mismo, con la diferencia que sólo se utilizaron 2 acuarios anidados por temperatura. El total de repeticiones por tratamiento fue de 22 organismos y fueron 66 individuos para este experimento.

TEMPERATURA Factor A	ACUARIO Factor B														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
26°C	Y ₁₁₁	Y ₁₂₁	Y ₁₃₁	Y ₁₄₁	Y ₁₅₁										
	Y ₁₁₂	Y ₁₂₂	Y ₁₃₂	Y ₁₄₂	Y ₁₅₂										
	•	•	•	•	•										
	•	•	•	•	•										
	•	•	•	•	•										
	Y ₁₁₁₁	Y ₁₂₁₁	Y ₁₃₁₁	Y ₁₄₁₁	Y ₁₅₁₁										
29°C						Y ₂₁₁	Y ₂₂₁	Y ₂₃₁	Y ₂₄₁	Y ₂₅₁					
						Y ₂₁₂	Y ₂₂₂	Y ₂₃₂	Y ₂₄₁₁	Y ₂₅₂					
						•	•	•	•	•					
						•	•	•	•	•					
						•	•	•	•	•					
						Y ₂₁₁₁	Y ₂₂₁₁	Y ₂₃₁₁	Y ₂₄₁₁	Y ₂₅₁₁					
32°C											Y ₃₁₁	Y ₃₂₁	Y ₃₃₁	Y ₃₄₁	Y ₃₅₁
											Y ₃₁₂	Y ₃₂₂	Y ₃₃₂	Y ₃₄₂	Y ₃₅₂
											•	•	•	•	•
											•	•	•	•	•
											•	•	•	•	•
											Y ₃₁₁₁	Y ₃₂₁₁	Y ₃₃₁₁	Y ₃₄₁₁	Y ₃₅₁₁

Figura 1.4.- Diseño experimental anidado para la primera fase del experimento. Temperaturas (tratamientos), acuarios (anidados en tratamientos), 11 repeticiones por acuario (Primera parte del experimento con organismos PL₅₀)

Al momento de la siembra se registraron los parámetros biométricos de los camarones (Figura 1.5):

- Longitud total (mm)
- Longitud del cefalotórax al rostrum (C-R, mm)
- Longitud del telson (mm)
- Peso (g)

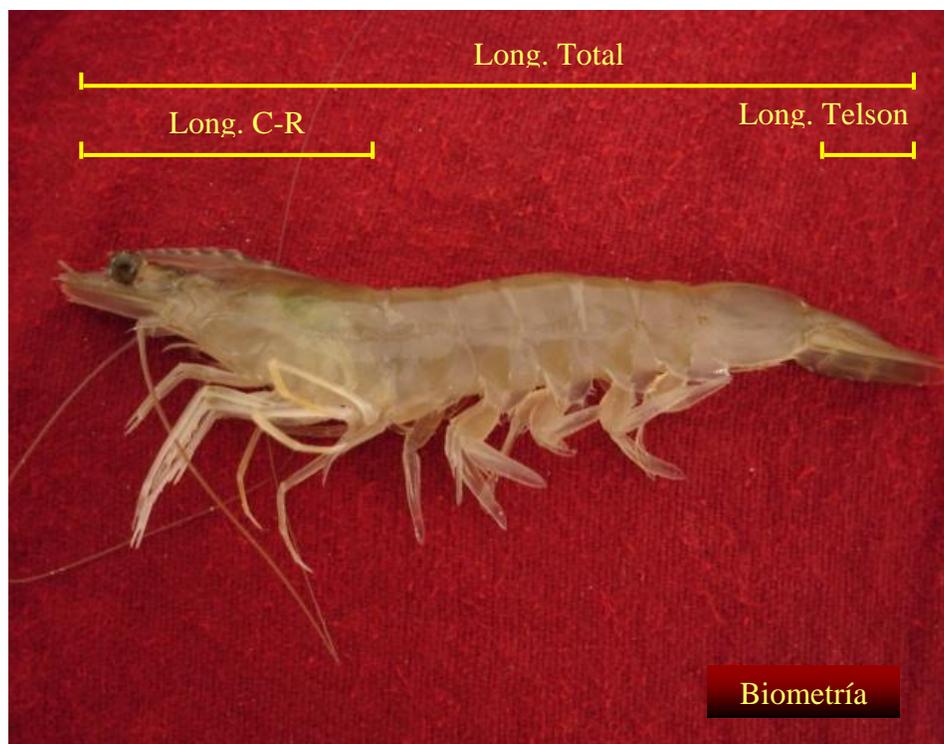


Figura 1.5.-Biometría de un camarón peneido

El registro de las mudas por día se obtuvo mediante la inspección diaria de los 165 compartimentos. Las exuvias encontradas se extrajeron con una manguera de plástico utilizada como sifón y con un colector con malla de 500 μm . La primera muda de cada organismo se tomó como muda cero y, a partir de ésta, se contó el tiempo que transcurre entre esta primera, la segunda y las mudas sucesivas para estimar la duración de los ciclos de muda en días. Se estimó el tiempo que transcurre entre mudas sucesivas hasta 3 ciclos completos de muda o 4 ecdisis. En la primera parte del experimento para la mayoría de los organismos, se obtuvieron cuatro ciclos completos de muda.

Los organismos se midieron y pesaron semanalmente para poder asociar el incremento en peso y talla a la frecuencia de muda.

Para alimentar a los camarones se elaboró una dieta con 40% de proteína animal, conocida como alimento de crecimiento óptimo, bajo la siguiente formulación realizada por la Dra. Gabriela Gaxiola (Tabla 1.1).

Tabla 1.1.- Formulación de la dieta de 40% de proteína animal

INGREDIENTE	%
Harina de Pescado	34.000
Calamar	5.000
Suero de Leche	12.000
CPSP ⁹⁰	4.000
Almidón	20.000
Lecitina	2.000
Aceite de Hígado de Bacalao (ACH BAC)	3.700
Colesterol	0.500
Premix	1.000
Robimix	0.450
Carofila	0.015
Booster	0.500
Alignato	1.000
Relleno	15.825
	100.000

Paralelamente a la primera parte de este experimento se registró la frecuencia de muda en organismos reproductores de 30 a 45 g de peso. Se colocaron 20 camarones de manera individual en acuarios de vidrio de 40 L de capacidad con un sistema de flujo de agua continuo y se registró el tiempo que transcurre entre muda y muda hasta obtener 3 mudas consecutivas, lo que representa 2 ciclos completos de muda. Estos datos complementan los obtenidos por Rodríguez-Pestaña (datos sin publicar) en un trabajo anterior y que amablemente cedió a este proyecto.

1.4.2 Experimento 2

◆ Cantidad de agua bombeada

Para calcular la cantidad de agua bombeada en la post-muda se utilizaron organismos de 3 tallas diferentes (3-5 g, 8-11 g y de 20-30 g). Para la primera y segunda talla se obtuvieron 20 datos para cada una y para la tercera 13, dando un total de 53 observaciones. Previo al montaje del experimento los camarones se aclimataron durante 10 días a la temperatura y alimento. La temperatura a la que se llevaron a cabo los experimentos fluctuó entre 28.5 y 29.5° C. Para las dos primeras tallas se utilizaron acuarios de 40 L con 12 divisiones cada uno y a los camarones de la talla mayor se les colocó en acuarios de 40 L por separado.

Los organismos se seleccionaron en función a su estadio de muda, el cual se determinó observando en el microscopio el desarrollo setal de los urópodos, de acuerdo a la clasificación de Aquacop *et al.* (1975), que define 5 estadios de muda de acuerdo a la retracción de epitelio dentro de la seta. Los organismos se clasificaron como A, B₁ y B₂ para estadios de postmuda temprana y tardía respectivamente, C para intermuda, D₀, D₁ (D₁' , D₁'' y D₁''') y D₂ para estadios de premuda.

Para los organismos de 3 a 5 g, la evaluación del estadio de muda se hizo colocando el camarón vivo directamente en el microscopio para observar el urópodo. A los camarones de tallas mayores fue necesario cortarles el urópodo para poder observar el desarrollo setal al microscopio. Los organismos que se encontraban en estadio de premuda tardía (D₁'''' o D₂) se pesaron en una balanza analítica eliminado lo más posible el exceso de agua. Los que mudaron al siguiente día se volvieron a pesar de la misma manera al igual que su exuvia.

La cantidad de agua bombeada en la post-muda se calculó por diferencia de pesos

$$H_2O = P_f - (P_i - P_e)$$

donde H₂O = Cantidad de agua absorbida post-muda,

P_f = Peso húmedo final (post-muda),

P_i = Peso húmedo inicial (pre-muda) y

P_e = Peso húmedo de la exuvia.

1.4.3 Experimento 3

◆ *Consumo de alimento antes y después de la muda*

Para determinar el periodo de ayuno pre y post muda, se evaluó la tasa de ingestión diaria para organismos de 2 tallas diferentes: 20 organismos de 3 a 5 g (juveniles) y 15 organismos de 30 a 50 g (adultos). Los organismos se aclimataron durante un periodo de 10 días.

La selección de los organismos se llevó a cabo mediante la determinación del estadio de muda por desarrollo setal observado en el urópodo de los camarones en el microscopio. Se colocaron organismos en estadio de premuda temprana (D_0) en acuarios individuales de 40 L y se les alimentó 3 veces al día (8, 14 y 20 hrs.). Después de 2 horas de suministrado el alimento se retiró el que no consumieron con una manguera de plástico como sifón y se recolectó en frascos de plástico de 500 mL de capacidad.

Se eliminaron las heces con una micropipeta Pasteur y las muestras de agua con alimento se filtraron con filtros Whatman GF/C de 1.2 μm de abertura de poro y 55 mm de diámetro previamente pesados en una balanza analítica. El filtrado se puso a secar en un horno a 60° C por un lapso de 48 horas. Posteriormente las muestras se pesaron en una balanza analítica para obtener su peso seco.

Con estos datos se calculó la cantidad de alimento ingerido por individuo a partir de la siguiente expresión:

$$A_i = (A_0 - A_1)$$

Donde

A_i = Alimento ingerido

A_0 = peso seco (g) del alimento ofrecido

A_1 = peso seco (g) del alimento recuperado del acuario

Para calcular la cantidad de humedad que pierde el alimento al ser secado en el horno, se pesaron diferentes cantidades de alimento (aproximadamente 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 g) con 5 repeticiones cada una y se colocaron en el horno a 60° C durante 48 hrs. Con estos

valores, se ajustó un modelo de regresión lineal y se ajustaron los valores obtenidos mediante la ecuación que se presenta en la (Figura 1.6).

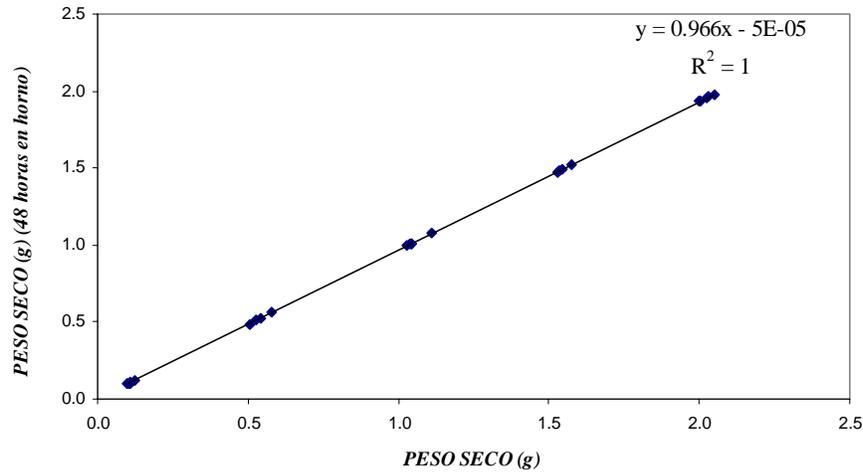


Figura 1.6.- Ajuste por pérdida de humedad del alimento al ser secado al horno, utilizado para *L. vannamei*

Las condiciones de temperatura y salinidad se mantuvieron constantes (28-29° C y 33-35 UPS) durante todo el experimento.

1.4.4 Análisis estadístico

◆ Frecuencia de muda

Las distribuciones de frecuencia de muda por día se suavizaron utilizando una estimación de densidad por kernel gaussiano (Salgado, 2002). Se determinó la periodicidad de los ciclos de muda por medio de un análisis de las series temporales, obteniendo las autocorrelaciones y autocorrelaciones parciales para cada “LAG”, que representa la comparación de los días N con n (N con N+1, N con N+2, etc.). El valor de Q es calculado de acuerdo a la autocorrelación o dependencia de los datos en la serie temporal, que ayuda a identificar las modas. El valor de autocorrelación más alto determina la periodicidad del fenómeno.

La densidad de frecuencia para la duración del ciclo de muda en cada una de las ecdisis se graficó utilizando diagramas de burbujas.

Se estableció la relación de la duración del ciclo de muda en función al peso de los organismos para los datos obtenidos en cada temperatura y en cada evento de muda, mediante una regresión lineal simple. Se utilizó el análisis de covarianza (Zar, 1999) para comparar las pendientes y ordenadas al origen de estas relaciones en las diferentes temperaturas.

Se utilizaron diagramas de cajas múltiples para en análisis de la proporción de ganancia en peso en cada ciclo de muda y para la comparación de las tasas de crecimiento en las diferentes temperaturas.

◆ *Cantidad de agua bombeada*

La relación entre la cantidad de agua bombeada y el peso se analizó utilizando, en primera instancia, diagramas de dispersión. Posteriormente se calculó el porcentaje de agua absorbida en función al peso corporal de los camarones. Estos datos se ajustaron a una ecuación potencial con respecto al peso de los organismos para encontrar el coeficiente alométrico que define este proceso fisiológico, el cual posteriormente fue utilizado en el sub-modelo de muda.

◆ *Consumo de alimento antes y después de la muda*

Los valores de consumo de alimento calculados entre los estadios de premuda temprana y posmuda tardía se graficaron individualmente. Las curvas de consumo de alimento a lo largo del tiempo se suavizaron utilizando medias móviles de 3 puntos. Posteriormente se sacó un promedio de todas las curvas suavizadas y sobre este promedio se estimaron los puntos de inflexión que definieron el momento en que los camarones reducen su consumo de alimento antes de la muda y restablecen dicho consumo después de la muda.

Se calculó el error estándar para determinar la variación en cada punto registrado de consumo de alimento para todos los organismos y se graficó sobre el promedio.

1.5 RESULTADOS

Frecuencia de muda

La frecuencia de organismos mudados por día de experimento se muestra en la Figura 1.7. En los histogramas se observa que existe sincronía en la muda de los camarones. Una gran proporción de los individuos mudan al mismo tiempo o por lo menos en el mismo día. Se define una distribución multimodal, en la que la distancia entre las modas representa la periodicidad del ciclo de muda para cada temperatura.

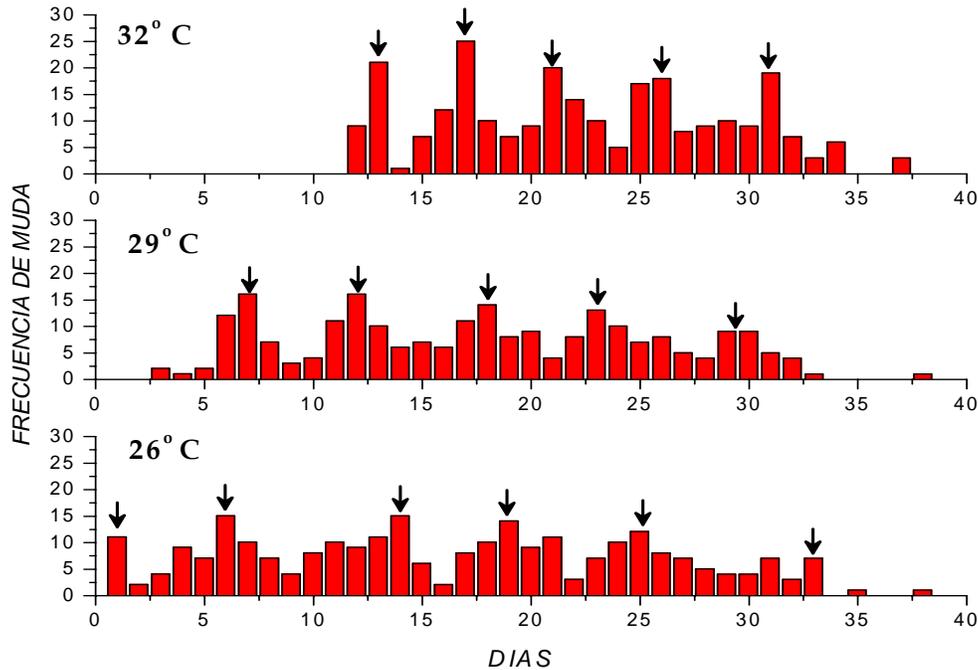
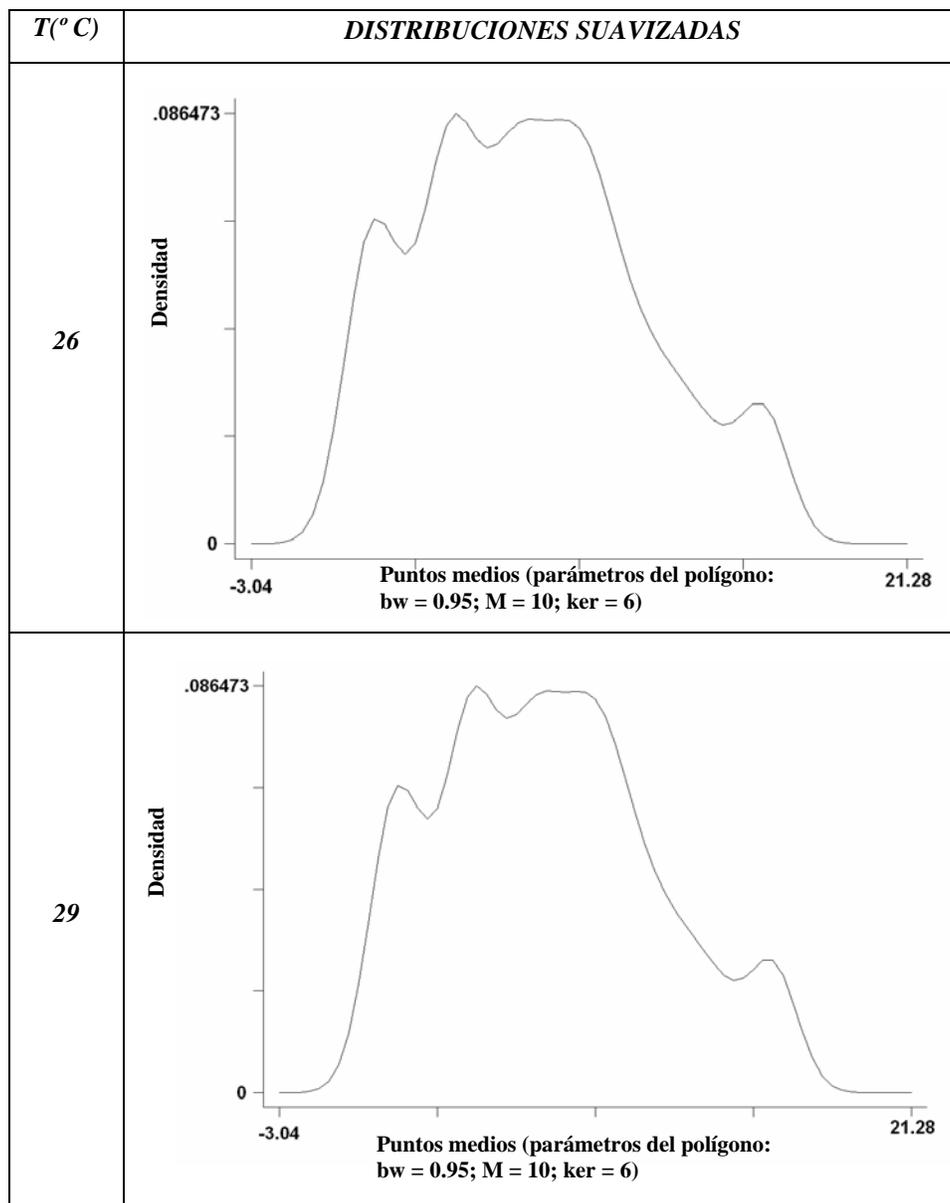


Figura 1.7.- Histogramas de frecuencia de los organismos de *L. vannamei*, mudados por día de experimento (Primera parte del experimento que corresponde a los organismos de 0.5 g de peso inicial promedio). Las flechas señalan las modas.

Para la temperatura de 26° C se obtiene aproximadamente una distancia de 6 a 7 días, en la de 29° C de 5 a 6 y en la de 32° C de 4 días. Esta periodicidad en los ciclos de muda se refrendó mediante la suavización de las distribuciones utilizando una estimación de densidad por kernels (kernel gaussiano), la cual proporciona varias formas para probar y evaluar la multimodalidad (Salgado, 2002).

La Figura 1.8 muestra la distribución suavizada para las distribuciones de frecuencia de todas las temperaturas de camarones mudados por día utilizando una amplitud de banda óptima Gaussiana de Silverman (Salgado, 2002).

Para los datos de la segunda parte del experimento (6 a 12 g) no se realizó este análisis debido a que no se logró reunir un número mínimo de observaciones (50) para todas las series temporales.



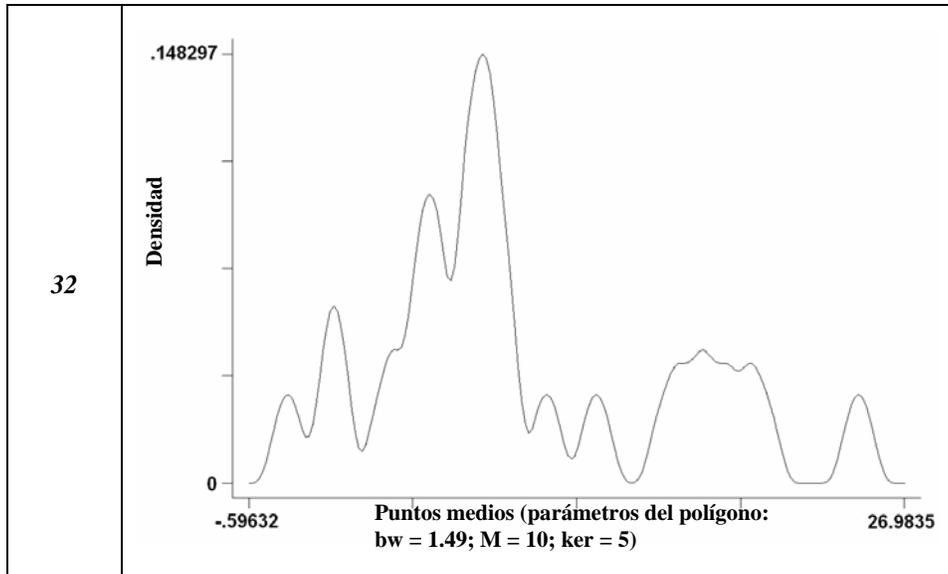


Figura 1.8.- Distribuciones suavizadas para la estimación de densidad por kernel Gaussiano con amplitud de banda optima $h = 1.3$, número de histogramas desplazados $M=10$ y kernel=6 (gaussiano) para la frecuencia de organismos mudados por día para las 3 temperaturas (Primera parte del experimento que corresponde a los organismos de 0.5 g de peso inicial promedio).

La periodicidad del ciclo de muda también se determinó por el valor de autocorrelación más alto en la serie de tiempo (Tabla 1.2), que de acuerdo a los resultados obtenidos corresponde a 6 días para la temperatura de 26° C, de 5 días para la de 29° C y de 4 para la de 32° C.

Tabla 1.2.- Resultados de autocorrelación y autocorrelación parcial para cada LAG ($N+n$) del análisis de la serie temporal para las 3 temperaturas (Primera parte del experimento que corresponde a los organismos de 0.5 g de peso inicial promedio)

$T (^{\circ}C)$	LAG	Autocorr	Autocorr parcial	ValorQ	Prob>Q
	26	1	0.2024	0.2378	1.561
2		-0.0664	-0.1995	1.734	0.4203
3		-0.0747	-0.2627	1.959	0.5809
4		-0.1242	-0.0822	2.604	0.6261
5		0.1147	0.0062	3.172	0.6735
6		0.3835	0.3468	9.739	0.1361
7		0.3341	0.4601	14.902	0.0373
8		0.0593	0.1892	15.071	0.0578
9		-0.1980	-0.1051	17.024	0.0483
10		-0.1666	0.2139	18.462	0.0477
11		-0.1295	-0.3658	19.366	0.0548
12		0.0052	-0.6881	19.368	0.0800
13		0.2475	0.0545	22.975	0.0420
14		0.0237	0.4058	23.010	0.0601
15		-0.1015	-0.1545	23.676	0.0708

	LAG	Autocorr	Autocorr parcial	ValorQ	Prob>Q
	29	1	0.3622	0.4168	4.605
2		-0.2701	-0.5665	7.251	0.0266
3		-0.3964	-0.1962	13.147	0.0043
4		-0.0027	-0.0855	13.148	0.0106
5		0.4774	0.6416	22.331	0.0005
6		0.4572	0.2187	31.078	0.0000
7		-0.0332	0.0005	31.126	0.0001
8		-0.3085	-0.0636	35.440	0.0000
9		-0.2950	-0.3574	39.557	0.0000
10		-0.0479	-0.3222	39.671	0.0000
11		0.2814	-0.0720	43.774	0.0000
12		0.2169	-0.1175	46.332	0.0000
13		-0.1488	-0.2680	47.601	0.0000
14		-0.3430	0.5839	54.711	0.0000
	LAG	Autocorr	Autocorr parcial	ValorQ	Prob>Q
	32	1	-0.0415	-0.0529	0.047
2		-0.3183	-0.4480	2.921	0.2322
3		-0.1958	-0.5652	4.060	0.2551
4		0.4531	0.2626	10.464	0.0333
5		0.1716	0.1119	11.431	0.0435
6		-0.0516	0.4642	11.523	0.0735
7		-0.3885	-0.2042	17.063	0.0170
8		0.1017	-0.1093	17.467	0.0256
9		0.2403	-0.7269	19.870	0.0187
10		0.0413	0.1397	19.946	0.0298

El total de mudas registradas por temperatura a lo largo del experimento, independientemente del día de registro, del individuo y del ciclo de muda, se resumen en las tablas 1.3 y 1.4, para organismos de 0.5 a 3.0 g y de 6 a 12 g respectivamente.

Tabla 1.3.- Resumen de las mudas colectadas de organismos de *L. vannamei* de 0.5 a 3.0 g para las diferentes temperaturas (Primera parte del experimento que corresponde a los organismos de 0.5 g de peso inicial promedio).

	TEMPERATURA (° C)		
	26	29	32
Número de Mudass	208	196	210
Días de experimento	37	30	25
Promedio de días del ciclo de muda	6.28	5.57	4.41
Desviación estándar días del ciclo de muda	0.9737	0.9222	0.8212
Duración del ciclo de muda menos frecuente (días)	9	3	2
Frecuencia del ciclo de muda menos frecuente	1	1	2
Moda: duración del ciclo más frecuente (días)	6	5	4
Frecuencia del ciclo del ciclo más frecuente	71	70	85

Para los organismos de 0.5-3.0 g (Tabla 1.3), la media y la moda de la duración del ciclo de muda coinciden en definir que existe una tendencia de los organismos a mudar más frecuentemente conforme aumenta la temperatura.

Tabla 1.4.- Resumen de las mudas colectadas de organismos de *L. vannamei* de 6 a 12 g para las diferentes temperaturas (Segunda parte del experimento que corresponde a los organismos de 6 g de peso inicial promedio)

	TEMPERATURA (° C)		
	26	29	32
Número de Mudas	57	66	57
Días de experimento	38	38	38
Promedio de días del ciclo de muda	9.26	8.61	7.60
Desviación estándar días del ciclo de muda	1.0093	0.8015	0.7285
Duración del ciclo de muda menos frecuente (días)	7	7	6 Y 9
Frecuencia del ciclo de muda menos frecuente	1	5	4
Moda: duración del ciclo más frecuente (días)	9	9	8
Frecuencia del ciclo del ciclo más frecuente	20	29	30

Para los organismos de 6 a 12 g (Tabla 1.4), la tendencia general de disminución en la duración del ciclo de muda en función al aumento en la temperatura se conserva en el promedio, aunque para la moda este efecto es menos contundente para las temperaturas de 26 y 29° C.

Los valores descritos por evento de muda se presentan gráficamente en las Figuras 1.9 y 1.10, donde el tamaño y la intensidad del color en las esferas representan la densidad de frecuencia para una determinada duración del ciclo de muda.

En la Figura 1.9, a una temperatura de 26° C, la esfera más grande y de color más intenso se ubica a los 6 días, mientras que a 29° C las esferas con estas características se encuentran entre los 5 y 6 días y finalmente a 32° C entre 4 y 5 días. Nuevamente se presenta el patrón de relación inversa entre la temperatura y la duración del ciclo de muda.

La distribución de la frecuencia por muda muestra la dispersión en la duración del ciclo de muda por temperatura, así a los 26° C encontramos organismos que tienen ciclos desde 4 hasta 9 días, mientras que a los 29° C la variación va de 4 a 7 días y para 32° C 3 a 6 días.

En organismos de talla de 6-8 g, la mayor frecuencia de ocurrencia de duración del ciclo de muda a los 26° C está entre los 9 y 10 días, para los 29° C entre 8 y 9 días y finalmente a 32° C a los 8 días como lo muestra la Figura 1.10.

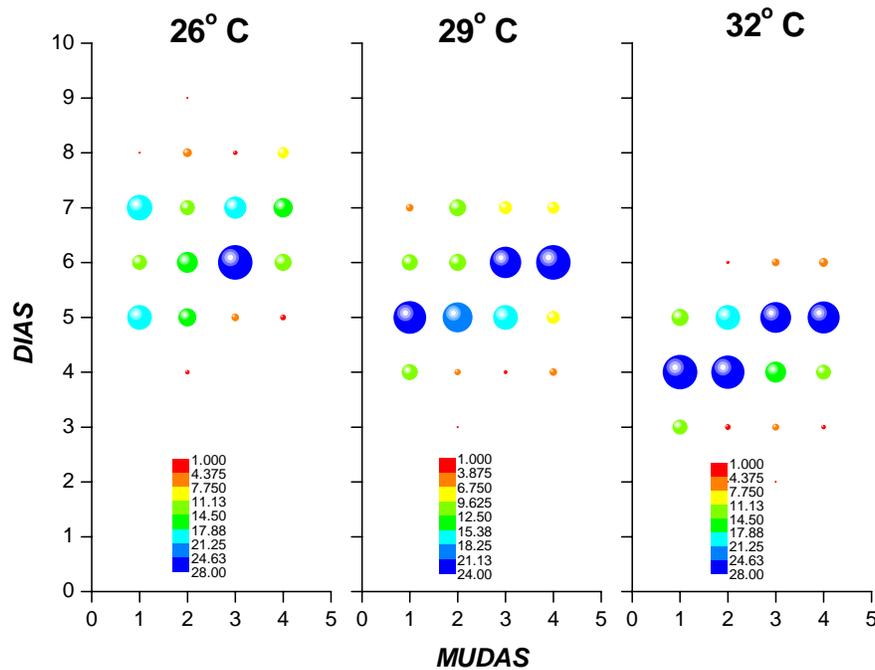


Figura 1.9.- Gráfico de frecuencia de muda de *L. vannamei* en función de la temperatura (Primera parte del experimento que corresponde a los organismos de 0.5 g de peso inicial promedio)

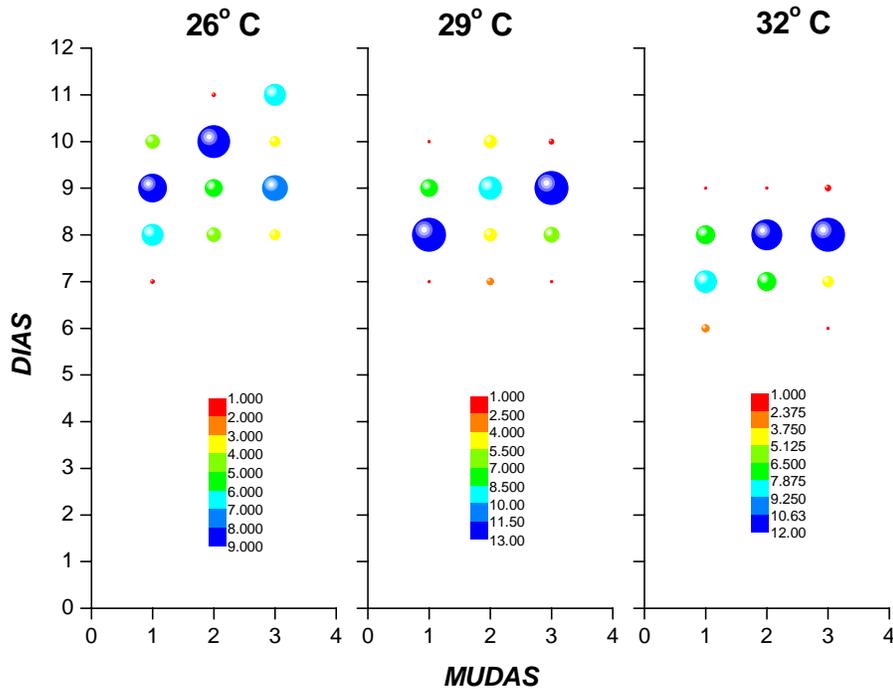


Figura 1.10.- Gráfico de frecuencia de muda de *L. vannamei* en función de la temperatura (Segunda parte del experimento que corresponde a los organismos de 6 g de peso inicial promedio)

Lo observado en las Figuras 1.9 y 1.10 define la tendencia de crecimiento general en los camarones. En etapas tempranas de desarrollo, la tasa de crecimiento es acelerada y los individuos aumentan de peso rápidamente, esto está directamente correlacionado con la frecuencia de muda. Así, a menor peso del camarón, la frecuencia de muda por intervalo de tiempo es mayor y conforme los organismos crecen esta frecuencia disminuye.

Con los resultados obtenidos en ambas fases del experimento, se obtuvo la relación de la duración del ciclo de muda en función del peso separando los datos por evento de muda para evitar la dependencia, ya que para cada organismo se consideran tres eventos de muda sucesivos. Los gráficos de estas relaciones se muestran en la Figura 1.11.

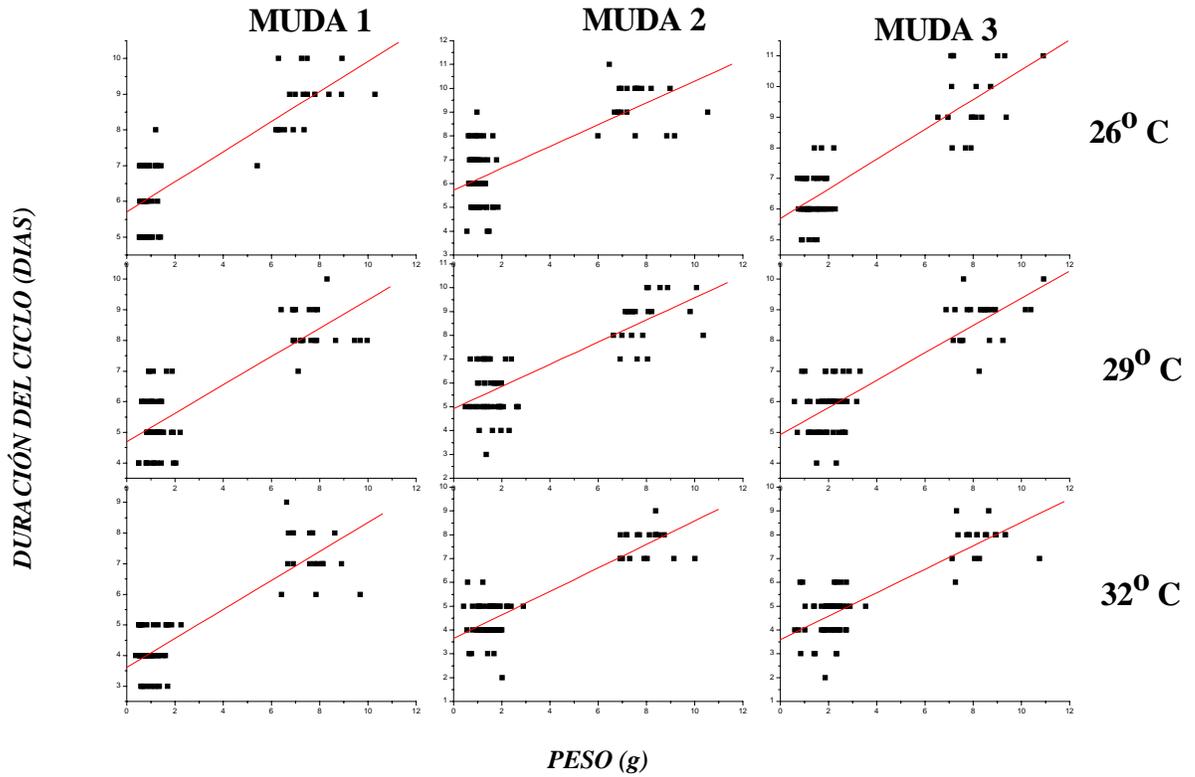


Figura 1.11.- Relación de la duración del ciclo de muda (días) en función del peso (g) para las tres temperaturas y tres eventos de muda por temperatura.

El análisis de covarianza se aplicó para las tres temperaturas por evento de muda, de tal manera que se comparan las pendientes y ordenadas de la muda 1 en las tres temperaturas, y lo mismo para los otros dos eventos de muda. Los resultados del análisis de covarianza (Tabla 1.5), muestran que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las pendientes (*b*) de las tres temperaturas para los tres eventos de muda, esto es que todas las rectas corren paralelas, lo cual indica que la tasa de cambio de la duración del ciclo de muda en función del peso no está siendo afectada por la diferencia en la temperatura. Las ordenadas al origen (*a*) presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las temperaturas en los diferentes eventos de muda. Esto implica que la temperatura tiene efecto sobre la duración del ciclo. Observando los valores de las ordenadas al origen por temperatura tenemos que la recta para 32° C corre a partir de un valor en “y” de aproximadamente 3.6, mientras que para la de 29° C la recta inicia a un valor de 4.9 y finalmente para la de 26° C el origen es

de 5.7, lo cual confirma lo anteriormente expuesto, existe una reducción en la duración del ciclo de muda al aumentar la temperatura.

Tabla 1.5.- Comparación de las rectas ($y = a + bx$) entre las temperaturas para los diferentes eventos de muda, donde y = duración del ciclo de muda (días) y x = peso (g).

		MUDAS		
TEMP (°C)		1	2	3
26		$b = 0.42$ $a = 5.71$	$b = 0.46$ $a = 5.73$	$b = 0.49$ $a = 5.68$
29		$b = 0.46$ $a = 4.69$	$b = 0.47$ $a = 4.92$	$b = 0.44$ $a = 4.92$
32		$b = 0.47$ $a = 3.61$	$b = 0.49$ $a = 3.64$	$b = 0.49$ $a = 3.59$
b	F	0.66,	0.23,	0.61,
	(gl)	(2, 21)	(2, 21)	(2, 213)
	P	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
a	F	610.70,	71.02,	1121.67,
	(gl)	(2, 21)	(2, 21)	(2, 215)
	P	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$

Las gráficas de la Figura 1.12 son datos del presente estudio complementados con un experimento de una investigación anterior (Rodríguez-Pestaña, datos no publicados). Estos experimentos se realizaron a una temperatura de 29° C e incluyen camarones de diferentes tallas en dos ciclos de muda sucesivos. Con estos datos se comprueba que la relación que guardan las variables de duración del ciclo de muda con respecto al peso es lineal.

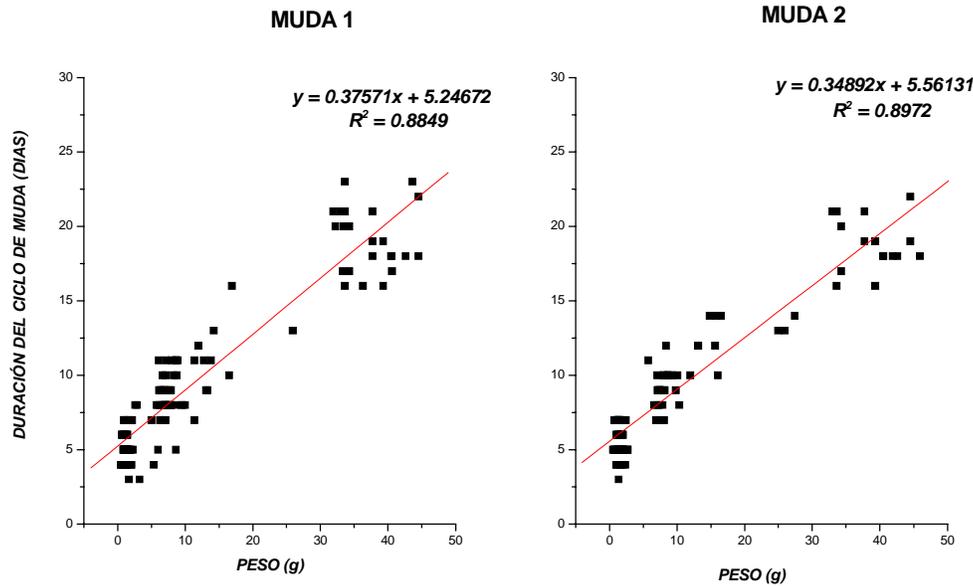


Figura 1.12.- Relación del tiempo de duración de la primera y segunda muda de *L. vannamei* en función del peso para organismos sometidos a 28-29° C

La proporción de ganancia en peso de los organismos considerando cada evento de muda se muestra en la Figura 1.13, para las tres temperaturas. Los organismos sometidos a la temperatura de 32° C obtienen en general una mayor proporción en peso durante la intermuda con respecto a los de las otras temperaturas, aproximadamente el 60% de biomasa con respecto a su peso inicial, lo que aunado a una menor duración del ciclo de muda impacta en el crecimiento (Figura 1.15). Para esta temperatura, la Figura 1.13 muestra una tendencia a disminuir la proporción de ganancia en peso con respecto a los eventos de muda, lo que indica que los individuos han llegado a una etapa y peso donde la tasa de acumulación de biomasa empieza a disminuir como consecuencia de la propia dinámica de crecimiento. Estos organismos llegan a una talla y peso más rápido que los organismos sometidos a las otras temperaturas y por lo tanto su crecimiento en proporción a su biomasa comienza a ser menor.

Lo anterior se marca con mayor claridad en la ganancia en peso relativa para los camarones de 6 a 8 g (Figura 1.14), ya que en todos los casos existe una tendencia decreciente,

seguramente porque los organismos llegan a una talla donde la curva de crecimiento cambia de pendiente y por lo tanto los incrementos relativos en peso son cada vez menores.

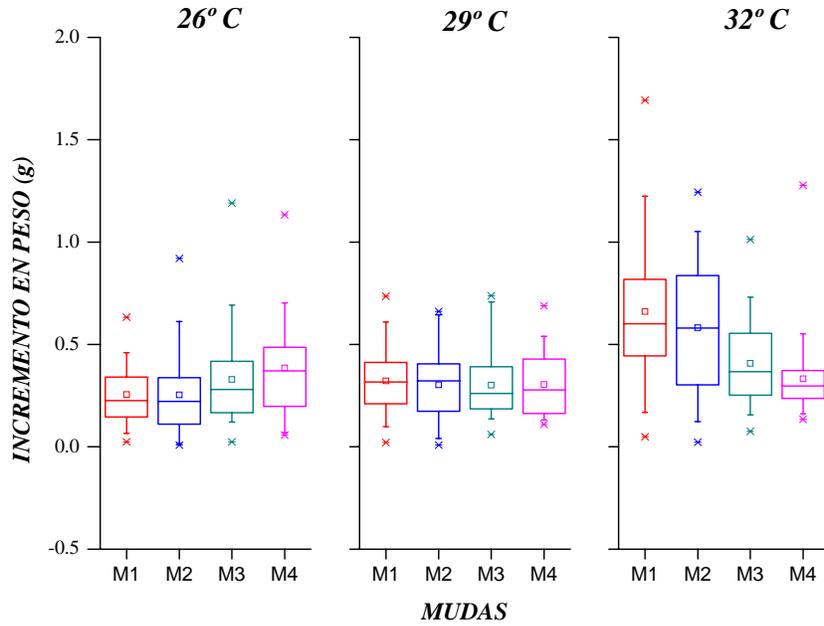


Figura 1.13.- Incremento en peso para cada evento de muda por temperatura para *L. vannamei* (Primera parte del experimento que corresponde a los organismos de 0.5 g de peso inicial promedio). Los límites verticales de las cajas agrupan el 50% de las observaciones, la línea central representa la mediana y las observaciones extremas se denotan por asteriscos.

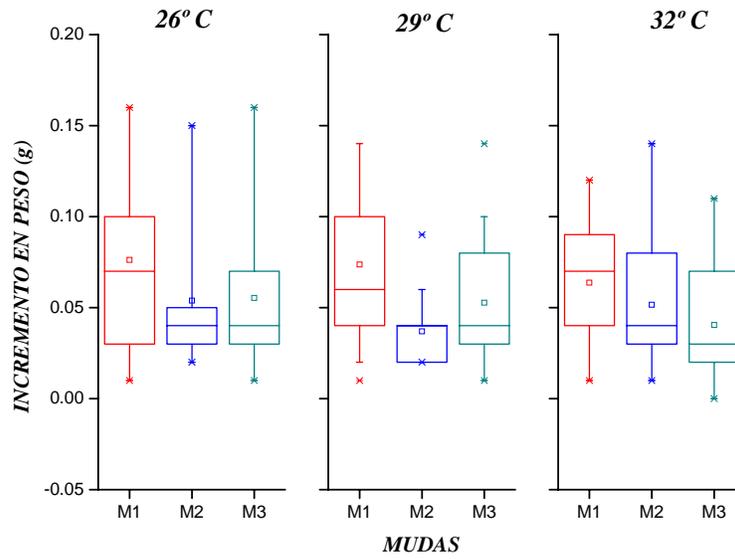


Fig. 1.14.- Incremento en peso para cada evento de muda por temperatura para *L. vannamei* (Segunda parte del experimento que corresponde a los organismos de 6 g de peso inicial promedio). Los límites verticales de las cajas agrupan el 50% de las observaciones, la línea central representa la mediana y las observaciones extremas se denotan por asteriscos.

El crecimiento de los camarones es la expresión final que refleja lo anteriormente expuesto. Su evaluación es objetivo de un proyecto paralelo y utiliza los mismos organismos para medir esta respuesta. Las tasas globales de crecimiento para el periodo de estudio por temperatura se muestran en la Figura 1.15. Se observa que existe un aumento en la ganancia de peso por día al aumentar la temperatura. La diferencia más notoria se muestra entre las tasas de crecimiento de la temperatura de 32° C que representa prácticamente el doble que para la de 26° C. Con esto se hace evidente que la temperatura es un factor capaz de modificar las respuestas asociadas al crecimiento como la frecuencia de muda. El efecto en el crecimiento es gradual en función al aumento de temperatura, esto es los organismos tienen mayores tasas de crecimiento a 29° C que a 26° C y a su vez a 32° C que a 29° C a lo largo del tiempo.

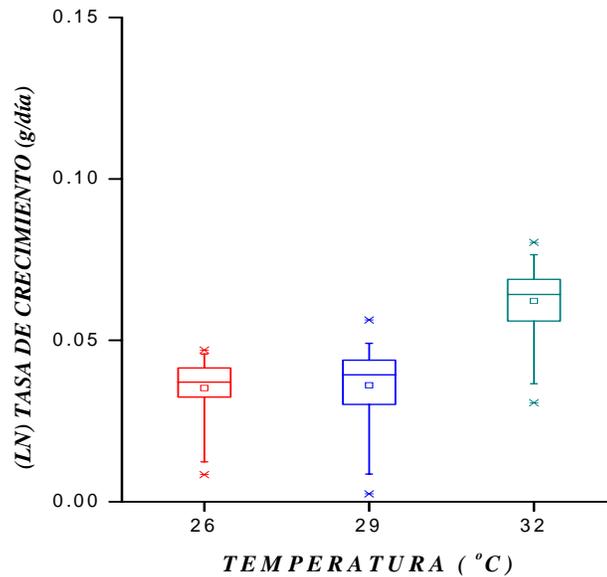


Fig. 1.15.- Tasas de crecimiento en peso húmedo (expresada en logaritmos) de L. vannamei para tres temperaturas

Cantidad de agua absorbida

La cantidad de agua bombeada por los camarones antes de que se lleve a cabo la ecdisis, en cualquier etapa de desarrollo de los organismos, en promedio es igual. Sin embargo, la relación entre esta cantidad de agua en función al peso, muestra diferencias en la dispersión (error estándar) de la respuesta de cada una de las tallas (Figura 1.16). Dicha variación está asociada principalmente a la talla de los camarones, los organismos pequeños están completamente comprometidos con el crecimiento y los eventos de muda están bien determinados fisiológicamente, de tal manera que la cantidad de agua absorbida antes de la muda es menos variable. Al ir creciendo, este proceso fisiológico se asocia también a otros eventos como los reproductivos y tanto el ritmo como la acumulación de biomasa en el crecimiento, disminuye. Así, la cantidad de agua que será sustituida por biomasa en el periodo de intermuda, en función al peso corporal del organismo comienza a ser no tan importante y se vuelve más variable.

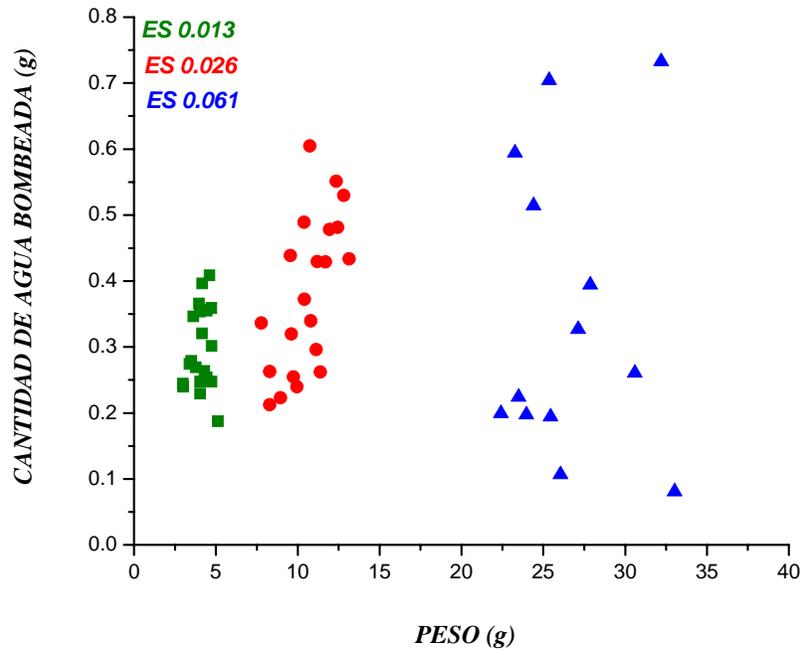


Figura 1.16.- Relación de la cantidad de agua absorbida absoluta (g) en función del peso húmedo (g)

La proporción de agua absorbida por los camarones, define una relación alométrica de tipo potencial negativa con el peso de los organismos (Figura 1.17).

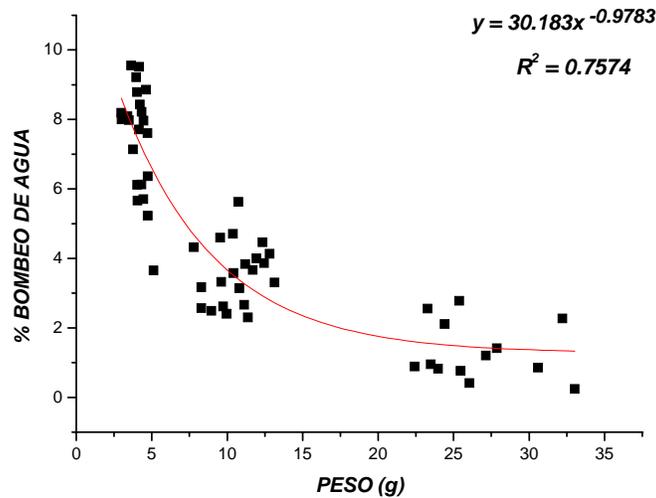


Figura 1.17.- Relación del % de agua absorbida (como proporción del peso corporal húmedo después de la muda sin exuvia) en función del peso húmedo corporal (g)

Considerando que el exoesqueleto es un tejido quitinoso que no participa en la absorción de agua en la premuda, se obtuvo el porcentaje de agua bombeada con respecto al peso seco de los organismos y se relacionó con el peso seco sin exuvia. La transformación de peso húmedo a peso seco se obtuvo mediante la función potencial propuesta por Menz y Bowers (1980): $\text{Peso seco (mg)} = 0.16 (\text{Peso húmedo (mg)})^{1.089}$. Los resultados se muestran en la Figura 1.18.

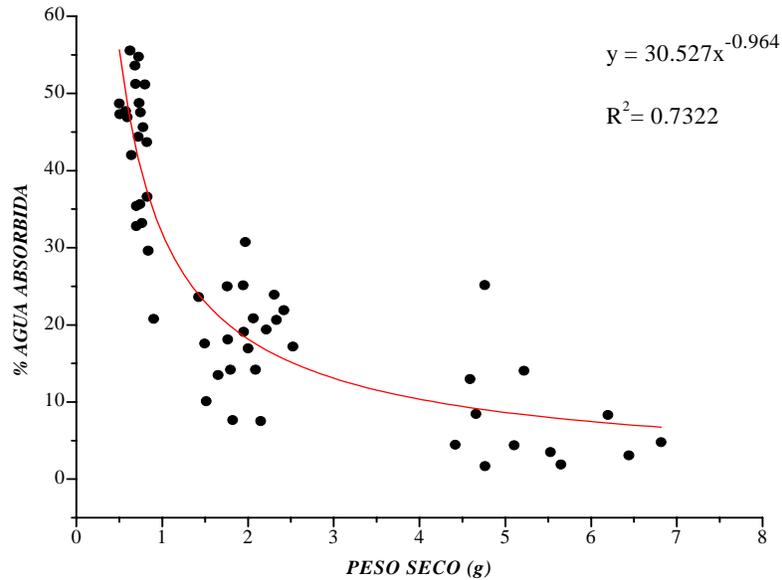


Figura 1.18.- Relación del % de agua absorbida (como proporción del peso corporal seco después de la muda sin exuvia) en función del peso seco corporal (g)

Los coeficientes alométricos obtenidos en ambas relaciones son similares y su diferencia no impacta en la simulación del crecimiento del camarón (Capítulo 3).

Reducción en el consumo de alimento

La Figura 1.19 muestra las curvas suavizadas con medias móviles de 3, calculadas para los datos del consumo de alimento en el tiempo de cada uno de los 20 organismos juveniles (3 a 5 g) del experimento y la curva promedio (negro). En estas curvas se observa que en general existe alta variación en el consumo individual de alimento con una tendencia paulatina de disminución conforme se acerca el momento de la muda y un incremento del consumo después de la muda.

El máximo consumo de alimento se presenta 130 horas (5 días) antes de la muda cuando el organismo se encuentra en el estadio de intermuda, que es el periodo donde los organismos están acumulando biomasa y por lo tanto consumen más alimento. Cuando el camarón está en premuda estabiliza su consumo (aproximadamente 76 horas antes de la muda) y se prepara para la muda. Finalmente 28 horas antes de la ecdisis se presenta un punto de inflexión en la curva de consumo que es el momento en que el desprendimiento del viejo exoesqueleto comienza a afectar las estructuras digestivas.

El consumo mínimo que se registró se presenta en todos los organismo 8 horas después de la ecdisis, aunque en realidad existe un periodo de 10 horas en que los camarones no tuvieron alimento antes y después de la muda, debido a que el remanente de alimento se retiraba a las 22:00 h y la primera ración del día se ofrecía a las 08:00 h, tiempo en el cual pudo incluso haber cesado este consumo. Sin embargo la evidencia muestra que prácticamente el camarón de esta talla tiene un periodo de ayuno fisiológico realmente muy estrecho o nulo, ya que se observó que todos los organismos después de haber mudado tenían el tracto digestivo lleno o casi lleno (tres cuartas partes del tracto).

Después de la muda, los organismos de tallas pequeñas son capaces de reestablecer sus estructuras digestivas rápidamente y hacerlas funcionales, esto puede suceder en un periodo de pocas horas. La evidencia muestra que 14 horas después de la muda los camarones ya están consumiendo alimento y al cabo de 44 horas alcanzan su consumo promedio.

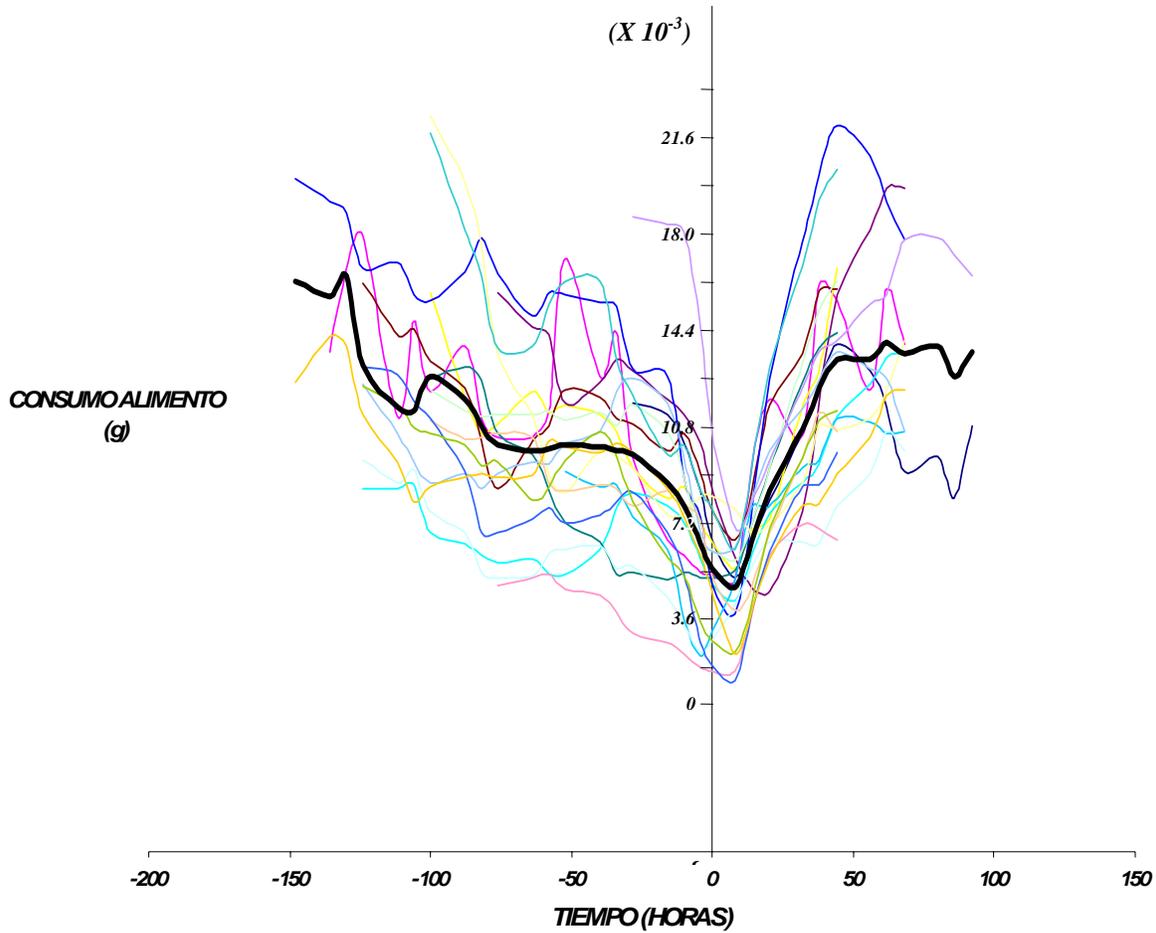


Figura 1.19.- Consumo de alimento (g x ración) antes y después de la muda en organismos juveniles de L. vannamei (3 a 5 g). El intervalo alrededor de $t=0$ indica el momento en que se presentó la ecdisis.

En cada punto de evaluación del consumo de alimento se obtuvo el error estándar con respecto al consumo promedio (Figura 1.20) para evidenciar la tendencia en la dispersión de los datos al alejarse del momento de la muda. Este error es mayor a tiempos más alejados del momento de la muda y disminuye al acercarse este evento, lo que indica que a lo largo del ciclo la variación en el consumo de alimento por los organismos es alta, mientras que al acercarse al momento de la muda el consumo se hace mínimo y muy parecido en todos los organismos.

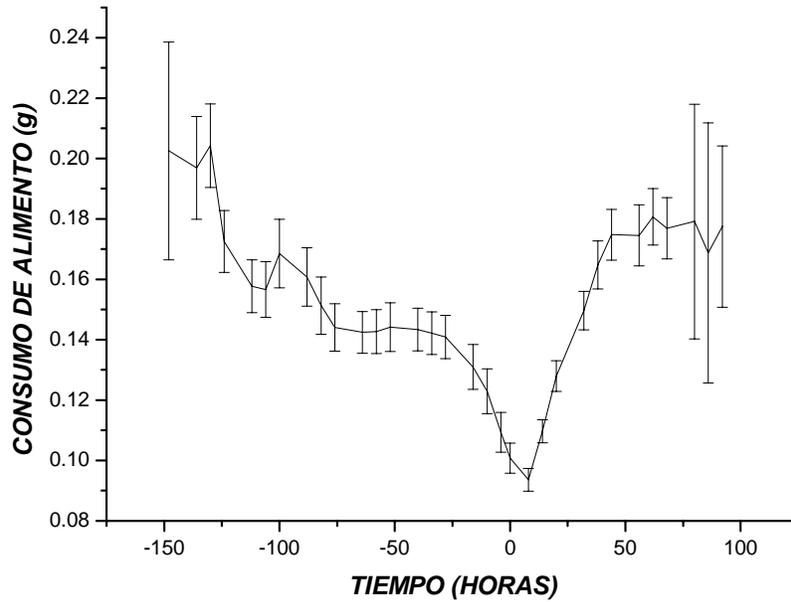


Figura 1.20.- Promedio de consumo para cada ración de alimento con el error estándar (n=20 juveniles).

Las curvas suavizadas en el consumo de alimento para organismos adultos (30-50 g) y su promedio se muestran en la Figura 1.21. En camarones adultos el periodo en que reducen el consumo de alimento es mayor que en juveniles, debido a que el tiempo de quitinización de las estructuras digestivas es mayor, lo que impide que el funcionamiento para la prensión, el tránsito y molienda de alimento se reestablezca rápidamente. La reducción en el consumo de alimento inicia 64 horas antes de la muda y al igual que los juveniles, el consumo se reestablece completamente 44 horas después. En promedio el mínimo consumo se da entre 10 horas antes y 8 horas después de la muda.

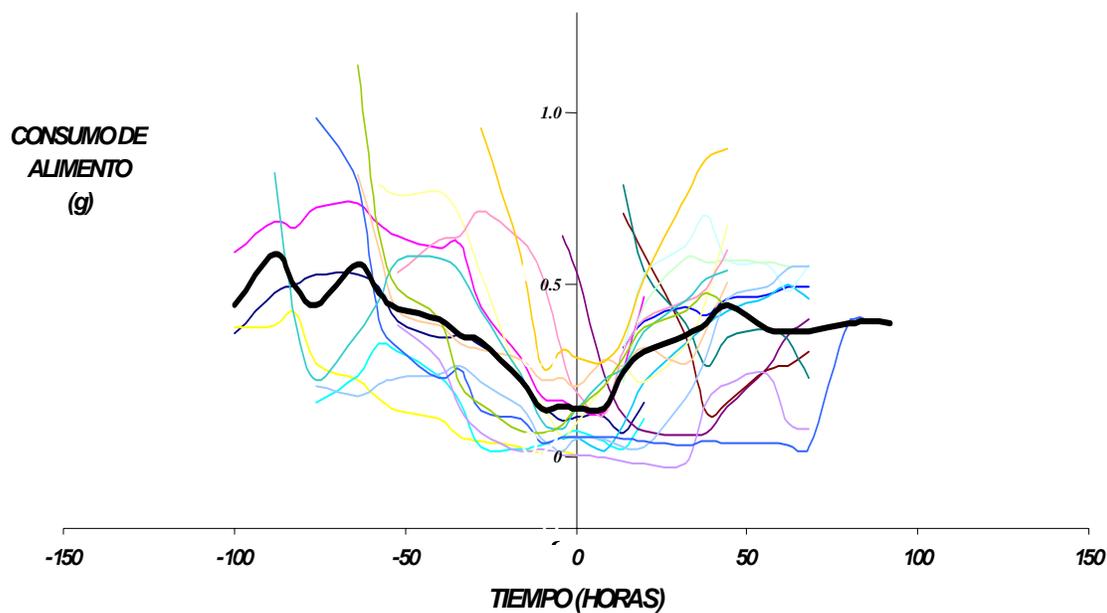


Figura 1.21.- Consumo de alimento (g x ración) antes y después de la muda en organismos adultos de L. vannamei (30 a 50 g). El intervalo alrededor de t=0 indica el momento en que se presentó la ecdisis.

Los errores estándar para los puntos de estimación de consumo de alimento para adultos (Figura 1.22), tienen el mismo comportamiento que en los juveniles la magnitud del error es menor cercano a la muda y máximos errores a tiempos más alejados de ésta.

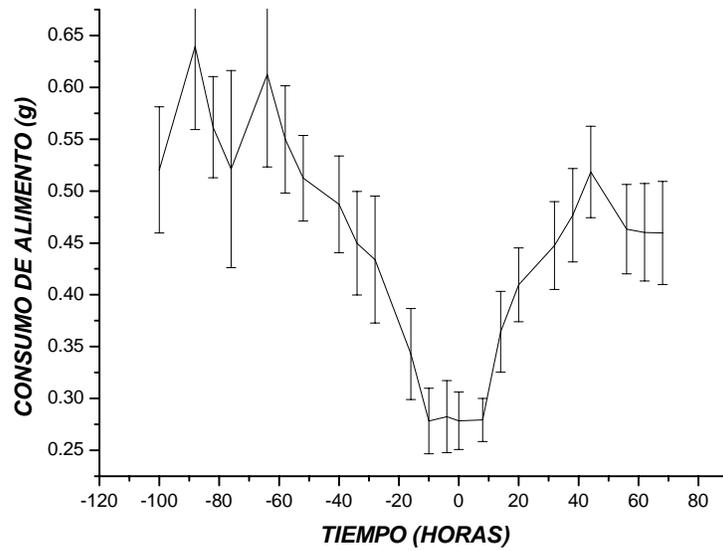


Figura 1.22.- Promedio de consumo para cada ración de alimento con el error estándar (n=15 adultos)

En la Figura 1.23 se muestra la relación entre el tiempo en que los organismos reducen el consumo de alimento (número de horas antes y después de la muda) en función del peso húmedo del camarón.

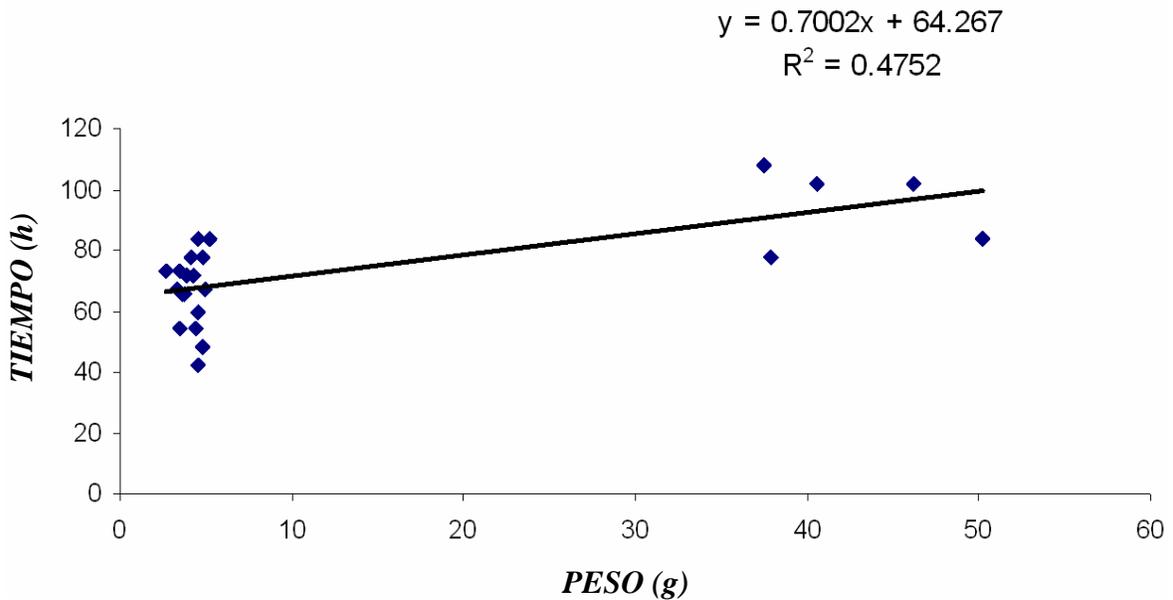


Figura 1.23.- Tiempo de reducción del consumo de alimento en función del peso del camarón *L. vannamei*

1.6 DISCUSIÓN

Frecuencia de muda

La temperatura es uno de los factores más importantes que controlan el crecimiento de los organismos a través de la regulación de las tasas metabólicas, que se hace más evidente en especies cuyo ciclo de vida es corto, como es el caso del camarón (Wyban *et al.*, 1995).

Los experimentos de este trabajo fueron realizados con la finalidad de determinar cuantitativamente el efecto de la temperatura sobre la frecuencia de la muda o duración de un ciclo de muda en *Litopenaeus vannamei*, lo cual se verá reflejado en el crecimiento de los organismos. Las temperaturas probadas experimentalmente están dentro de los límites óptimos para el crecimiento de la especie. Las evidencias experimentales provenientes de los resultados obtenidos muestran que, en efecto, existe una respuesta diferencial de los organismos en la duración del ciclo de muda cuando son sometidos a diferentes condiciones de temperatura. En general reducen el tiempo de duración de sus ciclos de muda cuando aumenta la temperatura, lo cual ha sido reportado también para el camarón *Panaeus setiferus* y la langosta *Cherax tenuimanus* (Dall, 1990; Rouse y Kartamulia, 1992).

La duración del ciclo de muda se ha reportado para diferentes especies de camarones por varios autores (Tabla 1.6). Los resultados de estos reportes muestran una clara influencia tanto de la temperatura como de la talla y posiblemente de la especie, en la frecuencia de muda. La tendencia general de la influencia de la temperatura coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, sin embargo se muestran amplias variaciones en cuanto al tiempo de duración de los ciclos de muda reportados por estos autores.

Tabla 1.6.- Duración del ciclo de muda para diferentes especies de camarón y su relación con la temperatura y el tamaño

Autor	Especie	Peso/talla	T (° C)	Duración del ciclo de muda
Choe, 1971	<i>Penaeus japonicus</i>	3 a 15 g	25-28° C	6 a 15 días
Choe, 1971	<i>Penaeus japonicus</i>	1.5 a 15 g	20-25° C	7 a 16 días
Carvalho y Phan, 1998	<i>Xiphopenaeus kroyeri</i>	1 y 10 g	25° C	6 y 20 días resp.
Robertson <i>et al.</i> , 1987	<i>Penaeus setiferus</i>	43-57 g	27-29° C	13.6 días

Robertson <i>et al.</i> , 1987	<i>Penaeus stylirostris</i>	43-57 g	27-29° C	11.5 días
Chan <i>et al.</i> , 1988	<i>Penaeus vannamei</i>	11.5-13 cm	20-22° C	28 a 40 días
Charmantier <i>et al.</i> , 1994	<i>Penaeus vannamei</i>	10 g	28° C	14 días
Bentacourt <i>et al.</i> , 1993	<i>Penaeus vannamei</i>	55 g	28° C	11.7 días

Los resultados de Choe (1971) en *Penaeus japonicus*, muestran que un cambio de 4° C, altera el ciclo de muda por un día. En general se observa que una disminución en la temperatura promueve el aumento del periodo del ciclo de muda. Este efecto fue reportado también por Staples y Heales (1990) en juveniles de *Panaeus merguensis*, cuyo periodo de intermuda se incrementó de 3 a 12 días cuando la temperatura decreció de 35 a 15° C. Al igual que en el presente trabajo, este efecto se relaciona con la reducción general del metabolismo de los camarones.

Los reportes de Robertson *et al.* (1987), en adultos de *P. setiferus* y *P. stylirostris* muestran resultados poco coincidentes con los obtenidos en este estudio. Se observa que para esta etapa de desarrollo la duración del ciclo de muda en *L. vannamei* es mayor que en estas especies, al menos por 10 días. Esta diferencia no puede ser atribuida a la tasa de crecimiento específica debido a que en esta talla, los camarones han llegado a la asíntota de su curva de crecimiento, por lo tanto la especie y las condiciones de cultivo son las que pueden influir determinadamente en estas variaciones. Contrario a estos reportes, en los experimentos con el camarón *Xiphopenaeus kroyeri* se obtuvo una duración de los ciclos de muda para camarones de 1 y 10 g mayor que la observada en este trabajo para *L. vannamei*. Lo anterior confirma que el metabolismo de cada especie determina las diferencias tanto de periodicidad del ciclo de muda, como del incremento neto de biomasa traducido finalmente a crecimiento.

Chan *et al.* (1988), reportan para *P. vannamei* un ciclo de muda de 28-40 días para individuos de 11.5-13 cm de longitud (peso estimado 10-16 g), bajo un diseño experimental similar al utilizado en este trabajo, con la individualización de los organismos pero con una temperatura controlada de 20 a 22° C. Esta temperatura está dentro del *preferendum* térmico de la especie, pero por debajo de su intervalo óptimo de crecimiento. De esta

manera, su tasa metabólica resultó ser muy baja y por lo tanto los tiempos intermudales más amplios.

Charmantier *et al.* (1994) y Bentacourt *et al.* (1993) reportaron para *L. vannamei* periodos intermudales mayores en organismos en etapa juvenil pero menores en adultos respectivamente, a una temperatura promedio de 28° C. A pesar de que los reportes para *L. vannamei* muestran tiempos de duración de ciclos de muda variables, la tendencia de la influencia de la temperatura sobre el metabolismo de los organismo y por lo tanto en la periodicidad de los ciclos de muda, se mantiene en concordancia con los resultados obtenidos para *L. vannamei* en este estudio.

Las experiencias con cultivos de camarón han demostrado que conforme la temperatura aumenta, siempre en los límites de la temperatura óptima de desarrollo y crecimiento de la especie, las tasas metabólicas se aceleran y con esto aumenta la frecuencia de muda (Gong *et al.*, 2004). Por otro lado, el incremento en la tasa metabólica implica un aumento en la demanda de energía necesaria para el crecimiento, lo cual a su vez estará asociado con un aumento en el consumo de alimento. Ponce- Palafox *et al.* (1997) reporta que camarones juveniles de *P. vannamei* consumieron más alimento cuando fueron sometidos a temperatura de 25-30° C, que cuando estuvieron a 11-18° C, lo cual tuvo como respuesta final un mayor crecimiento. Lo anterior también fue observado en *P. aztecus* por Zein-Eldin y Griffith (1966) y en *Procambarus clarkii* y *P. zonangulus*.(Croll y Watts, 2004), así podemos determinar que la temperatura, es un factor determinante que influye tanto en el consumo de alimento, la absorción de proteínas y carbohidratos, la modificación del flujo de energía y por lo tanto en el crecimiento de organismos acuáticos, sobre todo los poiquilotermos.

Además de la influencia de la temperatura en la tasa metabólica de los crustáceos, también tiene efecto en la tasa de síntesis de proteína (Whiteley *et al.*, 2001). La actividad dinámica específica (ADE) refleja los requerimientos energéticos de numerosos procesos mecánicos y bioquímicos implicados en la digestión. Estos incluyen los movimientos del alimento, absorción y almacenaje de nutrientes, síntesis de proteínas y lípidos. Se reporta que la

temperatura tiene efecto en la ADE, lo cual tendrá una influencia directa en la ganancia en peso, en intermuda (Figuras 1.13 y 1.14) y en la respuesta final, el crecimiento, como se observa en la Figura 1.15.

El crecimiento de los camarones está determinado, en cualquier edad de los organismos, por el número de mudas en un periodo determinado y por el aumento de biomasa en cada intermuda (Dall, 1990). La acción conjunta de estos dos componentes del crecimiento conducirá a la estimación real del efecto de la temperatura en el crecimiento final del camarón. La ganancia en biomasa (g) para las tres temperaturas se muestra en las figuras 1.13 y 1.14.

En las temperaturas 26 y 29° C no se observan diferencias importantes en cuanto a la proporción de peso ganado, esto implica que los organismos en el periodo intermudal obtienen la misma proporción en biomasa en ambas temperaturas y aunque la duración de los ciclos es diferente, lo que en tiempos más amplios se tendría que ver reflejado en el crecimiento del organismo, primero en talla y posteriormente, durante la intermuda en peso como ganancia en biomasa (Zetina-Moguel et al., 2000), para los camarones sometidos a estas dos temperaturas no hay diferencias en el crecimiento final (Figura 1.15). Sin embargo a mediano y largo plazo la duración del ciclo de muda estará determinando un mayor crecimiento en biomasa a los organismos sometidos a una temperatura de 29° C, debido a que si mudan más frecuentemente, acumularán mayor biomasa en el mismo tiempo que los que mudan más espaciadamente. Por el contrario, para los individuos sometidos a la temperatura de 32° C, se observó una diferencia en la proporción de peso ganado en intermuda, que adicionado al efecto de un periodo intermudal menor, tiene como resultado un mayor crecimiento.

La Figura 1.7, muestra para cada temperatura la distribución de mudas observadas por día para todos los individuos del experimento. Es conocido que condiciones ambientales como las fases lunares ejercen influencia sobre la fisiología de los crustáceos originando respuestas diversas en éstos (DeCoursey, 1983; Dall et al. 1990). Así por ejemplo DeCoursey (1983), describe una sincronización de la muda con el ciclo lunar para el

anfípodo *Talitrus saltador*. Aunque en esta investigación no se registró la muda tomando en cuenta la fase del ciclo lunar, si se observa que existe una cierta sincronización del evento muda en todos los camarones de este experimento. Las distribuciones que se definen en la Figura 1.7, establecen que una gran parte de los organismos mudaban en un día específico, estableciendo así la moda en esa distribución y una periodicidad en los ciclos de muda, aunque estos se encontraban de manera individualizada en los acuarios. Estos resultados muestran coincidencias con lo reportado por Molina *et al.* (2000), en donde, bajo condiciones experimentales, aproximadamente el 80% de organismos de *P. vannamei* mudaban en luna nueva. Una sincronización lunar también fue establecida en *P. duorarun*, donde se observó que en luna llena un alto porcentaje de la población de camarones muda en comparación con la luna nueva en condiciones naturales (Fuss y Ogren, 1966).

Absorción de agua

El proceso fisiológico de absorción de agua, es un evento continuo que tiene lugar entre la premuda tardía y la postmuda temprana (Cuzón, comunicación personal) a nivel de los intestinos y de las branquias (Renaud, 1949). Esto se ha documentado principalmente para cangrejos y langostas que tienen un proceso de calcificación del caparazón mucho más acentuado, por lo que la duración de la ecdisis es más prolongada. Al parecer este trabajo es el primero que lo reporta para camarones, donde el evento de ecdisis ocurre en pocos segundos. En cangrejos se ha observado que el organismo presenta una hidratación global antes de la muda del 69% de su peso húmedo y después de la muda del 90% (Drach 1939). En la langosta *Panulirus longipes* el porcentaje de agua absorbida se incrementa súbitamente unas horas antes de la muda y es máximo durante la muda. Dall y Smith (1978), determinaron que la cantidad de agua absorbida se correlaciona directamente con el peso ganado durante la muda. Passano (1960) encontró que *Cancer sp.* absorbe un 70% de su peso corporal durante la ecdisis, perdiendo agua en una relación directamente proporcional a la ganancia en peso seco.

La activación del proceso de absorción de agua sugiere la intervención de la hormona ecdisona, promotora de la muda, que actúa sobre la hipodermis aumentando la permeabilidad del tegumento para permitir la entrada de agua (Hunter y Uglow, 1993), lo

que compromete principalmente a los componentes de la hemolinfa como las concentraciones de glucosa y hemocianina y el proceso de osmoregulación en el organismo, al aumentar el volumen en la sangre (Capítulo 2).

En camarones, el proceso de absorción de agua hacia el interior del organismo inicia en el estadio D₁''' (Cuzón, comunicación personal). La entrada de agua incrementa la fuerza hidrostática necesaria para romper el exoesqueleto y posteriormente el organismo se libera de su caparazón mediante movimientos que requieren de energía cinética generada por trabajo muscular. Las observaciones realizadas por medio de una videofilmación, realizada en el área experimental en el momento en que el camarón se desprende del exoesqueleto, ponen en evidencia que este proceso ocurre mediante un movimiento muscular (conocido como "tail-flip"), mismo que utilizan como parte de la estrategia de escape ante el ataque de un depredador. La resultante vectorial producto de la flexión corporal descrita a detalle por Arnott *et al.* (1998) para el caso del escape, permite que el organismo se libere del exoesqueleto.

Posterior a la muda se presenta un aumento súbito de agua en el camarón, mismo que permitirá primero aumentar el volumen de los fluidos corporales, seguido de un alargamiento de los músculos, glándulas y otros tejidos (Al-Mohanna, 1989). Este aumento en el volumen corporal permite que se forme el nuevo y suave exoesqueleto (Chang, 1995) que se endurece mediante la absorción de minerales y proteínas (Chang, 1992). En esta fase, los organismos incrementan su volumen pero no su biomasa. A este proceso le seguirá la sustitución del agua por tejido, a partir de la postmuda tardía. La intermuda es el período cuando ocurre el catabolismo neto de los tejidos y el mayor crecimiento en biomasa, después de que el exoesqueleto se ha endurecido (Dall *et al.*, 1990) y por lo tanto la sustitución es más activa.

El potencial crecimiento del camarón, estará determinado por la cantidad de agua que absorba entre la premuda tardía y la postmuda temprana, sin embargo el crecimiento real en peso, será el resultado de la eficiente sustitución de agua por biomasa en intermuda. Esta dependerá de varios factores, entre los que están la calidad y cantidad de alimento, las

condiciones ambientales que imperan en el cultivo, el estado de salud y de estrés del organismo (Cuzón, comunicación personal).

Como se muestra en la Figura 1.17, la proporción de agua absorbida por los camarones con respecto a su peso corporal, presenta una relación potencial negativa. Esto implica que organismos pequeños absorben una mayor cantidad de agua en proporción a su peso corporal en comparación con las otras tallas debido a que su velocidad de crecimiento es alta en comparación a organismos más grandes (Franco *et al.*, 2006) y requieren de acumular biomasa a una tasa mayor, mientras que a tallas grandes el crecimiento se va haciendo asintótico y el agua que absorben solo ayudará a llevar a cabo el proceso de muda, por lo tanto la acumulación de biomasa en el periodo intermudal es menor.

La sustitución de agua por tejido en un ciclo de muda, inicia en el estadio B de postmuda, donde de acuerdo a la Figura 1.24, la cantidad de agua contenida en el tejido del camarón comienza a disminuir hasta alcanzar su mínimo en D1'''. Este puede representar el momento en que el camarón activa nuevamente el proceso de absorción de agua, previo a la ecdisis. La gráfica muestra la reducción del contenido porcentual de agua en los diferentes estadios de muda para 3 diferentes especies de camarones peneidos, *P. japonicus* (Cuzon, 1978), organismos de 5 g de peso húmedo *L. vannamei* y organismos de 0.8 a 18 g de peso húmedo de *L. setiferus* (Rodríguez-Pestaña, datos no publicados).

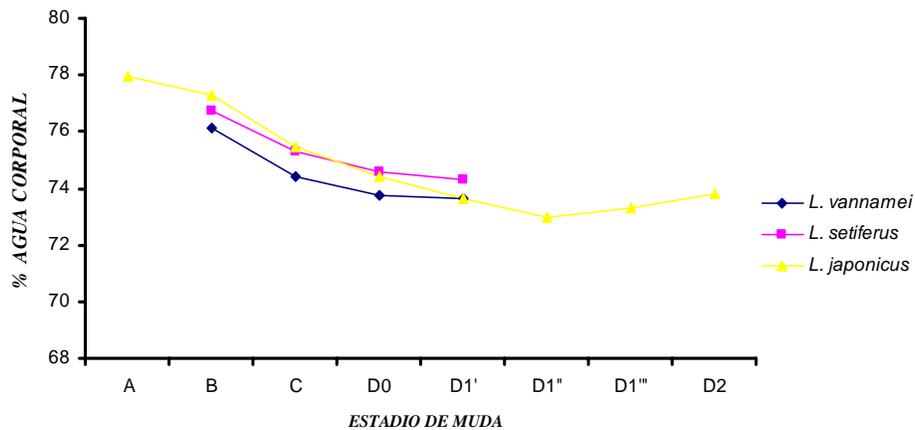


Figura 1.24.- Porcentaje de agua contenida en el músculo de acuerdo al estadio de muda para *L. vannamei*, *L. setiferus* (Rodríguez-Pestaña, datos no publicados) y *L. japonicus* (Cuzón, 1978)

Cabe hacer notar que los valores de D_1 para *L. vannamei* y *L. setiferus*, representan el promedio de todos los sub-estadios de D_1 y del estadio D_2 , por lo que las variaciones que se observan en *L. japonicus* pueden estar enmascaradas por el promedio en *L. vannamei* y *L. setiferus*.

Reducción del consumo de alimento

El consumo de alimento está relacionado con el ciclo de muda. En premuda, los camarones comienzan sus ajustes bioquímicos y fisiológicos para prepararse para la muda, entre estos está la reducción, e incluso el cese del consumo de alimento antes y después del proceso de ecdisis. Este evento tiene influencia hormonal, Hatt *et al.* (1989), determina que un aumento en la síntesis de la hormona ecdisona coincide con el decremento en la ingesta de alimento por parte del camarón. Por otro lado, se sugiere que la reducción en el consumo de alimento, se debe al hecho de que en el proceso de despojarse del exoesqueleto, algunas estructuras como la boca, el esófago y parte del estómago dejan de ser funcionales. Estos órganos poseen una capa de quitina que es una continuación de las capas externas. Por lo tanto, la exuvia se desprende junto con el antiguo sistema digestivo impidiendo que se sigan realizando las funciones normales de prensión, tránsito y molienda del alimento (Ceccaldi, 1997).

El desprendimiento de las capas quitinosas del sistema digestivo comienza en la premuda tardía, el camarón reduce su ingesta de alimento y comienza a utilizar las grasas y azúcares que tiene de reserva para poder llevar con éxito las etapas subsecuentes de la muda así como la construcción del nuevo exoesqueleto. Después de la muda, las estructuras digestivas reblandecidas no serán funcionales hasta varias horas después (Fernández-Luna, 1998; Vega-Villasante *et al.*, 1999).

El tiempo para que el camarón normalice su tasa de ingestión, dependerá del endurecimiento de la cutícula quitinosa y por extensión, de las membranas que cubren el sistema digestivo. Dicho proceso se lleva a cabo mediante la calcificación y la absorción de otros minerales y proteínas hasta adquirir consistencia y dureza (Chang, 1992) y estará determinado por la talla del organismo (Figura 1.23).

Esta relación determina, mediante la experiencia experimental, que los camarones reducen su consumo de alimento en función a su talla. Para juveniles (3 a 5 g) es en promedio de 72 horas y en adultos (30-50g) de 108 horas. La tasa de alimentación se reduce en aproximadamente un 32% en juveniles, mientras que para adultos está reducción es del 83% y en algunos casos alcanza el 100%, lo que sugiere que en efecto el tiempo de calcificación y acumulación de minerales y proteínas será mayor en los organismos adultos que en los juveniles.

En el medio natural, *L. vannamei* es omnívoro, su dieta consiste principalmente de poliquetos, moluscos bivalvos, ophiúridos, nemátodos y restos vegetales (Marte, 1980; Hunter y Feller, 1987), de tal manera que es necesario que las estructuras de su sistema digestivo estén totalmente funcionales para llevar a cabo la ingestión y molienda del alimento. En estas condiciones, es evidente que al acercarse el momento de la muda, cese completamente el consumo de alimento. En condiciones experimentales, los camarones fueron alimentados con pellet, el cual se reblandece con el agua y los camarones lo digieren con mayor facilidad, incluso momentos antes de la muda. La evidencia experimental de esta sugerencia parte del hecho de que, durante el experimento, los tractos digestivos de los camarones, en la mayoría de los casos, no estuvieron vacíos en todo el ciclo de muda. Además, al observar directamente la conducta alimenticia de los camarones durante toda una noche, se encontró que estos no dejaron de comer antes de la ecdisis. Esta conducta se reporta para algunos individuos de *Penaeus esculentus*, experimentalmente se encontró que el 30% de los camarones se alimentan la noche en que ocurre el desprendimiento del exoesqueleto (Wassenberg, 1984).

CAPITULO 2.- ADAPTACIONES BIOQUIMICAS QUE OCURREN DURANTE EL CICLO DE LA MUDA

En este capítulo se analizan los cambios a través de metabolitos relacionados con la obtención de energía (glucosa, hemocianina) y del glucógeno como una de las reservas en el hepatopáncreas. Se relacionan con algunos aspectos fisiológicos influenciados por este ciclo como el proceso de absorción de agua en el ciclo de la muda.

2.1 ANTECEDENTES

La muda en los crustáceos es un proceso complejo, cada una de las etapas se caracteriza por diferentes eventos metabólicos. La fisiología y la bioquímica de los camarones presentan cambios dramáticos durante este proceso. Fisiológicamente la muda es un proceso hormonalmente dirigido, regulado por dos hormonas antagónicas: ecdisona, y la hormona inhibidora de la muda.

2.1.1 Control del ciclo de muda

El control del ciclo de la muda y los eventos que ocurren en ella están sincronizados por la acción de dos hormonas, la ecdisona y la hormona inhibitoria de la muda (MIH), secretadas por el órgano-Y y el órgano-X respectivamente. Se ha documentado que la hormona 20-OH ecdisona es el principal efector positivo del ciclo de muda de los crustáceos. El papel de este ecdisteroide como la hormona de la muda, ha sido verificado en varias investigaciones en las que se aislaron, purificaron e identificaron los ecdisteriodes de varias especies de crustáceos y determinaron sus cambios durante el ciclo de la muda. La identificación del órgano-Y como la primera fuente de ecdisteroides, específicamente de α -ecdisona, es soportado por la ausencia o retraso de la ecdisis en animales que carecen de órganos Y (Skinner, 1985).

Las hormonas hiperglicemiantes son una familia de hormonas (neuropéptidos) de crustáceos, involucradas principalmente con el metabolismo de carbohidratos, muda y reproducción (Lacombe et al, 1999). En el cangrejo *Cancer pagurus*, las isoformas de estos péptidos así como el péptido precursor de la hormona hiperglicemiante se identificaron en la glándula sinusal del órgano X del pedúnculo ocular (Hsu et al., 2006). El complejo

órgano X de la glándula sinusal es el sitio de producción de neuropéptidos. Un análisis químico de estos péptidos muestra que presentan composiciones aminoacídicas comunes (Wang, et al., 2000).

Además de su papel en la regulación de la glucosa en sangre, la hormona hiperglicemiante está implicada en la regulación de varios procesos fisiológicos como la producción de la ecdisona (Yasuda *et al.*, 1994) el metabolismo de lípidos (Santos *et al.*, 1997) y osmorregulación (Charmantier-Daures *et al.*, 1994, Serrano *et al.*, 2003). Sefiani *et al.* (1996), establecen una relación entre la muda y la glicemia permanente en crustáceos en *P. vannamei*. Sus resultados sugieren que las neurohormonas del pedúnculo ocular están involucradas en el control de la muda y en la cantidad de azúcar sanguínea.

El papel regulador de la hormona hiperglicemiante en los niveles de glucosa en sangre modula dos sistemas de enzimas principales: las comprometidas con la glucogenólisis y glucogénesis y actúa sobre el epitelio del hepatopáncreas en la síntesis de enzimas digestivas del epitelio del hepatopáncreas (Hall, 1993). La homeostasis que involucra la ingestión de glucosa y la glucogénesis en músculo y hepatopáncreas puede estar bajo control hormonal además de depender de otros factores.

Glándula sinusal

El ciclo de muda en los crustáceos incluye modificaciones de tipo estructural y fisiológico que involucra a la gran mayoría de los sistemas, como son el sistema nervioso periférico y central, regulación iónica, metabolismo general y celular, sistema excretor y sanguíneo (Cooke y Sullivan, 1982; Kuo y Lin, 1996).

La glándula sinusal es uno de los centros de control neuroendocrino más conocido en los crustáceos. Esta glándula contiene neuronas especializadas para la síntesis, almacenamiento y liberación de neurohormonas que son liberadas a la hemolinfa y regulan varias funciones metabólicas. Estas funciones incluyen regulación del azúcar en la hemolinfa, concentraciones osmóticas e iónicas, ciclo de muda, adaptaciones a la luz y la presencia de ritmos circadianos y locomotores (Welsh, 1961; Cooke y Sullivan, 1982).

Órgano-X

El órgano-X en los peneidos se encuentra ubicado en la superficie dorsal del ganglio óptico (Cooke y Sullivan, 1982; Skinner, 1985). Este órgano produce la hormona inhibidora de la muda (HIM) además de otras como la hormona inhibidora de las gónadas, hormonas peptídicas, la hormona hiperglicemiante y las cromatoforotropinas las cuales son almacenada en la glándula sinusal para luego ser secretadas hacia la hemolinfa. La función de este órgano es la de inhibir la síntesis de ecdisona por parte del órgano-Y (Huberman *et al.*, 1993).

Órgano-Y

El órgano-Y en los camarones peneidos se encuentra localizado bajo la hipodermis ventral cercano al músculo abductor mandibular externo. Cuando el órgano-X, por razón aún desconocida, deja de producir la HIM, el órgano-Y puede secretar la hormona ecdisona que por hidroxilación se vuelve en una forma más activa conocida como la 20-OH ecdisona, la cual desencadena el proceso fisiológico de la muda (Cooke y Sullivan, 1982; Skinner, 1985).

2.1.2 Metabolismo en la glándula digestiva

El metabolismo energético de los camarones peneidos consta de una serie de caminos metabólicos a través de los cuales se produce la energía que los camarones necesitan para cubrir todas sus necesidades, que incluyen las reacciones involucradas en los trabajos físicos y en la síntesis de moléculas y tejidos, es decir, en el crecimiento y en la reproducción (Rosas y Carrillo, 2006).

Durante el ciclo de muda, los camarones acumulan en la glándula digestiva reservas de glucógeno, lípidos y proteínas, que son utilizadas mayormente en la construcción del futuro exoesqueleto y en la síntesis de nuevos tejidos. De acuerdo con Renaud (1949) y Fernández *et al.*, (1998) estas reservas son movilizadas de una manera diferente según el estadio de muda.

En estudios realizados en *Callinectes arcuatus*, se relacionan las variaciones de las enzimas digestivas durante el ciclo de muda, mostrando una disminución de la actividad general de proteasas en la premuda y muda, mientras que la actividad de amilasa y lipasa aumenta en estos mismos estadios, lo cual sugiere la utilización de reservas energéticas (glucógeno y lípidos) para el mantenimiento y construcción de tejidos durante la etapa de ayuno fisiológico (Vega-Villasante *et al.*, 2000).

El glucógeno es la molécula de almacenamiento de carbohidratos en los crustáceos decápodos y la glándula digestiva (hepatopáncreas) es el sitio donde se acumula principalmente (Gibson, 1979; Loret, 1993). En un estudio realizado por Rosas *et al.*, (2000), se consideró al glucógeno de la glándula digestiva como un indicador de la capacidad de los camarones para almacenar esta molécula. En los crustáceos, el glucógeno es utilizado principalmente como materia prima para la formación de la quitina, la cual puede llegar a ser hasta el 35% del peso seco de los camarones (Abdel-Rahman, 1979, Rosas *et al.*, 1995).

Aunque el glucógeno es utilizado para la formación del exoesqueleto y su síntesis es fundamental en el crecimiento, los resultados obtenidos en *L. vannamei* indican que una gran cantidad de glucógeno acumulado en el hepatopáncreas no necesariamente significa un mayor crecimiento. Estudios histoquímicos realizados con *P. monodon* revelaron que el glucógeno en exceso podría actuar como una barrera que impide la absorción de aminoácidos e inhibe el crecimiento de los camarones (Rosas *et al.*, 2006)

La regulación de la glucosa de la sangre es otro mecanismo fisiológico importante que se puede afectar por el ciclo de la muda. Es una de las respuestas más reconocidas al estrés constante, por lo que es necesaria la movilización de la energía almacenada para mantener la homeostasis (Lignot *et al.*, 1999). La glucosa en la hemolinfa proviene de dos fuentes diferentes; directamente de la absorción de la D-glucosa dietética a través del hepatopáncreas y las células epiteliales del intestino, o desde el hepatopáncreas donde este se almacena como glucógeno o sintetizado por vía gluconeogénica. Los niveles de glucosa en la hemolinfa están firmemente regulados por la hormona hiperglicemiante de los

crustáceos. La secreción balanceada de esta hormona es una parte esencial del control homeostático de la glucosa (Verri *et al.*, 2001). Santos y Keller (1993) establecieron las vías de control de esta hormona sobre la concentración de glucosa. Cuando los niveles de glucosa en la hemolinfa son bajos, las neuronas de la glándula sinusal del órgano X sintetizan y liberan a la hormona hiperglicemiante e inducen la hidrólisis del glucógeno y como consecuencia se incrementa la concentración de la glucosa en la hemolinfa. Por el contrario, cuando la concentración en la hemolinfa aumenta, la liberación de la hormona es inhibida, se invierte el proceso de la producción de la glucosa en el músculo y en el hepatopáncreas. En particular, la hormona hiperglicemiante juega un papel importante en la regulación de la glicemia por incremento de los niveles en la hemolinfa vía movilización de la glucosa desde el hepatopáncreas y reservas de glucógeno en músculo. Cheng *et al.*, (1999), sugiere que durante la muda de *Carcinus maenas*, se realiza una secreción transitoria de la hormona hiperglicemiante para estimular la entrada masiva de agua y de iones lo que provoca el aumento de volumen del cuerpo del organismo, fenómeno que acompaña la muda. En cangrejos, la entrada de agua ocurre principalmente a través de la glándula digestiva (Neufeld y Cameron, 1994) lo que sugiere que la hormona hiperglicemiante puede activar la bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPasa y el transporte de iones. (Lucu *et al.*, 2003).

2.1.3 Composición y osmoregulación de la hemolinfa

La hemolinfa es un tejido dinámico en el que la cantidad de sus componentes cambian durante el ciclo de la muda. La concentración del componente principal de la hemolinfa, la hemocianina, es baja en la postmuda y se eleva hacia la premuda (Hagerman, 1983);. Además, las concentraciones relativas de aminoácidos libres en la hemolinfa de varios crustáceos varían a lo largo del ciclo de muda (Mangum *et al.*, 1985).

Para estirar el nuevo y suave exoesqueleto, los crustáceos bombean agua en la postmuda, por lo tanto se espera que la actividad de una gama de procesos fisiológicos se relacione con la permeabilidad del tegumento y la regulación iónica que varía durante el ciclo de la muda. Como consecuencia de esta súbita introducción de agua al organismo, la concentración iónica aumenta y parece ser más baja durante la postmuda que en la premuda

(Ferraris et al., 1987). De la misma manera, la osmolaridad (mOsm kg^{-1}) es más baja en la postmuda (Mantel et al., 1975).

La capacidad osmorregulatoria es considerada un importante mecanismo de la adaptación ambiental en especies acuáticas particularmente en crustáceos. Algunos estudios han evaluado la capacidad osmorregulatoria de los crustáceos y se ha demostrado que ésta es sensible al amonio, a la disminución de oxígeno, a la presencia de metales pesados y a la salinidad (Charmantier et al., 1991).

Estudios encaminados a determinar la capacidad osmorregulatoria en relación con el estatus nutricional y el estadio de muda en organismos de aproximadamente 17 g de *P. stylirostris* (Lingot et al., 1999) y en *P. vannamei* (Charmantier, 1994) muestran que tanto la presión osmótica, y por tanto la capacidad osmoregulatoria varían con el estadio de muda de los camarones. La capacidad osmoregulatoria es máxima en los estadios C y D0 y mínima en los estadios próximos a la muda (D₃ y A) (Mantel y Farmer, 1983).

La hemocianina es la proteína, componente principal de la hemolinfa (95% de las proteínas del suero de la hemolinfa) (Sellos et al., 1997). Se sintetiza en las células F del hepatopáncreas (Lehnert y Jonson, 2002). Se ha examinado la concentración de la proteína de la hemolinfa en algunos crustáceos como en el camarón rosado *P. duorarum* (Burse y Lane, 1971), en el langostino *Macrobrachium rosenbergii* (Balazs et al., 1974), del camarón *P. japonicus* (Chen y Cheng, 1993) y del camarón tigre *P. monodon* (Ferraris et al., 1986). Estos estudios revelaron que los niveles de la proteína y de la hemocianina de la hemolinfa eran más bajos durante la etapa de postmuda y más altos durante la premuda. La hemocianina es un pigmento respiratorio que representa 60-93%, 64-84%, 81-88% y 60-77% de la proteína total en la hemolinfa de *P. japonicus*, *Crangon vulgaris*, *S. serrata* y *M. rosenbergii* respectivamente (Djangmah, 1970; Chen y Cheng, 1993; Chen y Chia, 1997; Cheng et al., 2001).

2.2 HIPOTESIS

El ciclo de la muda es la unidad básica partir de la cual se condiciona el crecimiento de los crustáceos. Los cambios que se verifican en los diferentes estadios del ciclo conducirán o no a remontar la crisis fisiológica que representa la ecdisis, que es un evento altamente demandante de energía. De esta manera:

Hipótesis 1

Dado que la obtención de la energía química (ATP) para el trabajo muscular, es dependiente de la combustión total de la glucosa (hasta CO₂) con la participación del oxígeno que es transportado por la hemocianina, se espera un aumento concomitante en los niveles de ambos metabolitos circulantes en la hemolinfa en la premuda para hacer frente al gasto energético durante la ecdisis.

Hipótesis 2

La glucosa, como osmolito circulante, aumentará la presión osmótica de la hemolinfa del camarón (para prevenir la dilución producida por la absorción de agua), la cual se reflejará en cambios en la capacidad osmótica, que estará regulada por los límites que establece la homeostasis de la hemolinfa.

Hipótesis 3

Aunque la glucosa circulante no proviene exclusivamente de las reservas de glucógeno, durante la premuda y producto de la acción de la hormona hiperglicemiante sobre el hepatopáncreas, se establecerá una correlación negativa entre las concentraciones de estas moléculas.

2.3 OBJETIVO:

Cuantificar la concentración de glucosa, hemocianina y capacidad osmótica en la hemolinfa y de las reservas de glucógeno en el hepatopáncreas, en los diferentes estadios de muda de camarón, incluyendo la ecdisis, como evidencia experimental de los mecanismos que el organismo desarrolla para la provisión de energía en el momento de la muda.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Material biológico

Se utilizaron 68 camarones juveniles de 8-12 g, aclimatados previamente a la temperatura y alimento durante 15 días. Se colocaron de manera individual en acuarios de 40L con 12 divisiones. Se mantuvieron alimentados con una dieta de 40% de proteína animal a una temperatura de entre 28.5 y 29.5° C.

A través de la observación en el microscopio del desarrollo setal en los urópodos se seleccionaron 13 camarones en estadio de premuda tardía (D₂) y se colocaron en acuarios de 40L. Se montó una guardia nocturna durante 2 noches para sacrificarlos en el momento posterior (< 5 min) a la ecdisis.

Los camarones restantes fueron transportados al laboratorio. Se colocaron en hieleras con agua de mar a una temperatura de 5° C por debajo de la que tenían en los acuarios, con la finalidad de reducir el estrés asociado a la captura y transporte. El transporte se realizó lo más cuidadosamente posible, evitando movimientos bruscos. Una vez en el laboratorio, se dejaron pasar de 5 a 10 minutos para que los organismos pudieran acondicionarse al cambio de intensidad de luz y a las condiciones del lugar.

Los camarones restantes también se sacrificaron y se determinó su estadio de muda a través de la observación directa del desarrollo setal en el urópodo. La identificación de los estadios de muda se realizó de acuerdo a lo descrito por Drach y Tchernigovtzeff (1967). modificada por Cuzón *et al.* (1972).

2.4.2 Procedimiento experimental

Una vez en el laboratorio, los organismos se extrajeron de la hielera evitando causarles sobresaltos, se eliminó lo más posible el exceso de agua y se procedió a la extracción de la hemolinfa pinchando con una jeringa el seno ventro-lateral del abdomen del camarón localizado en el primer segmento abdominal. La jeringa utilizada contenía aproximadamente 100 µL de solución anticoagulante frío (SIC-EDTA, 2-8° C) preparada de acuerdo al protocolo definido por Vargas-Albores *et al.* (1993) (450 mM NaCl, 10 mM

KCL, 10 mM EDTA-Na₂, 10 mM HEPES, pH 7.3) y justo antes de la extracción de la sangre, la solución anticoagulante se descartó completamente

La hemolinfa recién extraída se colocó sobre una porción de película parafilm[®], sostenida en una placa de gel refrigerante para mantener la muestra en frío. Inmediatamente después se tomaron submuestras para evaluar los metabolitos sanguíneos (glucosa), las reservas proteicas a través de la medición de la hemocianina y la presión osmótica. Se midió la presión osmótica del agua donde se transportaron los organismos al laboratorio.

Una vez extraída la hemolinfa, los organismos fueron pesados y medidos. A continuación se sacrificaron y se determinó su estadio de muda a través de la observación directa del desarrollo setal en el urópodo. La identificación de los estadios de muda se realizó de acuerdo a lo descrito por Drach y Tchernigovtzeff (1967), modificada por Aquacop (1975).

Se extrajo el hepatopáncreas para determinar las reservas energéticas a partir de la cantidad de glucógeno. El hepatopáncreas fue removido del organismo mediante una incisión en el cefalotórax, se pesó y se tomó una submuestra de 0.02 a 0.06 g de la glándula digestiva, la cual se colocó en un tubo Eppendorf (1.5 ml). El resto del hepatopáncreas se colocó en otro tubo. Ambos se introdujeron en nitrógeno líquido y posteriormente se mantuvieron en refrigeración a -40° C hasta su procesamiento.

2.4.2.1 Procesamiento de muestras

Presión osmótica

La presión osmótica se midió extrayendo, con un embolo, una pequeña porción de la hemolinfa recién obtenida, la cual se coloca en un micro-osmómetro (American Advanced Instruments). La capacidad osmótica (CO en mOsm/kg) se calculó como la diferencia entre la presión osmótica de la hemolinfa y la presión osmótica del medio externo (Charmantier *et al.*, 1989; Lignot *et al.*, 2000).

Hemocianina

Para evaluar la hemocianina se diluyeron 10 μL de muestra en 990 μL de agua destilada en una celda para espectrofotómetro y se leyeron en un espectrofotómetro con lámpara de UV, previamente calibrado, a una longitud de onda de 350 nm. El valor de absorbancia dio directamente la concentración de hemocianina en mmol/L.

Glucosa

Para la determinación de glucosa se extrajo el plasma de la hemolinfa, previamente diluido en el SIC-EDTA frío (2-8° C); por cada parte de hemolinfa se utilizan dos partes del anticoagulante frío.

La hemolinfa más anticoagulante se centrifugó a 2500 rpm durante 3 min a 4° C y se recuperó el sobrenadante que se colocó en tubos Eppendorf nuevos y marcados con la misma secuencia para identificar las muestras. Las determinaciones se realizaron en 20 μL de plasma mezclado con 200 μL de la solución reactiva (Kit Bayer-Sera_Pak Plus B01 4509-01), en un pozo de una microplaca.

La glucosa es transformada por la glucosa oxidasa en ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, este último en presencia de peroxidasa, oxida el sistema cromógeno (4-aminofenazona/fenol) convirtiéndolo en un complejo de color rosa.

De cada muestra se realizaron tres repeticiones. Una vez llena la placa inicia el tiempo de reacción, para la glucosa fue de 10 minutos. Las densidades ópticas fueron leídas en un lector de ELISA (BIO-RAD modelo 550) a una longitud de onda de 540 nm.

Se considera un blanco para eliminar la absorbancia presente en las sustancias ajenas a la reacción colorimétrica del metabolito con el reactivo. Para la glucosa, el blanco fue el SIC-EDTA.

La concentración del metabolito fue calculada usando una curva de calibración, integrada por una serie de seis diluciones que fueron preparadas a partir de una solución estándar que es el sustrato sobre el cual actúan las enzimas contenidas en la solución reactiva del kit

Glucógeno

La muestra de glándula digestiva (0.02 a 0.06 g) se homogeneizó con 200 μ L de ácido tricloroacético (TCA) al 5% por unos minutos. Posteriormente se centrifugó a 7000 rpm durante 6 minutos y del sobrenadante que resultó de la centrifugación se tomaron 100 μ L y se transvasó a un tubo Eppendorf, en el cual se colocaron previamente 500 μ L de etanol al 95%. La mezcla se homogenizó con ayuda de la pipeta.

Los tubos con la muestra se incubaron en una estufa a 37° C por 3 horas y posteriormente se centrifugó 7000 rpm durante 15 minutos, se desechó el sobrenadante. En este momento se prepararon el blanco y estándar. Se dispensaron 200 μ L por muestra (incluyendo blanco y estándar) en una microplaca de lector de ELISA con tres repeticiones por muestra, blanco y estándar y se leyó en un lector de microplacas (BIO-RAD modelo 550) a una absorbancia a 490 nm.

El blanco consistió de 200 μ L de fenol al 5%; 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. El estándar se preparó con 10 μ L del estándar comercial de glucosa, 200 μ L de fenol al 5% y 1 ml de ácido sulfúrico.

2.4.3 Análisis estadístico

Los valores obtenidos de capacidad osmótica, hemocianina, glucosa, glucógeno para los diferentes estadios de muda, fueron analizados de forma univariada utilizando un Análisis de Varianza de una sola vía. Posteriormente se aplicó una prueba de comparaciones múltiples HSD de Tukey para muestras con tamaños diferentes. Los datos de hemocianina, glucosa y glucógeno fueron transformados logarítmicamente ($\log(X+1)$) (Zar, 1999) para cumplir con el supuesto de normalidad y homocedasticidad (Hartley, Cochran y Bartlett). Para la glucosa y el glucógeno la transformación ayudó en la normalización y homogenización de las varianzas, no así para hemocianina, en donde no fue posible

normalizar los datos pero si se logró la homogenización de varianzas ($p=0.5727$). A pesar de lo anterior, los datos se analizaron con este método paramétrico en virtud de que el Análisis de Varianza está considerado como un método de análisis robusto a moderadas desviaciones de la normalidad, siempre que la distribución de frecuencias no sea multimodal (Underwood, 2001). Sokal y Rohlf (1995) establecen que las consecuencias de la no normalidad de los errores no son tan serias si se considera que las medias se ajustarán más a distribuciones normales que la distribución de las variables aleatorias mismas (como consecuencia del teorema del límite central). Posteriormente se aplicó una prueba de comparaciones múltiples de Diferencia Significativa Honesta (HSD) de Tukey para muestras con tamaños diferentes.

El conjunto de variables fue analizado con un análisis factorial tipo Q (Hair *et al.*, 2000), que arroja como resultado una matriz factorial que identifica individuos similares. Este tipo de análisis permite acomodar a las variables múltiples con el fin de comprender las relaciones complejas que no es posible ver con análisis univariados. El propósito principal del análisis factorial es definir la estructura subyacente en una matriz de datos. En los datos obtenidos se analizó la estructura de las interrelaciones (correlaciones) entre variables con la definición de una serie de dimensiones subyacentes comunes, conocidas como factores.

2.5 RESULTADOS

Capacidad osmótica

Los resultados de la capacidad osmótica (mOsm kg^{-1}) mostraron un comportamiento normal (Shapiro-Wilk, $p = 0.98443$) y las varianzas fueron homoscedásticas (Hartley, Cochran y Bartlett, $p = 0.3416$). El análisis de varianza aplicado a los datos de la capacidad osmótica resultó significativo ($p < 0.05$) (Tabla 2.1), haciendo evidente que la capacidad osmoregulatoria varía con el estadio de muda. En la Figura 2.1 se define claramente un patrón de comportamiento de esta variable en relación a los diferentes estadios del ciclo de muda. La capacidad osmótica tiene valores altos y homogéneos ($-200 \text{ mOsm} \times \text{kg}^{-1}$ en promedio $\approx 36\text{‰}$) en los estadios de premuda tardía (D_1'''), ecdisis (E) y postmuda temprana (A) y disminuye en los estadios intermedios.

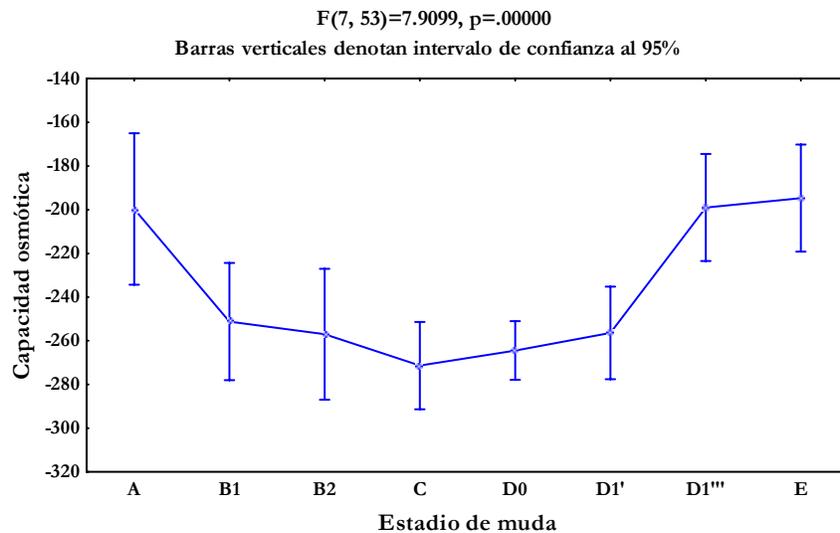


Figura 2.1.- Gráfico de medias con intervalos de confianza al 95% para la capacidad osmótica (mOsm kg^{-1}) de *L. vannamei* en relación a los estadios de muda

Gráficamente se definen 2 grupos (Figura 2.1): el primero con los estadios D_1''' , E y A; el segundo con B_1 , B_2 , C, D_0 y D_1' . Sin embargo, el análisis de comparaciones múltiples de Tukey determina que el estadio E forma un grupo homogéneo con el D_1''' , el cual resulta significativo ($p < 0.05$) con el grupo formado por los estadios C, D_0 y D_1' . Para el resto de los estadios no se encontraron diferencias significativas.

Hemocianina

Los valores transformados ($\log x+1$) de hemocianina (mmoles L^{-1}) con respecto a los diferentes estadios de muda resultó significativa (ANDEVA, $p < 0.05$) (Tabla 2.2). La distribución de los grupos homogéneos se muestra en la Figura 2.2, donde se observa la definición de dos grupos, uno representado por los estadios de postmuda temprana (A) a intermuda (estadio C) con valores menores al grupo que incluye los estadios de premuda y ecdisis (D y E).

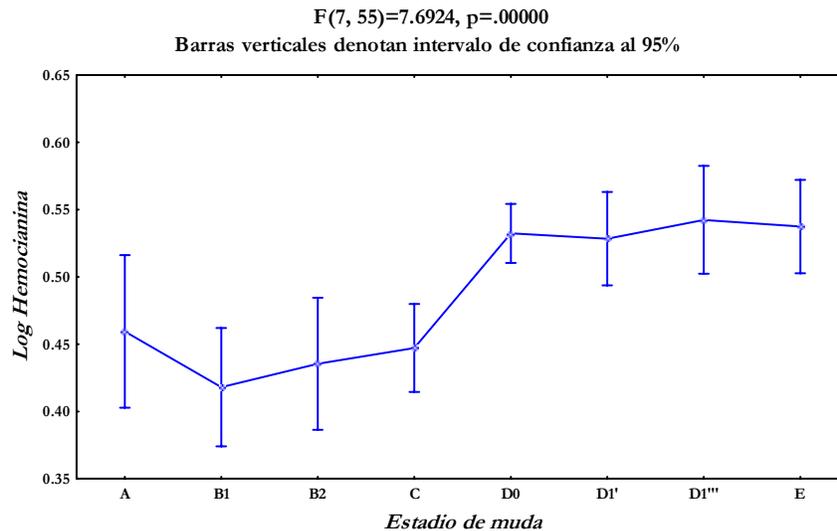


Figura 2.2.-Gráfico de los promedios de los logaritmos ($\log (X+1)$) con intervalos de confianza al 95% para la hemocianina (mmoles l^{-1}) en relación a los estadios de muda

La prueba de comparaciones múltiples de Tukey define los siguientes grupos homogéneos: 1) formado por los estadios D₀, D₁' , D₁'' y E y 2) por los estadios B₁ y C. Los estadios A y B₂ no presentan diferencias significativas con los demás.

Glucosa

La prueba de normalidad (Shapiro-Wilk, $p=0.91827$) y la de homogeneidad de varianzas (Hartley, Cochran y Bartlett, $p=0.1328$) fueron no significativas después de la transformación logarítmica ($\log (X+1)$) aplicada a la variable glucosa. Tomando en cuenta las consideraciones de Zar (1999) se procedió a realizar el análisis de varianza cuyos resultados muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los diferentes estadios de muda (Tabla 2.3). El patrón de distribución de los datos establece claramente una tendencia

a tener valores menores en estadios de intermuda (C) y premuda temprana (D₀ y D₁') con respecto a los demás estadios (Fig. 2.3).

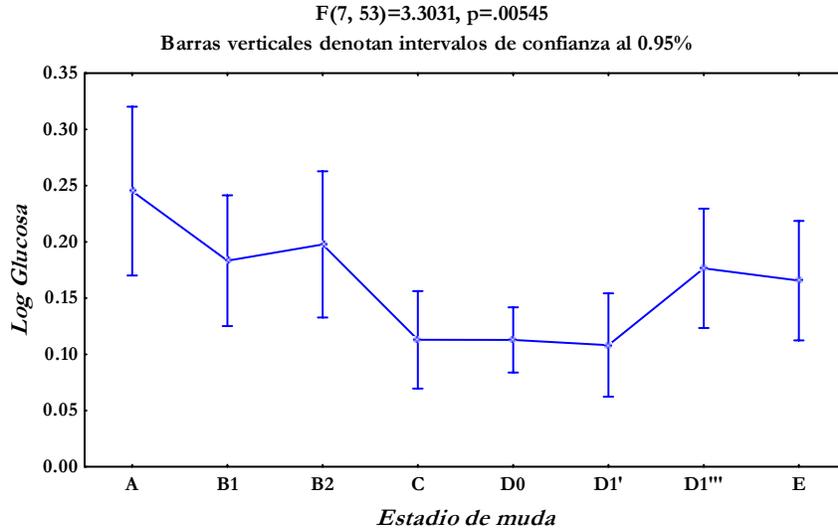


Figura 2.3.-Gráfico de promedios de los logaritmos ($\log(X+1)$) de los valores reales con intervalos de confianza al 95% para la glucosa (mg/L) en relación a los estadios de muda

Glucógeno

Los datos de glucógeno fueron transformados logarítmicamente ($\log(X+1)$) (Zar, 1999) con la finalidad de mejorar tanto la normalidad (Shapiro-Wilk, $p=0.91030$), como la homocedasticidad de las varianzas (Hartley, Cochran y Bartlett, $p=0.80123$). Los resultados del análisis de varianza muestran diferencias significativas ($p<0.05$) entre los diferentes estadios de muda (Tabla 2.4). El comportamiento de esta variable a lo largo del ciclo de muda no presenta un patrón específico de los valores de concentración en el hepatopáncreas. En este elemento de reserva, se observa una amplia dispersión de datos en cada estadio de muda (Figura 2.4), seguramente asociados al reducido tamaño de muestra.

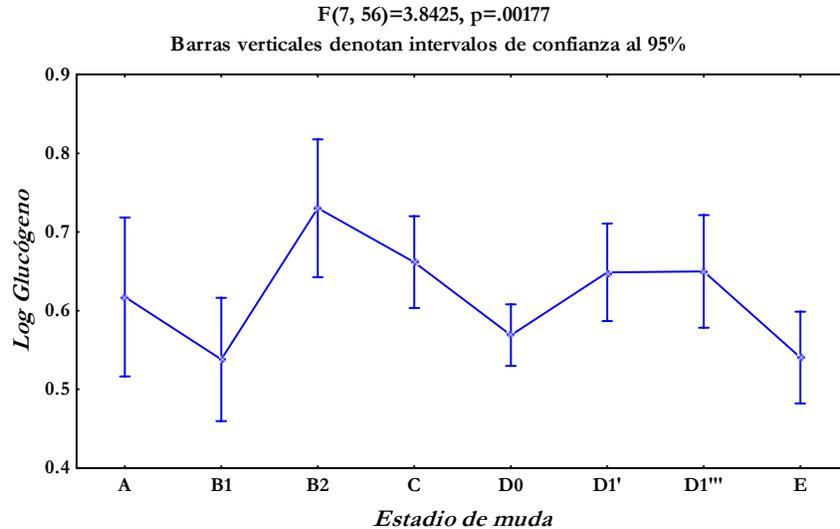


Figura 2.4.-Gráfico de promedios de logaritmos ($\log X+1$) de los valores reales con intervalos de confianza al 95% para el glucógeno (mg/g) en relación a los estadios de muda

Mediante la prueba de Tukey se determina que los estadios A, C, D₁' y D₁''' no son significativos. El estadio B₂ es el estadio con más diferencias significativas (B₁, D₀ y E).

Análisis Factorial

Para el análisis multivariado de factor se consideraron los valores obtenidos experimentalmente para la capacidad osmótica, hemocianina, glucosa y glucógeno, cuyo análisis univariado se presentó en la sección anterior.

La aplicación de este análisis tuvo dos propósitos: 1) identificar la estructura subyacente de las relaciones entre las variables mediante sus correlaciones y encontrar la manera de condensar esta información en una serie más pequeña de dimensiones compuestas (factores) con una mínima pérdida de información y 2) a partir de los resultados de un análisis factorial Q, basado en las intercorrelaciones de los datos, identificar grupos (definidos en este trabajo como estadios de muda), que muestran una patrón similar sobre las variables que se incluyen en el análisis.

El modelo seleccionado para la extracción de los factores fue el de componentes principales. Este análisis considera la varianza total y estima los factores que contienen

proporciones bajas de la varianza única (varianza asociada solamente con una variable específica) y en algunos casos la varianza del error (Hair *et al.*, 2000).

Se extrajeron 2 factores, que tienen eigenvalores mayores a 1 (criterio de raíz latente) (Hair *et al.*, 2000) y que juntos explican el 68.49% de la variabilidad en los datos originales (Tabla 2.1).

Tabla 2.1.- Eigenvalores y porcentaje de varianza para los factores extraídos

Num. de factor	Eigenvalores	Porcentaje de varianza	Porcentaje acumulado
1	1.68460	42.115	42.115
2	1.05517	26.379	68.494
3a	0.83264	20.816	89.310
4	0.42759	10.690	100.00

Para simplificar la explicación de los factores y poder maximizar la carga de una variable a un solo factor y a su vez hacer que el número de cargas altas sea el menor posible y de esta manera tener mayor certeza en la adjudicación de las variables a cada factor, los factores fueron rotados utilizando el método de rotación ortogonal VARIMAX (Hair *et al.*, 2000).

Las ecuaciones generadas por los dos primeros factores rotados son:

$$0.898 \times \text{cap_osmótica} + 0.047 \times \text{glucógeno} + 0.750 \times \text{glucosa} - 0.096 \times \text{hemocianina}$$

$$-0.101 \times \text{cap_osmótica} + 0.697 \times \text{glucógeno} + 0.388 \times \text{glucosa} - 0.842 \times \text{hemocianina}$$

En la tabla 2.2 se encuentran las cargas factoriales y de acuerdo a Hair *et al.*, (2000) para el factor 1, la capacidad osmótica y la glucosa son significativas para este factor ya que tienen valor de carga mayor a 0.5, de tal manera que estas dos variables son las que pueden explicar mejor al factor. Para el factor 2, el glucógeno y la hemocianina son las variables significativas.

Tabla 2.2.- Matriz de cargas factoriales después de la rotación Varimax

	Factor 1	Factor 2
Capacidad osmótica	0.898724	-0.101065
Glucógeno	0.047471	0.697227
Glucosa	0.750601	0.388047
Hemocianina	-0.096018	-0.842774

La tabla 2.3 muestra las comunalidades estimadas. Estas se interpretan como la proporción de varianza con la que contribuye cada variable a los factores extraídos (Hair *et al.*, 2000). Así, la capacidad osmótica contribuye o explica el 82% de la varianza de los factores, la hemocianina el 72%, la glucosa el 71% y el glucógeno explica menos de la mitad de la varianza, lo cual sugiere que esta variable pueda ser carente de explicación suficiente.

Tabla 2.3.-Comunalidades estimadas

Variable	Comunalidades estimadas
Capacidad osmótica	0.817919
Glucógeno	0.488379
Glucosa	0.713983
Hemocianina	0.719487

Al graficar los dos factores extraídos se obtiene la distribución de puntos mostrados en la Figura 2.5. En este gráfico se definen claramente, conglomerados de datos que asocian los diferentes estadios de muda. Al parecer estas 4 variables bioquímicas resultan suficientemente explicativas para definir las características que describen cada estadio de un ciclo de muda.

2.6 DISCUSIÓN

Capacidad osmótica

La osmorregulación es un importante mecanismo de adaptación ambiental en especies acuáticas, particularmente en crustáceos (Péqueux, 1995). Los resultados de presión osmótica en la hemolinfa y consecuentemente la capacidad osmoregulatoria de *L. vannamei* variaron con el ciclo de muda. El mínimo valor de capacidad osmótica, que evidencia una osmorregulación eficiente, se observó en el estadio C, se observaron valores bajos en B₁, B₂, D₀ y D₁ y valores máximos en D₁^{'''}, E y A. Esta tendencia coincide con lo reportado por Charmantier *et al.* (1994) en la misma especie y por Mugnier y Justou (2004) en *L. stylirostris*. Lignot *et al.* (1999) establece que la presión osmótica de la hemolinfa tiende a incrementarse en premuda y comienza a decrecer en postmuda. Esto implica que la diferencia entre el medio y la hemolinfa se reduce durante la muda y sugiere que existe una reducción de la permeabilidad del integumento (Hunter y Uglow, 1993).

Los camarones peneidos sometidos a altas salinidades (36‰) tienden a hipo-regular (hipo capacidad osmoregulatoria) (Lemaire, 2002), ya que la hemolinfa se encuentra alrededor de 20 ppm de salinidad. En estadios cercanos a la ecdisis (premuda tardía y posmuda temprana) se presentan cambios en la permeabilidad del tegumento y de la actividad de la bomba sodio-potasio-ATPasa localizada en las branquias posteriores (Charmantier *et al.*, 1994), lo que permite la entrada de agua e iones hacia el interior del organismo, provocando un aumento en su volumen corporal. Lucu y Towle (2003) sugieren que la hormona hiperglicémica de los crustáceos puede ser la responsable de la inducción de la actividad de esta bomba.

Los datos del presente estudio muestran que a partir del estadio D₁^{'''} y hasta A, aumenta la hipo-regulación como respuesta a la entrada de agua y sales del medio producto del proceso de absorción de agua previo a la muda. Esto promueve tanto la ampliación del espacio extracelular como la dilución de la concentración de iones de la hemolinfa, la cual debe ser restaurada a través de la bomba Na-K-ATPasa. En el estadio de intermuda (C) se observa el mínimo valor de capacidad osmótica, que es la fase en donde el organismo secreta activamente iones al medio, se reduce la permeabilidad del tegumento y la hipo-

osmoregulación disminuye conforme se sustituye el agua por biomasa (Ferraris *et al.*, 1987).

Hemocianina

La hemocianina es una proteína multifuncional de gran importancia en los crustáceos debido a que tiene diferentes roles en el organismo. Los niveles de hemocianina circulante en la hemolinfa son afectados por los niveles de proteína en la dieta, por el ayuno (Rosas *et al.*, 2004), por los niveles de amonio y nitrito en el agua y por el ciclo de muda (Chen *et al.*, 2004). La muda fue uno de los principales factores intrínsecos que afectaron los niveles de hemocianina en *P. japonicus* (Chen y Cheng, 1993), y en el camarón rosado *P. duorarum* (Burse y Lane, 1971). Los resultados obtenidos para *L. vannamei* en el presente trabajo muestran que inmediatamente después de la muda, existe una disminución significativa de la hemocianina, resultado del proceso de dilución asociado a la entrada de agua por la absorción que el camarón lleva a cabo al mudar (Cheng *et al.*, 2002). El efecto de dilución de la hemocianina al momento de la ecdisis, se ha observado en la langosta *H. vulgaris* (Glynn, 1968) y en *L. vannamei*, en donde la dilución fue de tal orden que redujo la concentración de esta proteína en la hemolinfa de 2 a 3 veces (Cheng *et al.*, 2002). Los valores de concentración de la hemocianina que se reportan en este trabajo durante los estadios de postmuda e intermuda, se pueden considerar normales, debido a que en estas etapas existe una baja producción de esta proteína en las células F del hepatopáncreas, las cuales en estos estadios, sintetizan principalmente las enzimas digestivas (Lehnert y Jonson, 2002) que son las encargadas del desdoblamiento del alimento y por consecuencia la liberación de los aminoácidos que serán llevados a las células del músculo donde serán utilizados para la síntesis de tejido nuevo promoviendo el crecimiento en estos estadios de muda.

En premuda, a partir del estadio D₀, los resultados obtenidos muestran que la hemocianina experimenta un aumento significativo y se mantiene a esta concentración hasta la ecdisis, resultado que coincide con lo reportado por Djangmah y Grove (1970) para *C. vulgaris*, por Chen y Chia, (1997) en el cangrejo *Scylla serrata*, por Cheng, et al. (2001) en el langostino *Macrobrachium rosenbergii* por Hagerman (1983) en la langosta *Homarus gammarus* y

Mangum *et al.* (1985) en el cangrejo azul *Callinectes sapidus*. Lo anterior está asociado al aumento de la síntesis de hemocianina en las células F del hepatopáncreas, que justo al iniciar la muda dejan de producir las enzimas digestivas (Lehnert y Jonson, 2002), que en esta fase son poco utilizadas porque el camarón experimenta una reducción en el consumo de alimento en su preparación para la muda.

Esta proteína como pigmento respiratorio, establece un mecanismo para cubrir la demanda de oxígeno y hacer frente al gasto energético que los camarones experimentarán al momento de la muda. Carvalho y Phan (1998) establecen que el patrón general de la rutina respiratoria del camarón *Xiphopenaeus kroyeri* indica bajos niveles de consumo de oxígeno durante los estadios C/D₀, con un incremento en los estadios de muda tardía (D₁ y D₂) y hasta la ecdisis. En animales que mudaron durante este experimento se observó que la tasa de respiración incrementa en un 40% poco después de la ecdisis. Lo anterior, así como los datos observados en este estudio, sugieren que la concentración de la hemocianina está asociada fuertemente, de manera compensatoria, al gasto energético en el momento de la muda. Es justo en ese instante en que el camarón utiliza la energía aerobia (oxígeno) y genera un déficit energético que posteriormente será repuesto por actividad metabólica anaeróbica a través de la utilización de la glucosa, una vez que se han reestablecido las condiciones fisiológicas normales.

Glucosa circulante

La glucosa es un metabolito que participa activamente en el metabolismo energético de los crustáceos. Los resultados muestran una amplia variabilidad en cada estadio, motivo por el cual sólo los valores obtenidos en el estadio D₀ resultaron ser significativamente distintos al estadio A. Ferraris *et al.*, (1986) en *P. monodon* y Cheng *et al.* (2002) en *L. vannamei* reportan que el ciclo de muda no tuvo efecto ni en la glucosa ni en la hemocianina.

La secreción balanceada de varias hormonas es una parte esencial del control de la homeóstasis de la glucosa, en particular la hormona hiperglicemiante de crustáceos juega un importante papel en la regulación de la glicemia por incremento de los niveles de glucosa en la hemolinfa vía movilización de la D-glucosa de las reservas de glucógeno del

hepatopáncreas y del músculo (Verri *et al.*, 2001). Los resultados obtenidos en este trabajo ponen en evidencia que la glucosa circulante está relacionada con las reservas de glucógeno del hepatopáncreas de manera parcial durante el periodo de premuda tardía a posmuda temprana. En el estadio A se registran los valores promedio más altos de glucosa en hemolinfa en todo el ciclo de muda, que coinciden con una baja en la concentración del glucógeno en el hepatopáncreas del estadio D₁” al estadio E, como resultado de la acción que la hormona hiperglicemiante realiza sobre las reservas de glucógeno por la ruta glucolítica para producir glucosa momentos después de la muda. La concentración de glucosa en la hemolinfa está regulada y vinculada a las variaciones de esta hormona, la cual ejerce su control tanto en la síntesis de glucógeno como en la liberación de glucosa (Santos y Keller, 1993). Esta estrategia es desarrollada por el camarón, para hacer frente a la deuda energética que el organismo sufre después de la ecdisis, en donde tuvo que hacer uso del metabolismo aeróbico para liberarse de su exoesqueleto. Lo anterior es reforzado por la descripción de Webster *et al.* (2000) con respecto a la presencia, en la premuda, del péptido precursor de la hormona hiperglicemiante y de la propia hormona en las células endócrinas del intestino del cangrejo *Carcinus maenas*, lo que sugiere que la hormona y su péptido precursor son secretados a la hemolinfa durante el ecdisis, lo cual está relacionado con la entrada de agua en el momento de la muda.

Estos altos niveles de glucosa se mantienen hasta la premuda tardía (B₂), donde el camarón ha normalizado su consumo alimento y con este la síntesis de glucosa derivada de la transformación del almidón proveniente de la dieta, con la intervención de las enzimas α -amilasa, la α -glucosidasa y la hexoquinasa (Gaxiola *et al.*, 2005), pero al mismo tiempo se está formando glucógeno para la construcción del músculo y solo se produce glucosa a partir de los aminoácidos (Dall, 1990) a través de los mecanismos de neoglucogénesis, que es una de las alternativas del animal para la obtención de glucosa (Verri, *et al.*, 2001). Esto se refleja en intermuda y premuda temprana, donde el camarón experimenta una reducción en la concentración de glucosa en la hemolinfa, a pesar de que este periodo es de alta actividad alimenticia para la sustitución de agua por biomasa, de acuerdo a lo reportado para *L. vannamei* por Chang *et al.*, (1988). Posiblemente esta tendencia esté relacionada con la utilización del metabolito para la formación de ácidos nucleicos a través de la ruta de

las pentosas-fosfato, que esencialmente proporcionan moléculas para la síntesis de nucleótidos y poder reductor para las rutas biosintéticas (Rosas y Carrillo, 2006), ya que la glucosa tiene fundamentalmente dos funciones: como sillares de glucosamina para la quitina y como reserva para la respuesta inmediata ante situación de estrés.

Glucógeno

El glucógeno es una molécula importante para los camarones porque es una fuente para la producción de N-acetil glucosamina, sillar principal para la síntesis de quitina, que es una molécula de la cual está formado el exoesqueleto (Gwinn y Stevenson, 1973). En el presente estudio, el glucógeno presenta una amplia variación a lo largo del ciclo de muda, que depende fundamentalmente del uso que el organismo está haciendo de esta reserva para la formación de la nueva cutícula y de la síntesis de glucosa. En premuda (D_1' y D_1''), la concentración de glucógeno en el hepatopáncreas experimenta un aumento, lo cual coincide con lo reportado por Cuzón *et al.*, (2003) en relación a que la producción de glucógeno en la glándula digestiva aumenta, indicando su preparación para participar en la formación de la nueva cutícula con la síntesis de quitina (Loret, 1993), así como reserva de la glucosa para situaciones de estrés.

Para el estadio E, la concentración de glucógeno disminuye y no muestra diferencias con el estadio A, lo que sugiere que el organismo hizo uso de las reservas de esta molécula en el hepatopáncreas para enfrentar el proceso de ecdisis, reservas que como se observó anteriormente, fueron utilizadas para la formación de glucosa así como en la síntesis de quitina para la nueva cutícula, en donde el glucógeno es esencial (Chan *et al.*, 1988).

Los resultados en este trabajo, muestran que el camarón aumenta su tasa alimenticia en postmuda tardía (B_2), momento en el cual se observa un pico de glucógeno que paulatinamente irá bajando como respuesta a la utilización de esta molécula para la formación del nuevo exoesqueleto a través de la degradación del glucógeno para formar glucosamina que será transportada a la hipodermis (Santos y Keller, 1993). Esta tendencia a disminuir su concentración está asociada a que su síntesis es fundamental en el crecimiento

del organismo (Rosas *et al.*, 2006) que se lleva a cabo principalmente durante la intermuda (C).

Análisis Multivariado:

El análisis de factor resultó ser adecuado para la extracción efectiva de la información a través de la covariabilidad de los datos obtenidos experimentalmente. Hizo evidente relaciones que no eran obvias mediante la simple descripción de los datos originales, generando agrupaciones naturales entre los individuos que compartían características similares, definiendo así los diferentes estadios de muda.

En la Figura 2.5 se muestran las relaciones que existen entre las cuatro variables en estudio, con lo que se obtuvo una mejor comprensión de la estructura de interdependencia de los valores de cada variable en la descripción de cada estadio de muda. Los cambios fisiológicos y bioquímicos que experimentan los camarones en los diferentes estadios de muda, determinan patrones en las concentraciones de las diferentes variables que subyacen a una simple descripción de las tendencias univariadas. Es preciso, además, que se incluya un mayor número de variables para que la descripción de los cambios bioquímicos que sufren los organismos en su tránsito por los distintos estadios de muda grupos sea más completa.

Como se mostró anteriormente, la capacidad osmótica aumenta en la premuda debido al ingreso de agua por las branquias y por el intestino, promovido por una reducción de la permeabilidad del integumento (Hunter y Uglow, 1993). Este proceso mecánico promueve que se desprenda la cutícula vieja que se expulsará en la ecdisis. La hemolinfa se diluye y la diferencia con el medio externo es mayor, por lo que la capacidad osmótica se ve comprometida ya que se tiene que invertir mayor trabajo osmótico, que requiere energía en forma de ATP. Sin embargo la coincidencia del aumento de glucosa circulante en el mismo periodo puede ser la estrategia del organismo para ahorrar energía, la cual será canalizada a otros procesos como lo es la ecdisis.

Esta covariabilidad de la glucosa y la capacidad osmótica, son indicadoras de la adaptación bioquímica para la regulación homeostática, que de no ser así, podría verse amenazada por el ingreso súbito de agua justo en el momento que se lleva a cabo la muda. De esta manera, el factor 1 definido por las variables de mayor carga (capacidad osmótica y glucosa), se podrá llamar homeóstasis. La homeóstasis es un eficiente mecanismo de La regulación eficiente de la glucosa en la hemolinfa, se lleva a cabo a través de la acción de la hormona hiperglicemiante que permite el mantenimiento de la homeóstasis. Por lo que se puede sugerir que la activación del proceso de absorción de agua en premuda está siendo controlado hormonalmente a través de esta hormona, que promueve la actividad de la bomba sodio-potasio-ATPasa en el momento de la muda (Charmantier *et al.*, 1994). Esto permite la entrada de agua e iones hacia en interior del organismo y consecuentemente se experimenta un aumento del volumen corporal.

En el factor 2, las variables de mayor carga son hemocianina y glucógeno. El glucógeno en el hepatopáncreas tiene una tendencia a acumularse en el estadio D₁' con la finalidad de que en la premuda tardía sea utilizado como reserva energética en el momento de la ecdisis. En este momento, el hepatopáncreas inicia la síntesis de hemocianina en las células F y comienza a liberarse hacia la hemolinfa, aumentando en esta su concentración. Las demandas energéticas del animal en su preparación para el momento de la muda, permiten establecer una relación directa con el incremento de hemocianina en sangre a partir de la premuda temprana y el aumento de glucógeno en el hepatopáncreas . Estos cambios son necesarios para hacer frente a la demanda de oxígeno que se requiere para el momento de la muda. Los resultados de este trabajo permiten definir que el factor 2 pueda ser el resultado dinámico de las reservas en el hepatopáncreas.

La comunalidad asociada al glucógeno (0.4884), que es la proporción de varianza con la que contribuye esta variable al factor, sugiere que esta variable tiene una aportación limitada para explicar el factor.

CAPITULO 3. MODELACIÓN DEL PROCESO FISIOLÓGICO DE MUDA

En este capítulo se presenta el sub-modelo de muda en el que se integra toda la información de los diferentes procesos fisiológicos involucrados en la muda obtenida experimentalmente. Los coeficientes fisiológicos, las relaciones funcionales y las tasas de cambio de los parámetros del módulo, se obtuvieron utilizando herramientas estadísticas y matemáticas.

3.1 ANTECEDENTES

La modelación es un proceso de extracción de las propiedades del sistema que consideramos esenciales para abordar un problema de investigación. Un modelo matemático es una abstracción de la realidad, construido de manera simplificada, que está relacionado con una parte de la realidad y creado para un propósito particular (Bender, 1978).

Para la construcción de un modelo se deben considerar constantes y funciones externas, también llamadas variables exógenas, parámetros, entradas o variables independientes. Los procesos que el modelo intenta explicar son variables endógenas, salidas o variables dependientes. La terminología depende del área en la que se aplicará el modelo, sin embargo parámetro-independiente-dependiente es el uso matemático estándar. La elección apropiada de las variables dependientes es esencial dado que se debe intentar explicar los procesos que deben explicarse. Frecuentemente esta elección es relativamente clara pero se debe ser cuidadoso. La definición de las variables y sus interrelaciones constituye los supuestos del modelo, así el modelo puede ser usado para dar conclusiones o hacer predicciones (Bender, 1978).

La modelación es un proceso interactivo que debe ser revisado, comparado y adecuado a la realidad que se desee representar. Cuando un modelo se simula en la computadora, cada elemento que lo conforma debe estar definido por sus condiciones iniciales y el programa trabaja sobre las respuestas del sistema de acuerdo a las relaciones especificadas entre elementos. Estas condiciones iniciales se establecen con información derivada de

mediciones experimentales, búsquedas bibliográficas, información empírica o supuestos fundamentados y razonables.

Los modelos matemáticos ayudan a expresar o comunicar características de importancia de procesos que no se manifiestan visiblemente, tienen una función de síntesis tanto en el sentido descriptivo como en el explicativo. Pueden adoptar la función de hipótesis y en ocasiones, cuando se trata de procesos biológicos no muy complicados y modelos sencillos se pueden adelantar predicciones. En la modelación se mantiene el principio básico de la simplicidad, modelos muy complejos tienden a ser más difíciles de entender que la realidad misma (Bojórquez y Esquivel, 1997).

Una vez construido el modelo, se especifican las condiciones iniciales del sistema para poder iniciar la simulación del comportamiento de las diferentes variables del modelo sobre el tiempo. La simulación por computadora es una imitación del comportamiento del sistema que se obtiene mediante cálculos numéricos. Esta simulación puede influenciar el proceso de aprendizaje cuando se combina con la experimentación real, a través de la adquisición de un pensamiento crítico y una metodología que aborde problemas complejos, enfocado hacia la toma de decisiones.

3.1.1 Fases de la modelación

De acuerdo con Grant (1986), para desarrollar un modelo se deben considerar las siguientes fases:

1) Formulación del modelo conceptual

- Limitación del sistema de interés.
- Establecimiento de las variables de estado.
- Categorización de los componentes dentro del sistema de interés.
- Identificación de las relaciones entre los componentes de interés.
- Representación formal del modelo conceptual.

2) Formulación del modelo lógico

- Definición de variables y sus relaciones lógicas.
- Control de los flujos de entrada y salida.
- Interacciones entre los componentes y/o módulos propuestos.

3) Establecimiento del modelo físico a través de la especificación cuantitativa del mismo

- Selección de las ecuaciones que definen las relaciones funcionales y la estructura cuantitativa general para el modelo.
- Presentación formal y codificación en la computadora de las ecuaciones del modelo.
- Parametrización del modelo con datos obtenidos experimentalmente.
- Presentación formal y codificación en la computadora de las ecuaciones modelo y ejecución de la simulación de la línea de referencia.

4) Validación del modelo.

- Examinar la capacidad de dirección del modelo enfocado al problema de interés
- Examinar el carácter razonable de la estructura del modelo y los mecanismos individuales del modelo.
- Examinar el carácter razonable cualitativo del comportamiento del modelo completo.
- Examinar la correspondencia cuantitativa entre el comportamiento modelo completo y el comportamiento real del sistema.
- Análisis de la sensibilidad del modelo.

3.1.2 Modelación del crecimiento del camarón

El éxito de la acuicultura del camarón radica en el conocimiento de los aspectos biológicos involucrados en el crecimiento en condiciones de cultivo. El entendimiento de los procesos fisiológicos, metabólicos y bioquímicos, que intervienen en el crecimiento de un organismo, permite modelar predictivamente esta expresión.

Estos modelos proporcionan información más detallada respecto a procesos fisiológicos y a su cuantificación en términos bioenergéticos. La simulación del crecimiento individual se

puede utilizar también para estudiar la dinámica de la población con el desarrollo de modelos que predicen el crecimiento poblacional y la biomasa en un ecosistema dado. También son útiles para la planeación y el manejo de la acuicultura, dado que proporcionar estimaciones del crecimiento condicionadas a diferentes factores y no limitan la selección de las condiciones para mejorar el potencial de crecimiento (Franco et al., 2006).

Los esfuerzos por desarrollar un modelo de simulación para el crecimiento de crustáceos en general, se han enfrentado a la problemática de su crecimiento discontinuo regulado por el ciclo de muda. En los camarones peneidos, los ciclos de muda tienen duración de pocos días o semanas, dependen de la especie y del tamaño del organismo, así como de factores ambientales como luz, temperatura, salinidad, nutrición, cantidad y calidad del alimento y tiene influencia en la morfología, fisiología y comportamiento de estos animales (Vega-Villasante *et al.*, 2000). Los peneidos, como otros crustáceos incrementan su talla en una serie de pasos: un rápido incremento en la ecdisis seguida de un periodo de poco o nulo crecimiento hasta que ocurre la siguiente ecdisis (Dall *et al.*, 1990).

Teóricamente la descripción del incremento de peso en cada muda y el periodo de tiempo de cada intermuda se pueden relacionar para describir el crecimiento en términos de la talla en función del tiempo y de la edad. En la práctica, se ha considerado el crecimiento de los peneidos como un proceso esencialmente continuo debido a que los periodos de intermuda son usualmente del orden de días o semanas, de tal modo que se suavizan las funciones definidas por los saltos en cada evento de muda en periodos más largos de tiempo (Dall *et al.*, 1990). Así, las experiencias de algunos autores en la descripción matemática y simulación del crecimiento de los camarones peneidos se basan en modelos utilizados para peces como las ecuaciones de crecimiento de Von Bertalanffy y de Gompertz. López Martínez *et al.* (2003), realizaron una estimación del crecimiento del camarón en el Golfo de California en los años de 1978-1994 utilizando este modelo de crecimiento. Cady (2003), compara la duración de la fase de intermuda con una serie geométrica para once crustáceos de diferentes especies, sugiere que la progresión geométrica de los intervalos de tiempo se ajusta a una función gnomónica discreta de crecimiento. Esta función propuesta puede ser compatible con el modelo de Von Bertalanffy y considerarlo como un proceso

continuo por el alto número de mudas por año. López-Tellez *et al.* (2000) estiman el crecimiento de postlarvas de camarón rosado *Farfantepenaeus duorarum* en estanques rústicos, los parámetros de la ecuación de crecimiento de von Bertalanffy los obtuvieron por el método de Beverton y Holt.

La descripción de las diversas etapas de desarrollo de los peneidos, demuestra que la estructura típica de crecimiento de los crustáceos es de forma sigmoidea. El uso del modelo curvilíneo de Von Bertalanffy en la mayoría de las estimaciones del crecimiento refiere a las últimas etapas de desarrollo de los camarones después del punto de inflexión e incluye un cambio en la tasa de crecimiento (Dall *et al.*, 1990). Sin embargo, estas ecuaciones no consideran que la acumulación de biomasa en los camarones está en función al número de mudas y al aumento de talla en cada muda, lo que define un crecimiento a saltos o discontinuo.

Algunos otros intentos de modelación han sido sólo a nivel descriptivo y no toman en cuenta todos los procesos fisiológicos involucrados en el crecimiento del camarón. Franco *et al.* (2006), desarrollaron un modelo individual de crecimiento para camarones peneidos simulando procesos fisiológicos como: ingestión, asimilación, producción de heces, respiración y reproducción de hembras. El modelo involucra la cuantificación de los procesos implicados en el crecimiento y también examina el efecto de la disponibilidad del alimento y de la temperatura del agua en el peso final del camarón. La simulación reproduce el patrón típico del crecimiento de camarones peneidos, caracterizado por un aumento rápido del peso durante las etapas tempranas de vida, alcanzando una longitud asintótica en adultos. Sin embargo, este modelo no considera las discontinuidades en el crecimiento provocadas por el efecto de la muda.

A partir de un modelo bioenergético para la tilapia, desarrollado por Machiels (1987) y posteriormente adaptado por Van Dam y Penning de Vries (1995), Mishra *et al.* (2002), desarrollaron un modelo bio-energético de crecimiento para camarones peneidos. Esta propuesta se subdivide en 6 submodelos: 1) muda, 2) consumo de alimento, 3) digestión y biosíntesis, 4) energía de metabolismo, 5) oxidación y 6) crecimiento. Este modelo asume

valores de los parámetros, tomados de la literatura, de varias especies de camarón. Esto confiere al modelo fallas en cuanto a la estimación real del proceso final de crecimiento, ya que por ejemplo se asume que todos los camarones se alimentan durante la noche, sin considerar la edad del organismo y la especie. Particularmente en el módulo que describe el ciclo de muda se asume que todos los camarones dejan de alimentarse dos días antes y uno después de cada muda, lo cual no es real porque este fenómeno también está en función de la talla y de la especie. Sin embargo, el modelo conceptual es valioso y se retoma en el presente trabajo con la finalidad de afinar algunos de estos aspectos y obtener datos experimentales reales y completos para una misma especie que permitan la redefinición y reparametrización, en este caso, del módulo de muda propuesto.

3.2 OBJETIVOS

- Generar conceptualmente el sub-modelo de muda que pueda integrarse a un modelo de crecimiento de camarones peneidos basado en los procesos fisiológicos involucrados en la muda.
- Sintetizar la información obtenida experimentalmente del proceso fisiológico de muda, en el sub-modelo matemático que describe este proceso
- Simular el crecimiento del camarón con énfasis en el ciclo fisiológico de muda

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

El sub-modelo de muda es uno de los 5 módulos que conforman el modelo general de crecimiento individual de un camarón peneido. Este modelo pretende cuantificar los procesos fisiológicos más importantes involucrados en el crecimiento del camarón. En este trabajo se hace particular énfasis en los procesos que ocurren en un ciclo de muda y afectan directamente a esta respuesta. La propuesta, a nivel conceptual del modelo general, se basó en el balance energético de los crustáceos utilizando una experiencia previa de modelación bioenergética del crecimiento de un camarón peneido desarrollada por Mishra *et al.* (2002).

Visión global del modelo conceptual de crecimiento

Los siguientes son los módulos o sub-modelos que describen los diferentes procesos fisiológicos involucrados en el crecimiento del camarón, están interrelacionados entre si y

conforman la primera propuesta del modelo general utilizada para el desarrollo del presente trabajo (Figura 3.1).

1. Módulo de muda (Figura 3.2)
2. Módulo de consumo de alimento
3. Módulo de digestión y biosíntesis de proteínas.
4. Módulo de metabolismo de la energía
5. Módulo de crecimiento

Los valores iniciales o las relaciones funcionales de las variables del modelo en un inicio se tomaron de información reportada en la literatura, la cual se ha sustituido paulatinamente con resultados experimentales. Sin embargo, la modelación del crecimiento es un proceso que integra toda la información de los diferentes módulos, entre los cuales existe una fuerte interacción y dependencia. De manera que se ha modificado la estructura inicial del modelo, dependiendo de la información experimental obtenida en los diferentes módulos, incorporando o eliminando variables y estableciendo nuevas relaciones entre ellas. Con lo anterior, ha sido posible responder a hipótesis inicialmente planteadas y establecer nuevas hipótesis.

Este modelo fue construido utilizando STELLA, una herramienta de programación visual que proporciona un marco de referencia y una interfase gráfica de usuario para la observación e interacción cuantitativa de las variables de un sistema. Los bloques de construcción en STELLA son stock, flujo, convertidor y conector. El stock representa las variables de estado, que están interconectadas por flujos de entrada y salida que pueden ser tasas de cambio o constantes. Los flujos se definen y son controlados por los convertidores. El valor de las constantes del convertidor aislado, define la entrada externa al modelo, calcula las relaciones algebraicas y sirve como un depósito para las funciones gráficas. El conector enlaza los diferentes elementos del modelo (Mishra *et. al.*, 2002).

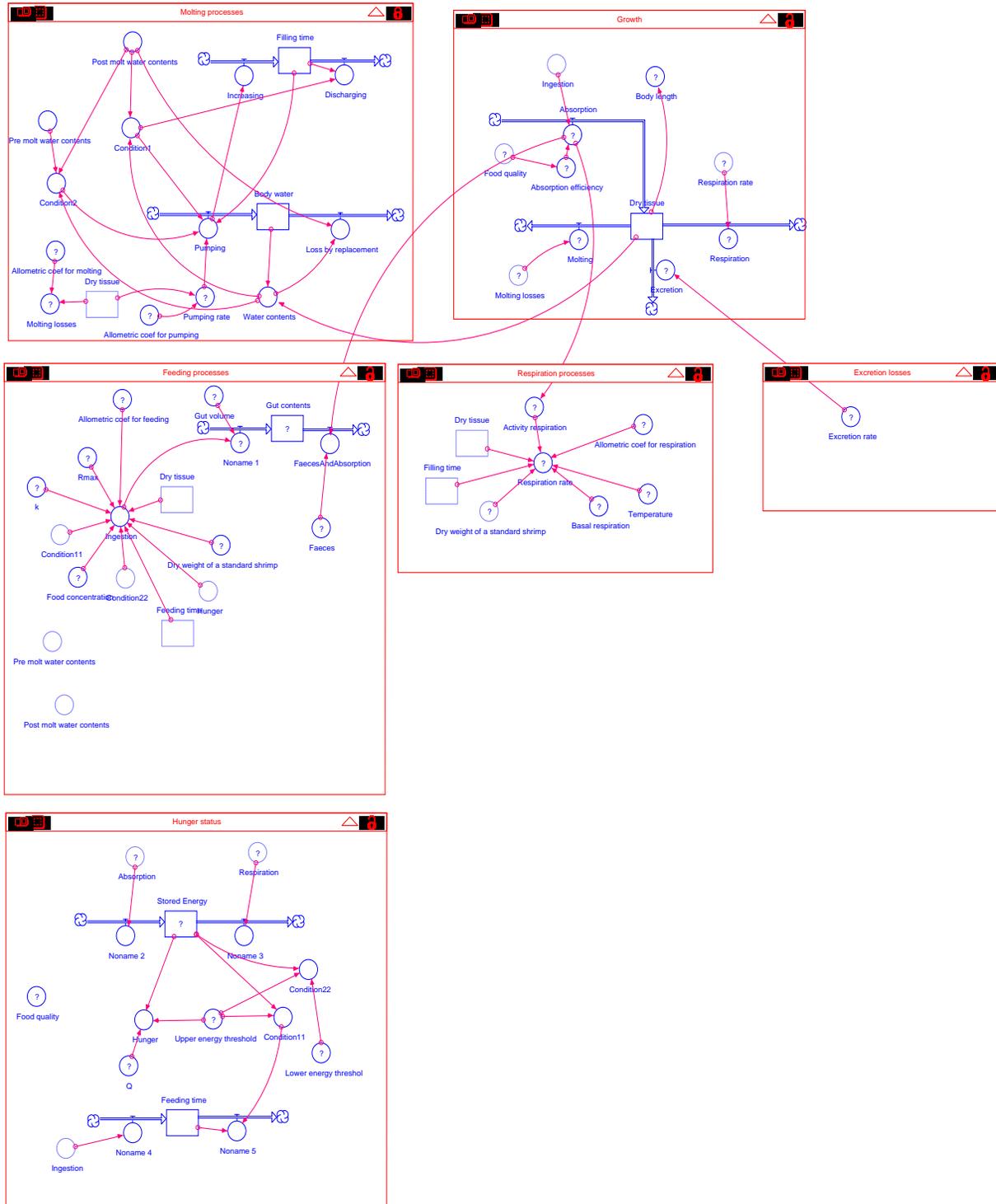


Figura.3. 1.- Esquema conceptual del modelo dinámico de crecimiento individual del camarón

Los componentes del sistema interactúan entre ellos, dando paso a un proceso de retroalimentación. Las funciones y los coeficientes fisiológicos obtenidos experimentalmente se introdujeron en el modelo a través de convertidores que son estructuras que toman datos de entrada y los manipulan para convertirlos en señales de salida.

Parametrización del sub-modelo de muda

La propuesta inicial del sub-modelo de muda se muestra en la Figura 3.2.

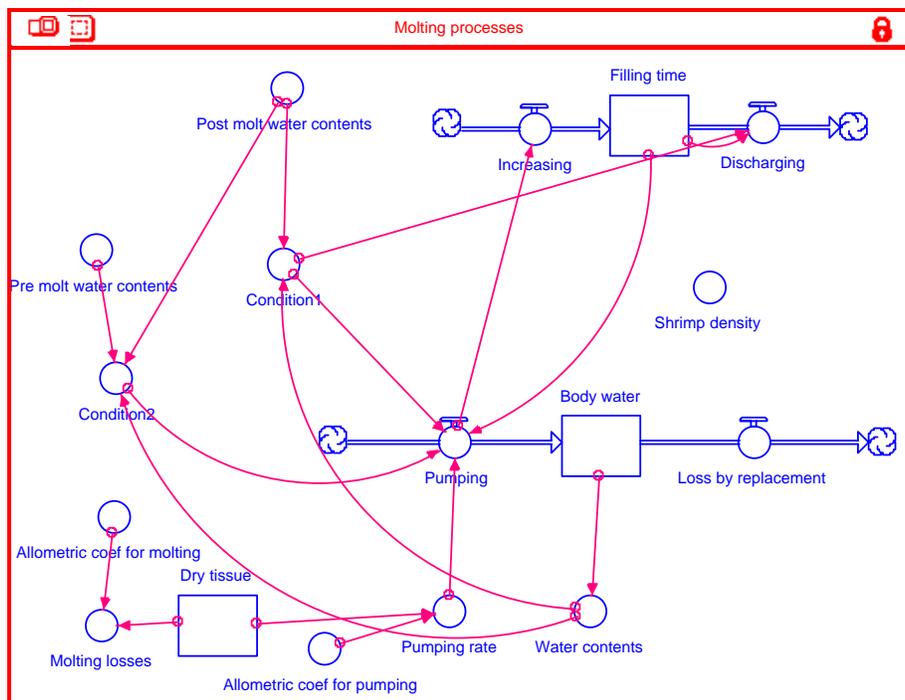


Figura 3.2.- Sub-modelo del proceso fisiológico de la muda

La parametrización de este sub-modelo se realizó utilizando al camarón peneido *Litopenaeus vannamei* como modelo experimental en etapas de juvenil temprano a adulto. Los coeficientes fisiológicos y tasas de cambio, obtenidas experimentalmente, relacionadas con la frecuencia de muda, la cantidad de agua bombeada durante la postmuda y, tanto el tiempo como la cantidad, en que los organismos reducen el consumo de alimento durante las fases de pre y postmuda, fueron incorporadas al sub-modelo. La información experimental de la relación entre la duración del ciclo muda y el peso de los organismos y

el incremento en peso entre una muda y otra, permitieron el ajuste, tanto de las variables involucradas en el módulo de muda, como de las de otros módulos que influyen en el crecimiento.

3.4 RESULTADOS

El crecimiento de un camarón peneido, como objetivo final de esta propuesta de modelación, depende de cada uno de los parámetros involucrados en cada módulo del modelo general. Es difícil que un módulo “corra” de manera independiente simulando solamente un proceso fisiológico. Sin embargo, conservando algunas relaciones y valores anteriormente establecidos en otros módulos, se propone en este trabajo, una simulación del crecimiento en función al proceso de muda, considerando algunos supuestos básicos establecidos para la construcción de este módulo, como que el crecimiento del camarón está firmemente enlazado con el proceso de muda, ya que uno de los factores más importantes en la activación de este proceso es la absorción de agua, que de alguna manera también está regulando la cantidad potencial de biomasa que el camarón acumulará en cada intermuda.

Con la incorporación de la información obtenida experimentalmente, el sub-modelo de muda propuesto inicialmente, sufrió algunos ajustes. La propuesta final se presenta en la Figura 3.3.

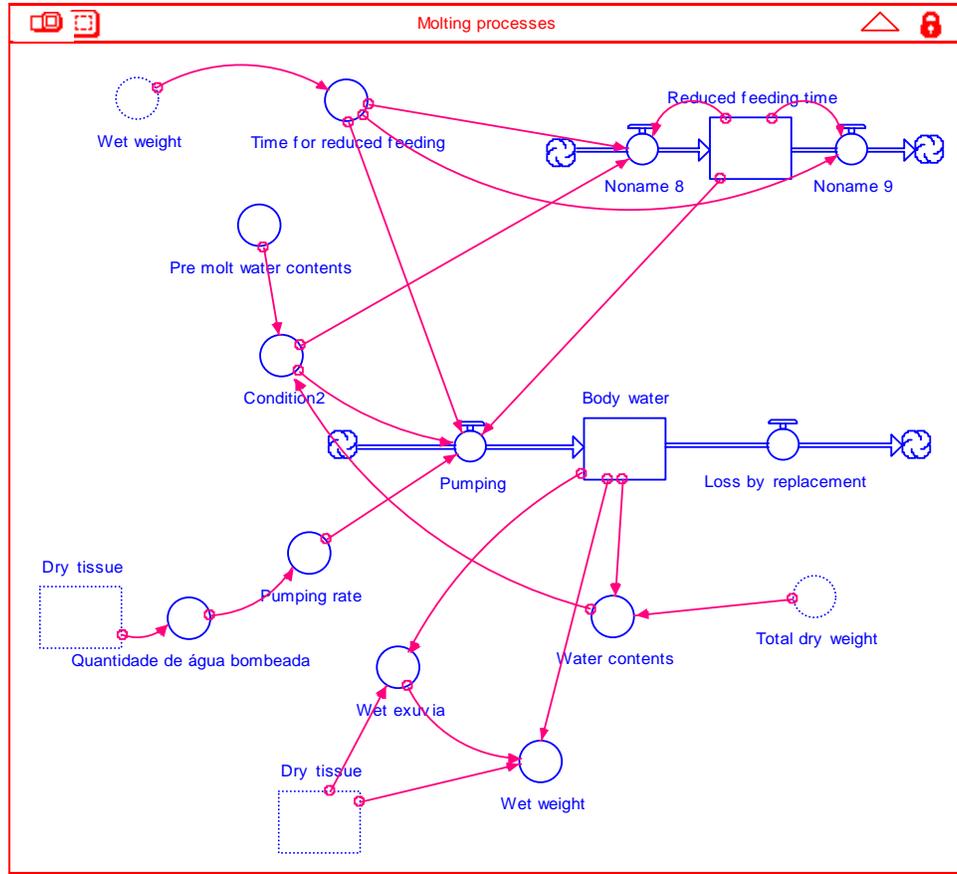


Figura 3.3. Sub-modelo de muda ajustado en función a los valores experimentales

3.4.1 Ecuaciones del sub-modelo de muda

Este módulo está basado conceptualmente en dos variables de estado: cantidad de agua corporal (body water) y el tiempo en que los camarones reducen su tasa de alimentación (reduced feeding time), ambas variables fueron parametrizadas experimentalmente. Es justo en el momento en donde estas dos variables entran en coordinación, que se presupone da inicio la muda tardía y el camarón se ve afectado en su metabolismo cuando al reducir el consumo de alimento, algunos componentes de reserva en el hepatopáncreas modifican su concentración al cubrir las necesidades energéticas que el organismo exige para el momento de la liberación del exoesqueleto. Por otro lado, la entrada de agua al cuerpo contribuye a la disminución de la concentración de algunos elementos constituyentes de la hemolinfa (Capítulo 2).

Las ecuaciones que definen los procesos fisiológicos de la muda son las siguientes:

3.4.1.1 Cantidad de agua corporal

Esta ecuación se basa en el balance entre el bombeo de agua y la tasa de crecimiento del camarón (este es un convertidor del módulo de crecimiento). El primero promueve el aumento de la cantidad de agua en el cuerpo y el segundo se encarga de la sustitución del agua por tejido. El bombeo se activa cuando hay una conjunción de dos eventos: por un lado, cuando el contenido de agua llega a su valor normal, que es aproximadamente el 73%, esto puede estar ocurriendo en el estadio D₂ previo a la muda y define la condición 1 del modelo. Y por otro lado cuando el organismo se encuentra justo en la parte media del periodo de tiempo total en donde la tasa de ingestión es menor a la normal. Este supuesto corresponde a la evidencia experimental de que los camarones reducen su alimentación por una cierta cantidad de tiempo antes y después de la muda.

De acuerdo a los datos obtenidos experimentalmente, la relación entre la tasa de acumulación de agua y el peso es tal que tanto los camarones pequeños como los grandes bombean aproximadamente la misma cantidad de agua en promedio durante la muda (aproximadamente 0.39 g). En relación a su peso corporal el % de agua bombeada está definido por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de agua bombeada} = 30.527X^{-0.964}.$$

Body_water(t) = Body_water(t - dt) + (Pumping - Loss_by_replacement) * dt

INIT Body_water = 0.39{ g H₂O }

INFLOWS:

Pumping = **SI** (Condition 1 = 1) **Y** (Reduced_feeding_time > 0.5 * Time_for_reduced_feeding)

ENTONCES Pumping_rate (Water absorption during moulting) en gramos de agua por individuo por día

DE LO CONTRARIO 0

OUTFLOWS:

Loss_by_replacement = if SFG > 0 then SFG else 0

{if Water_contents >= Post_molt_water_contents then 3 else 0}

SFG es la tasa de crecimiento

La activación del proceso de acumulación de agua, que es el flujo de entrada hacia la variable de estado y por lo tanto interviene en el control del agua corporal del organismo, está determinada por las funciones y constantes derivadas de la información experimental generada en este trabajo.

3.4.1.2 Tiempo de reducción de consumo de alimento (TRCA)

Este periodo de tiempo, medido como el número de horas antes y después de la muda en la que el camarón reduce su alimentación, es directamente proporcional con el peso húmedo del camarón de acuerdo a la siguiente ecuación: $TRCA = 0.7 (\text{peso húmedo}) + 64.3$ (Figura 1.23, capítulo 1)

Esta relación determina, mediante la experiencia experimental, que los camarones reducen su consumo de alimento en función a su talla, en el caso de los juveniles (3 a 5 g), en promedio de 72 horas, mientras que los adultos (30-50g), en aproximadamente 108 horas. La tasa de alimentación se reduce en aproximadamente un 32% en juveniles llegando, en algunos casos, hasta el 100% en adultos.

El valor de inicio de la variable de estado que determina el tiempo de reducción en el consumo de alimento es de cero, porque supone condiciones normales durante el ciclo de muda, esto es, el camarón está comiendo a una tasa determinada. Este valor cambiará cuando se activen las diferentes condiciones del modelo y sufrirá variación mediante la retroalimentación generada por el propio modelo.

```

Reduced_feeding_time(t) = Reduced_feeding_time(t - dt) + (Noname_8 - Noname_9) * dt
INIT
Reduced_feeding_time = 0{ days }
Noname_8 = SI Condition 1 = 1 O (Reduced_feeding_time > 0 and Reduced_feeding_time <
Time_for_reduced_feeding) ENTONCES 1
DE LO CONTRARIO 0
    
```

OUTFLOWS:

Noname_9 = **SI** Reduced_feeding_time > Time_for_reduced_feeding **ENTONCES**
Reduced_feeding_time/DT

DE LO CONTRARIO 0

Condition 1 = **SI** Water_contents<=Pre_molt_water_contents **ENTONCES** 1

DE LO CONTRARIO 0

Pre_molt_water_contents = 0.73

Pumping_rate = Cantidad_de_agua_bombeada/DT { g/h}

Cantidad_de_agua_bombeada = 30.527*Dry_tissue^(-0.964)/100*Dry_tissue {g de agua bombeada durante a muda}

Time_for_reduced_feeding = (0.7*Wet_weight+64.26)

Water_contents = Body_water/(Body_water+Total_dry_weight) { ratio}

Wet_exuvia = max((Body_water+Dry_tissue)*0.0666-0.0838)

Wet_weight = Body_water+Dry_tissue+Wet_exuvia

La ecuación que define la proporción de agua bombeada en función del peso corporal, fue estimada considerando al camarón completo, sin embargo bajo el supuesto de que la absorción de agua no se lleva a cabo en el exoesqueleto sino en el tejido, se optó por eliminar el peso debido a la exuvia, calculando su peso con la siguiente relación lineal:

Peso húmedo de la exuvia = 0.0666*(peso húmedo del camarón) - 0.0838 (Figura 1.18, Capítulo1).

3.4.2 Descripción general del comportamiento del sub-modelo de muda

El modelo conceptual del proceso de muda se diseñó tan simple como fue posible. El objetivo fue reproducir los resultados obtenidos experimentalmente, con relaciones matemáticas para estimar los diversos procesos fisiológicos involucrados en la muda, relacionando la duración de un ciclo de muda con el incremento en biomasa del camarón.

En la propuesta inicial, que antecedió al presente trabajo, se logró una simulación del crecimiento en cada ciclo de muda, relacionada con la cantidad de agua corporal (Figura 3.3). La gráfica describe con claridad el evento de sustitución progresiva de agua durante la intermuda en sincronía con el crecimiento del organismo, en términos de la cantidad de

tejido seco. Al inicio de cada ciclo de muda, el organismo alcanza su nivel máximo de agua corporal y conforme transcurre el tiempo, se observa una disminución de ésta debido a que se está llevando a cabo la sustitución por tejido y el organismo incrementa su biomasa, estimada como tejido seco. Cuando la sustitución llega al fin (premuda) y la cantidad de agua se normaliza en función al mínimo necesario para que el organismo realice sus funciones orgánicas básicas, estimada en aproximadamente 73% del total, de acuerdo a los resultados obtenidos para *L. japonicus* (Aquacop *et al.*, 1978), *L. vannamei* y *L. setiferus* (datos no publicados obtenidos por Rodríguez) (Figura 1.23). Los camarones inician una serie de ajustes bioquímicos y fisiológicos en preparación para la muda, reduciendo sus niveles de ingestión de alimento y activando el proceso de absorción o de agua hacia el interior del camarón. La Figura 3.4 muestra como la cantidad de agua aumenta súbitamente. Este modelo ya era capaz de predecir cuando el organismo mudaba en función al balance de agua corporal, sin embargo los valores de crecimiento no son reales, ya que en 1500 hr (63 días aproximadamente considerando el estadio larval) alcanzan el peso asintótico.

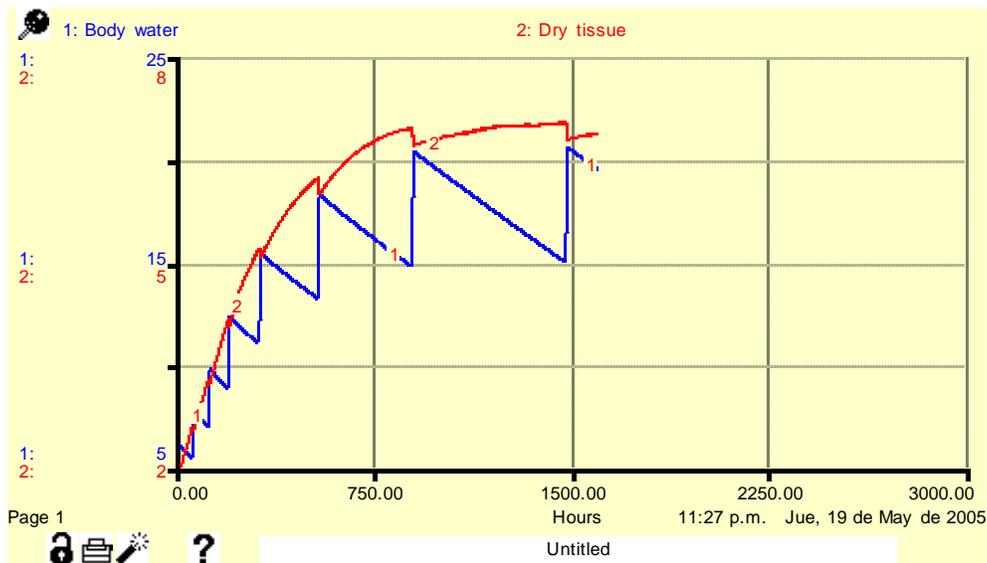


Figura 3.4 Simulación del crecimiento relacionada con la cantidad de agua corporal

La parametrización de las variables del módulo, finalidad del presente trabajo, permite hacer un ensayo para reproducir el fenómeno de la muda asociada al crecimiento (Figura 3.5).

Esta gráfica de simulación del crecimiento, relacionado con las veces que el camarón muda en un determinado periodo de tiempo, muestra el típico crecimiento discontinuo de los camarones.

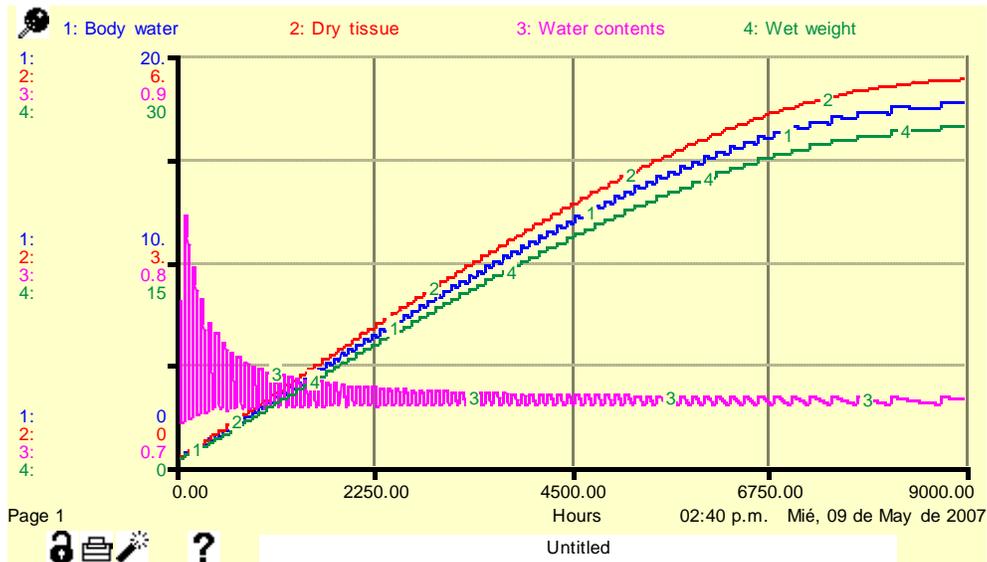


Figura 3.5.- Simulación del crecimiento en función a la cantidad de agua corporal y a la cantidad de agua bombeada por el organismo

La simulación que se muestra en la gráfica de la Figura 3.6, aún estima que la duración del ciclo de muda no depende del tamaño y que un camarón desde postlarva hasta adulto tiene una duración de su ciclo de muda aproximadamente de 4 días. Experimentalmente se demostró que la duración del ciclo de muda está en función con el tamaño del organismo.

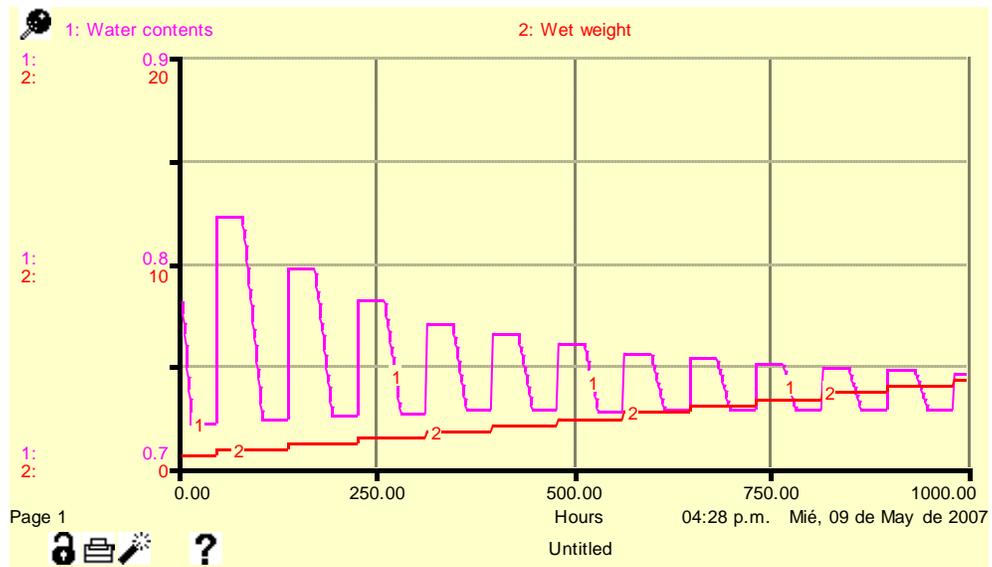


Figura 3.6.- Simulación de la cantidad de agua bombeada en cada ciclo de muda

3.5 DISCUSIÓN

Las hipótesis que sostienen conceptualmente al modelo, suponen que las relaciones entre los módulos debe tener como respuesta final el crecimiento en función de la frecuencia y duración de los ciclos de muda y de la cantidad de agua absorbida por el organismo, que determina su potencial crecimiento. La simulación de esta respuesta tendrá que ser operada a través de otros módulos, específicamente el de respiración y excreción, en donde aún no se tiene una relación alométrica adecuada y se calcula asumiendo que los valores son constantes para la respiración básica y activa para un organismo estándar de 1 gramo. Además establece que el camarón de cualquier talla tiene una tasa de respiración constante, argumento que no es válido según lo reportado por Dall (1986) y Carvalho y Phan (1998).

Con la finalidad de hacer una mejor interpretación de los resultados obtenidos experimentalmente e identificar la relación que pudiera impactar directamente a la respuesta (duración del ciclo de muda en función a la etapa de desarrollo), que en este módulo se desea modelar, se hicieron pruebas con los valores de la tasa de respiración en una hoja de Excel. En principio se encontró que los camarones crecen alrededor de 20 g en un año, que es un bajo crecimiento, en un número de mudas de alrededor de 70, situación irreal porque es casi el doble de lo que se puede predecir y lo que se acerca más a la realidad, que son aproximadamente 40 mudas. Sin embargo, si disminuye la tasa de respiración en una fracción del 10% pero se aumenta al doble la proporción de absorción de agua, el patrón obtenido se acerca más a la realidad, cerca de 40 mudas y un peso fresco final de cerca de 40 g. Si se aumenta la tasa de respiración, dentro de límites razonables, y conservando la relación de bombeo de agua se alcanza un resultado similar.

En un ejercicio similar en Excel considerando los resultados de crecimiento experimentales y las ganancias de peso en intermuda, se puede asumir que la correspondencia entre la absorción de agua y el aumento del peso pueda ser en una proporción mayor, quizá del doble de los valores, ya que con estos supuestos los camarones alcanzaron 45 g en 45 mudas, dato más realista.

En la Figura 3.5 se muestra la simulación del crecimiento del camarón en función a la cantidad de agua corporal que el camarón absorbe. Esta simulación no reproduce lo reportado para la especie en términos de crecimiento (Maldonado, 2007), porque si bien alcanza un peso húmedo aproximado de 25 g en aproximadamente un año, que en condiciones de cultivo resulta ser un rendimiento bajo, el número de mudas que tiene que experimentar para llegar a este peso es excesivo. El número de mudas se puede estimar utilizando la variable del contenido de agua, ya que un ciclo de muda representa también una curva completa de esta variable (Figura 3.6)

Aunque la simulación reproduce el patrón típico del crecimiento del camarón peneido, la pendiente de crecimiento en etapas tempranas de vida está poco pronunciada lo que indica una baja tasa de crecimiento, en relación a lo que se reporta para camarones peneidos (Franco et al., 2006). La curva alcanza un peso asintótico aproximadamente a los 25 gramos en un periodo de 9000 hr, que representan aproximadamente un año. Después de 45 mudas, los camarones alcanzan apenas 15 g, que es bajo en comparación con lo reportado por Maldonado (2007) para el crecimiento de *L. vannamei* bajo condiciones controladas de cultivo de aproximadamente 40 g en un año.

Sin embargo, los datos de incremento de peso en intermuda en este trabajo en camarones juveniles coinciden con la estimación de la cantidad de agua absorbida por el camarón. Aunque no se puede confirmar esta información en otras etapas de desarrollo, se puede sugerir que se están subestimando estos valores en adultos, aunque en esta talla los camarones ya no crecen de manera importante.

Con lo anterior, se plantea que posiblemente la cantidad de agua acumulada no sea la única variable que está definiendo la acumulación de biomasa en intermuda y que el diseño experimental, individualizando a los organismos, limita el crecimiento.

Se ha establecido anteriormente que la absorción de agua por el camarón, se lleva a cabo entre la premuda tardía y la postmuda temprana, sin embargo para los camarones no se conoce el momento exacto en que se da el aumento súbito de agua. Este es un dato

importante de definir ya que en el modelo se establece que la activación de este proceso de absorción se lleva a cabo una vez que el camarón llega a un porcentaje de agua corporal del 73%.

La información de duración de ciclo de muda en función a la talla y a la temperatura obtenida en este trabajo, será utilizada como fuente de validación en la simulación del modelo de crecimiento y para el ajuste de algunas relaciones con otros módulos.

CONCLUSIONES GENERALES

La temperatura es un factor ambiental que influye de manera significativa en la duración del ciclo de muda de *L. vannamei* mediante una relación inversa. En general la variación en 3° C modifica la duración del ciclo en un día, esta respuesta está asociada con la reducción o aceleración de los procesos metabólicos por efecto de la temperatura.

La duración del ciclo de muda depende de factores intrínsecos del camarón como la etapa de desarrollo. Para *L. vannamei* a una temperatura promedio de 29° C se encontró una relación lineal directa entre la duración del ciclo de muda con respecto al peso de los organismos.

El crecimiento tiene dos componentes: la duración del ciclo de muda y la cantidad de biomasa acumulada en intermuda. Sólo los organismos, en etapa juvenil, sometidos a una temperatura de 32° C lograron la combinación eficiente de estos componentes, que se reflejó en un mayor crecimiento al término de 40 días de experimento.

Existe una relación potencial entre el porcentaje de agua absorbida y el peso corporal del camarón, la cual está en función de la velocidad de acumulación de biomasa y de la eficiencia en el reemplazo del agua por tejido corporal.

La activación del proceso fisiológico de absorción de agua, está regulado hormonalmente. La hormona ecdisona actúa sobre la hipodermis modificando la permeabilidad del tegumento y la hormona hiperglicemiante que activa la bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasa}$ permitiendo la entrada de agua e iones al organismo. El aumento del volumen de la hemolinfa que precede a este evento fisiológico modifica las concentraciones de los componentes de la sangre como la glucosa y la hemocianina y tienen un efecto en la capacidad osmótica.

La covariabilidad de la glucosa y la capacidad osmótica observadas en el presente estudio, es indicadora de la adaptación bioquímica que los camarones presentan, para la regulación

homeostática, para prevenir los cambios derivados de la absorción de agua en los momentos previos a la muda.

La hemocianina como pigmento respiratorio, es un buen indicador indirecto de la energía que el camarón utiliza en el proceso de muda. Muestra el patrón típico de otros crustáceos a lo largo del ciclo de muda. Mantiene niveles básicos que aumentan en D_0 para cubrir la demanda de oxígeno para hacer frente al gasto energético que los camarones experimentarán al momento de la muda.

La glucosa es considerada una molécula base en las reservas de energía, tiene una fuerte correlación negativa con las reservas de glucógeno en el hepatopáncreas en la premuda tardía y la postmuda temprana, que proviene de las reservas de glucógeno, que se degradan conforme aumentan los niveles de glucosa circulante, como evidencia de la acción de la hormona hiperglicemiante sobre el hepatopáncreas. Esta molécula resultó ser un indicador real en los requerimientos de energía en el ciclo de muda.

En su preparación a la muda, los organismos realizan ajustes fisiológicos como reducir su consumo de alimento. Dicha reducción va de 32% en juveniles hasta casi el 100% en adultos. El tiempo (t) requerido para estos ajustes abarca ~72 horas en juveniles y 108 h en adultos antes de la ecdisis y describe una relación lineal $Y=0.7002+64.267t$.

La simulación realizada utilizando datos experimentales de la duración de los ciclos de muda del camarón en diferentes etapas de su desarrollo no es realista, y al no lograr establecer el efecto del peso en la duración de dicho ciclo, se concluye que es necesario considerar los módulos de respiración y excreción nitrogenada.

En términos de crecimiento, el modelo logra reproducir de manera aproximada lo observado experimentalmente. El bajo crecimiento predicho y observado se atribuye principalmente a las condiciones experimentales a las que se sometieron los camarones, como la individualización y no a la estimación de la cantidad neta de agua absorbida en los camarones.

Desde el punto de vista fisiológico y bioquímico, en general, el modelo permite la comprensión de la combinación de los factores que intervienen en el ciclo de muda, así como de la importancia de la regulación hormonal en este suceso.

LITERATURA CITADA

- Abdel-Rahman, S. H., Kanazawua, A. Teshima, S., 1979. Effects of dietary carbohydrate on the growth and the level of the hepatopancreatic glycogen and serum glucosa of prawn. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 45:1491-1494.
- Al-Mohanna, SY, Nott, JA., 1989. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. *Mar. Biol.*, 101:535-544.
- Álvarez T. P., 1999. Acuicultura de repoblamiento en embalses. Memorias del taller-curso: Evaluación de poblaciones y repoblamiento en embalses. SEMARNAP. Instituto Nacional de la Pesca, Dirección General de Investigación en Acuicultura. Subsecretaría de Pesca. Dirección General de Acuicultura y Dirección General de Administración de Pesquerías. Chapala, Jalisco. 18 pp.
- Amestoy, F. J., 1983. Reproduction of two species of the genus *Parastacus* (Crustacea, Decapoda), under controlled conditions and their evaluation as aquaculture potentials. *Contib. Dep. Oceanogr. Univ. Republica*, 1(1):1-11.
- Anderson, S., Clark, H. y Chang, E., 1985. Multiple spawning and molt synchrony in a free spawning shrimp (*Sicyonia ingentis*: Penaeoidea). *Biol. Bull.*, 168: 377-394.
- Aquacop, 1978. Study on nutritional requirements and growth of *Penaeus merginensis* in tanks by means of purified and artificial diets. *Proc. World Maricult. Soc. Annu. Meet.*, 9 :225-234.
- Aquacop, Bourgeois, B. y Cuzon, G., 1975. Détermination des stades d'intermude chez *Macrobrachium rosenbergii* (Caridae) and *Penaeus Merguinensis* (Penaeidae). Cnexo/COP, Internal Report. 40 pp.

- Arnott, S. A., Neil, D. M. y Ansell, D., 1998. Tail-flip mechanism and size-dependent kinematics of escape swimming in the brown shrimp *Crangon crangon*. *Journal of Experimental Biology*, 201: 1771–1784.
- Balazs, G., Olbrich, S. E., Tumbelson, M. E., 1974. Serum constituents of the Malasyan prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and pink shrimp (*Penaeus marginatus*). *Aquaculture*, 3:147-157.
- Bender, E. A., 1978. An introduction to mathematical modeling. Dover Publications, Inc. New York, U.S.A. 255 pp.
- Betancourt, I., Calderón, J. y Sagi, A., 1993. Estadios de muda en hembras adultas de *Penaeus vannamei*. *Aquaculture Tropical*, 1:13-15.
- Boddeke, R., Dijkeman, R. y Sinnelink, M. E., 1977. The patterned migration of shrimp populations: a complete study of *Crangon crangon* and *Penaeus schmitti*. FAO Fisheries reports, 200: 31-49.
- Bojórquez, C. L. y Esquivel, H. A., 1997. Apuntes de introducción a los modelos matemáticos en ecología. UAM-Xochimilco, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. México. I60 pp.
- Bureau, D. P., Azevedo, P. A., Tapia-Salazar, M. y Cuzon, G., 2000. Patern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: Potential implications and applications. In: Cruz-Suarez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M. Olvera-Novoa, M. A. Y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en Nutrición Acuicola. 19-22 Noviembre, 2000, Mérida, Yucatán, México.
- Bursey, C. R. y Lane, C. E., 1971. Ionic and protein concentration changes during the molt cycle of *Penaeus duorarum*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 40A:155-162.

- Caddy, J. F., 2003. Scaling elapsed time: an alternative approach to modeling crustacean moulting schedules?. *Fisheries Research*, 63: 73-84.
- Cadena, LL. E., 2000. Relación entre el ciclo de muda y la actividad de las enzimas digestivas y su efecto en la tasa de alimentación y el crecimiento del juvenil *Penaeus vannamei*. Tesis de grado previa obtención del título de Acuicultor. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. Guayaquil Ecuador. 109 pp.
- Carvalho, P. S. M. y Phan, V. N., 1988. Oxygen consumption and ammonia excretion during the moulting cycle in the shrimp *Xiphopenaeus kroyeri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 119A(3):839-844.
- Ceccaldi, H. J., 1997. Anatomy and physiology of the digestive system. In: D'Abramo. L.R. Conklin, D. E. y Akiyama, D. M. (Eds.) *Crustacean Nutrition*, VI: 261-291.
- Chan, S. M., Rankin, S. y Keeley, L., 1988. Characterization of the moult stages in *P. vannamei*: Setogenesis and hemolymph levels of total protein, ecdysteroids, and glucose, *Bol. Bull.*, 175:185-192.
- Chang, E. S., 1992. Endocrinology. In: A. W. Fast and L. J. Lester (Eds.), *Marine Shrimp Culture: Principles and practices*. Elsevier Science Publisher, Amsterdam. pp. 53-91
- Chang, E. S., 1995. Physiological and biochemical changes during the molt cycle in decapod crustaceans: an overview. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 193:1-14.
- Charmantier, G., Bouaricha, N., Charmantier-Daures, M., Thouet, P. y Trilles, J.-P., 1989. Salinity tolerance and osmoregulatory capacity as indicators of the physiological state of penaeid shrimps. *Eur. Aquacult. Soc., Spec. Publ.*, 10 : 65– 66.

- Charmantier, G., Charmantier-Daures, M., Aiken, D. E., 1985. Intervention des p'doncles oculaires dans le contrôle de la metamorphose chez *Homarus americanus*. H. Milne Edwards 1837 (Crustacea, Decapoda). *C. R. Acad. Sci. Paris*, (Ser III), 300 :271-276.
- Charmantier, G., Charmantier-Daures, M., Waddy, S. L., Aiken, D. E., 1991. Salinity tolerance and osmoregulation in the nemertean *Pseudocaranonemertes homari*, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 48 :209-214.
- Charmantier, G., Soyez, C. y Aquacop, 1994. Effect of molt stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 178: 233-246.
- Charmantier-Daures, M., Charmantier, G., Jansen, K.P.C., Aiken, D.E. y Van Herp, F., 1994. Involvement of eyestalk factors in the neuroendocrine control of osmoregulation in adults American lobster, *Homarus americanus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 94:281-293.
- Chávez, E. A., 1973. Estudio sobre la tasa de crecimiento del camarón blanco (*Panaeus Vannamei*, Boone) de la región sur del Golfo de California. *Ciencia Mexicana XXVIII*, 2:79-85.
- Chen, C. P., Lin, S. T., Wang, F. L., 2004. Coconut crabs as a target for promoting the establishment of marine protected areas in the Green Island, Taiwan. 4th ISIA conference, Kimen Island, Taiwan.
- Chen, J. C. y Cheng, S. Y., 1993. Studies in haemocyanin and haemolymph protein levels of *Penaeus japonicus* based on sex, size and moulting cycle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 106B:293-296.
- Chen, J. y Chia, P., 1997. Oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte the hemolymph of *Scyza serrata* in relation to size cycle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 217: 93-105.

- Cheng, W., Liu, C. H., Cheng, C. H. y Chen, J., 2001. Hemolymph oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte levels of *Macrobrachium rosenbergii* in relation to size and molt stage. *Aquaculture*, 198:387–400.
- Cheng, W., Liu, C. H., Yan, D. F. y Chen, J. C., 2002 Hemolymph oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte levels of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* in relation to size and molt stage. *Aquaculture*, 211(1-4): 325-339.
- Choe, S., 1971. Body increases during molt and molting cycle cycle of the oriental brown shrimp *Penaeus japonicus*. *Mar. Biol.*, 9: 31-37.
- Chung, J.S., Dircksen, H., Webster, S.G., 1999. A remarkable precisely timed release of hyperglycemic hormone from endocrine cells in the gut is associated with ecdysis in the crab *Carcinus maenas*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96:13103–13107.
- Clark, J. V., 1986. Inhibition of moulting in *Penaeus semisulcatus* (de Haan) by long-term hypoxia. *Aquaculture*, 52: 253-254.
- Cooke, I. M. y Sullivan, R. E., 1982. Hormones and Neurosecretion. In *The Biology of Crustacea*, Vol 3 (Eds.) Atwood, L. and Sanderman, D. Academic Press, pp. 205-278.
- Crisp, D. J. y Patel, B. S., 1958. Relation between breeding and ecdysis in Cirripedes. *Nature, Lond.*, 181:1078-1079.
- Croll, S. L. y Watts S. A. 2004. The effect of temperature on feed consumption and nutrient absorption in *Procambarus clarkia* and *Procambarus zonangulus*. *Journal of the world aquaculture society*, 34 (4): 478-488.

- Cuzón, G. Rosas, C., Gaxiola, G., G. Taboada, G. y Van Wormhoudt, A., 2003. Effect of dietary carbohydrates on gluconeogenesis in premolí *Litopenaeus stylirostris* juveniles and pre adults. *Journal of Shellfish Research*, 20: 931-937.
- Cuzón, G., y Ceccaldi, H. J., 1972. Influence de la stabulation a jeun sur le metabolisme de la crevette *Crangon crangon*. *C. R. Seances Soc. Biol. Paris*, 167 :66-69.
- Cuzón, G. Rosas, C., Gaxiola, G., G. Taboada, G. y Van Wormhoudt, A., 2003. Effect of dietary carbohydrates on gluconeogenesis in premolí *Litopenaeus stylirostris* juveniles and pre adults. *Journal of Shellfish Research*, 20: 931-937.
- Dall, W y Smith D.M. 1986. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns, *Panaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture*, 55:23-33.
- Dall, W. 1990. The Biology of the Penaidae. En: Blaxter, J. y Southward., A. (Eds.). *Advances in Marine Biology*. Academic Press, San Diego. 27:21-29.
- Dall, W. y Smith, D.M., 1986. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns, *Panaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture*, 55:23-33.
- Dall, W., 1965. Studies on the physiology of a shrimp, *Metapenaeus sp.* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). IV. Carbohydrate metabolism. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 16:163-180.
- Dall, W., 1986. Estimation of routine metabolic rate in a penaeid prawn, *Panaeus esculentus*. Haswell. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 96:57-74.
- Dall, W., Hill, B. J., Rothlisberg, P. C. y Staples, D. J., 1990. The Biology of the Penaidae. In: Blaxter, J.H. S., Southward, A.J. (Eds.). *Advances in Marine Biology* Vol. 27. Academic Press, New York Chapter 6, 489 pp.

- Dall, W., y Smith, D. M., 1978. Changes in apparent water permeability during the moulting cycle in the western rock lobster. *J. Exp. Mar. Ecol.*, 34:43-54.
- De Coursey, P. J., 1983. Biological timing. In: Vernberg, F.J., Vernberg, W. B. (Eds.), *The Biology of crustacea*. Vol. 7 Academic press, New York, pp. 107-162.
- De Oliveira, C. J. R., Zhao, B., Malecha, S., Ako, H., Yang, J., (2006). Morphological and biochemical changes in the muscle of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* during the molt cycle. *Aquaculture*, en prensa.
- De Silva, S. S., 2001. A global perspective of aquaculture. In the new millennium. In R. P. Subasinghe, P. Bueno, M. J. Phillips, C. Hough, S. E. McGladdery & J. R. Arthur, eds. *Aquaculture in the Third Millennium*. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, pp. 431-459.
- De Coursey, P. J., 1983. Biological timing. In: Vernberg, F.J., Vernberg, W. B. (Eds.), *The Biology of crustacean*, Vol. 7 Academic press, New York, pp. 107-162.
- Dittel, A. I., 1993. Changes in the feeding habitats of *Callinectes arcuatus* (crustacean: Decapoda) from Nicoya Gulf, *Costa Rica*. *Rev. Biol. Trop.*, 41:639-646.
- Djangmah, J. S., 1970. The effects of feeding and starvation on copper in the blood and hepatopancreas, and on blood proteins of *Crangon vulgaris* (Fabricius)., *Comp. Biochem. Physiol.*, 32:709-731.
- Djangmah, J. S., y Grove, D. J., 1970. Blood and hepatopancreas copper in *Crangon vulgaris* (Fabricius). *Comp. Biochem. Physiol.*, 32:733-745.
- Dore, I. y Frimodt, C., 1987. *An Illustrated Guide to Shrimp of the World*. Van Nostrand Reinhold, New York, 175 pp.

- Dowling, K. y Motheshill, C., 1999. Use of rainbow trout primary epidermal cell cultures as an alternative to immortalized cell lines in toxicity assessment a study with monoxynol. *Environment Toxicology and Chemistry*, 18(2):452-459.
- Drach, P., 1939. Mue et cycle t'intermue chez les crustacés décapodes. *Ann Inst. Océanogr.*, 19:103-391.
- Drach, P., 1944. Etude préliminaire sur le cycle d'intermue et son conditionnement hormonal chez *Leander serratus* (Pennant). *Bull. Biol. France et Belgique*, 78:40-62.
- Drach, P., y Tchernigovtzeff, C., 1967. Sur la methode de determination des stades d'intermue et son application generale aux crustaces. *Vie Milieu*, 18 :595-617.
- Edwards, R. C., 1977. Field experiments on growth and mortality of *Penaeus vannamei* in a Mexican Coastal Lagoon Complex. *Estuarine and Coastal Marine Science*, 5: 107-121.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2006. State of world aquaculture. Fisheries Technical Paper. No. 500 Inland Water Resources and Aquaculture Service Fishery Resources Division FAO Fisheries Department. Rome
- Fenucci, J. L., 1988. Manual para la cría de camarones peneidos. Documento preparado por el proyecto GCP/RLA/075/ITA apoyo a las actividades regionales de acuicultura para América Latina y el Caribe. Programa corporativo gubernamental. FAO-Italia. Brasil
- Fernández, I., Nolasco, H., Vega, F., Oliva, M. y Hormhoudt, A., 1998. Variación enzimática digestiva en función del ciclo de muda en el camarón rosa *Penaeus notialis*. Resumen del IV Simposium de Nutrición Acuícola, 15-18 Noviembre. La Paz. Baja California Sur México. II parte.
- Fernández-Luna, I., 1998. Enzymes digestives, croissance et aquaculture des crevettes *Penaeus notialis*. These de Docteur du museum national d'histoire naturelle. France. 187 pp.

- Ferraris, R. P., Parado-Esteba, F. D., Ladja, J. M., 1986. Effect of salinity on the osmotic, chloride, total protein and calcium concentrations in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). *Comp. Biochem. Physiol.*, 83A:701-708.
- Ferraris, R. P., Parado-Esteba F. D., De Jesús, E. G. y J. M. Ladja, 1987. Osmotic and chloride regulation in the hemolymph of the tiger prawn *Penaeus monodon* during molting in various salinities. *Mar. Biol.*, 95:377-385.
- Fowler, S. W., Small, L. F. y Keckes S., 1971. Effects of temperature and size on molting of euphausiid crustaceans. *Mar. Biol.*, 11:45-51.
- Franco, A. R. Ferreira, J. G., y Nobre, A. M., 2006. Developmet of a growth model for penaeid shrimp. *Aquaculture*, 259:268-277.
- Fuss, C. M. y Ogren, L. H., 1966. Factors affecting activity and burrowing habits of the pink shrimp *Penaeus duorarum*. Burkenroad. *Biol. Bull.*, 130:170-191.
- García, S. 1988. Tropical penaeid prawns. En : J. A. Gulland. Fish population dynamics. pp. 219-246.
- Gaxiola, G., Cuzon, G., García, T., Tabeada, E., Brito, R., Chimal, M. E., Paredes, C., Soto L. A., Rosas, C. y Van Wormhoudt, A., 2005. Factorial effects of salinity, dietary carbohydrates and moult cycle on digestive carbohydrases and hexokinases in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Comp. Biochem. Physiol.*, 140A:29-39.
- Gibson, 1979. Gibson, R. y Barker, D. L., 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 17:285-346.

- Gong, H., Jiang, D. H., Lightner, D. V., Collins, C. y Brock, J. 2004. Dietary modification approach to improve the osmoregulatory capacity of *Litopenaeus vannamei* cultured in the Arizona desert. *Aquaculture Nutrition*, 10: 227–236.
- Goodall, D. W., 1972. Building and testing ecosystem models. En: Jeffers J. N. R. (Ed) *Mathematical models in ecology*. Blackwell. Oxford; pp 173-194.
- Grant, W. E., 1986. *Systems analysis and simulation in wildlife and fisheries sciences*. Wiley-Interscience Publication. John Wiley & Sons. N.Y. 338 pp.
- Griffith, D. R. y Wigglesworth, J. M., 1993. Growth rhythms in the Shrimp *Penaeus vannamei* and *Penaeus schmitti*. *Mar. Biol.*, 115: 295-299.
- Gwinn, J. F. y Stevenson J. R. 1973. Role of acetylglucosamine en chitin sintesis in crayfish. I correlation of ¹⁴C-acetylglucosamine incorporation with stages of the molt cycle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 45B:769-776.
- Haberman, R., 1977. *Mathematical models, mechanical vibrations, population dynamics, and traffic flow. An introduction to applied mathematics*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey, U.S.A. 402 pp.
- Hagerman, L. 1973. Ionic regulation in relation to the moult cycle of *Crangon vulgaris* (Fabricus) (Crustacea, Natantia) from brackish water. *The Prog. Fish. Culturist*, 12: 141-149.
- Hagerman, L., 1983. Haemocyanin concentration of juvenile lobsters (*Homarus gammarus*) in relation to moulting cycle and feeding conditions. *Mar. Biol.*, 77:11-17.
- Hagerman, L., Sondergaard, T., Weile, K., Hosie, D. y Uglow, R. F., 1990. Aspects of blood physiology and ammonia excretion in *Nephrops norvegicus* under hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol.*, 97A: 51-55.

- Hair, J. F., Anderson, R. E., Tatham, R. L., Black, W.C., 2000. Análisis multivariante, quinta edición. Prentice Hall, Madrid. 799 pp.
- Harpaz, S., Kahan, D., y Galun, R., 1987. Variability in feeding behavior of the Malasyan prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) during the molt cycle (Decapoda, Caridea). *Crustaceana*, 52:53-60.
- Hendrickx, M., 2001. Taxonomía, biología y zoogeografía de los peneidos de importancia comercial del pacífico mexicano. Capítulo 2. Camaronicultura y medio ambiente. Instituto de ciencias del mar y limnología. UNAM, México. 452 pp.
- Hernández-Rodríguez, A., Alceste-Oliviero, C., Sanchez, R., Jory, D., Vidal, L. y Constain-Franco, L.-F. 2001. Aquaculture development trends in Latin America and the Caribbean. In R.P. Subasinghe, P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery & J.R. Arthur, (Eds.) Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, 20-25 February 2000. pp. 317-340.
- Hsu, Y. W.A., Messinger, D. I., Chung, J. S., Webster, S.G., de la Iglesia, H.O., Christie, A. E., (2006). Members of the crustacean hyperglycemic hormone (CHH) peptide family are differentially distributed both between and within the neuroendocrine organs of Cancer crabs: implications for differential release and pleiotropic function, *Journal of Experimental Biology*, 209 (16): 3241-3256.
- Huberman, A., Aguilar, M. B., Brew, K., Shabanowitz, J. y Hunt, D. F., 1993. Primary estructura of the major isphorm of the crustacean hyperglycaemic hormone (cHH-I) from the sinus gland of Mexican crayfish *Procambarus bouvieri* (Ortmann): Interspecies comparaisón. *Peptides*, 14: 7-16.

- Hunter, D. A. y Uglow, R. F., 1993. A technique for the measurement of total ammonia in small volumes of seawater and hemolymph. *Ophelia*, 37:31-40.
- Hunter, J. y Feller, R. F., 1987. Immunological dietary analysis of two penaeid shrimp species from South Carolina tidal creek. *Jour. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 107: 61-70.
- Hysmith, B. y Colura, R., 1976. Effect of salinity on growth and survival of penaeid shrimp in ponds. *Journal World Mariculture Society*, 14:289-303.
- Koenders, A., Yu, X., Chang, E. S. y Mykles, D. L., 2002. Ubiquitin and actin expression in claw muscles of land crab, *Geocarcinus lateralis*, and american lobster, *Homarus americanus*: differential expression of ubiquitin in two slow muscle fiber types during molt-induced atrophy. *J. Exp. Zool.*, 292:618-632.
- Kuo, C.M. y Lin, W.W., 1996. Changes in morphological characteristic and ecdysteroids during then molting cycle of tiger shrimp, *Panaeus monodon fabricus*, *Zoological studies*, 35(2):118-127.
- Lacombe, C., Greve, P., Martin, G., 1999. Overview on the sub-grouping of the crustacean hyperglycemic hormone family. *Neuropeptides*, 33:71-80.
- Lehnert, S. A. y Johnson, S. E., 2002. Expression of hemocyanin and digestive enzyme messenger RNAs in the hepatopancreas of the Black Tiger Shrimp *Panaeus monodon*. *Comp. Biochem. Physiol., Part B* 133:163–171.
- Lemaire, 2002. Lemaire, P., Bernard, E., Martinez-Paz, J. A. y Chim, L., 2002. Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Panaeus stylirostris*. *Aquaculture*, 209:307–317.

- Lignot, J. H., Cochard, J. C., Soyeux, C., Lemaire, P., Charmantier, G., 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture*, 170:79-92.
- Lignot, J. H., Spanings-Pierrot, C. y Charmantier, G., 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture*, 191: 209-245.
- López-Martínez, J., Arreguín-Sánchez, F., Hernández-Vázquez, S., García-Juárez, A. R. y Valenzuela-Quinonez, W., 2003. Interannual variation of growth of the brown shrimp *Farfantepenaeus californiensis* and its relation to temperature. *Fisheries Research*, 61:95–105.
- López-Tellez, N., Hernández-Rodríguez, J., Ramírez-Ligonio, H., y Seca-Escalante, J., 2000. Crecimiento del camarón rosado *Farfantepenaeus duorarum* en estanques rústicos. *Ciencia Pesquera*. No. 14. INP. SAGARPA. México.
- Loret, S. M., 1993. Hemocyte differentiation in the shore crab (*Carcinus maenas*) could be accompanied by a loss of glycogen synthesis capability. *The journal of experimental zoology*, 267:548-555.
- Lucu, C. y Towle, D. W. 2003. Na⁺+K⁺-ATPase in gills of aquatic crustacean. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 135:195–214.
- Machiels, M. A. M., 1987. A dynamic simulation model for growth of African Catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). Ph. D. Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen.
- Maldonado, F. J. C., 2007. Efecto de alimentos ricos en proteínas vegetales en la nutrición, fisiología digestiva y balance bioenergético en reproductores y postlarva de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de maestría. Posgrado de ciencias del mar y limnología, UNAM. 69 pp

- Mantel, L. H. y Farmer, L. L., 1983. Osmotic and ionic regulation. In, *The biology of Crustacea*, edited by D.E. Bliss & L.H. Mantel, Academic Press, New York and London, Vol. 5, pp. 53-161.
- Marte, C. L., 1980. The food and feeding habit of *Penaeus monodon* Fabricius collected from Makato River, Aklan, Phillipines (DecapodaNatantia). *Crustaceana*, 38:225-236.
- Mishra, A. K., Verdegam, M. y Dam, A., 2002. A dynamic simulation model for growth of penaeid shrimps. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar. M., Gaxiola-Cortés., Simoes, N. (Eds). *Avances en nutrición acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacioanal de Nutrición Acuícola*. Cancún, Quintana Roo, México.
- Molina, C., Cadena, E. y Orellana, F., 2000. Alimentación de camarones en relación a la actividad enzimática como una respuesta natural al ritmo circadiano y ciclo de muda. In : Cruz-Suarez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M. A. y Civera-Cerecedo. R, (Eds) *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Mérida, Yucatán, México.
- Mugnier, Ch. y Justou, C., 2004. Combined effect of external ammonia and molt stage on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* physiological response. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 309 (1):35-46
- Neufeld, D., Cameron, J., 1994. Mechanism of the net uptake of water in moulting blue crabs (*Callinectes sapidus*) acclimated to high and low salinities. *J. Exp. Biol.*, 188:11–23.
- Pascual, C., Zenteno, E., Cuzón, G., Sánchez, A., Gaxiola, G., Taboada, G., Suárez, J., Maldonado, T., Rosas, C., 2004). *Litopenaeus vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary protein. *Aquaculture*, 236:431-450.

- Passano, L. M., 1960. Molting and its control. En: Physiology of Crustacea, Ed. T.H. Waterman. Academic Press. New York. Vol. 1. pp 473-536.
- Patel, B., 1959. The influence of temperature on the reproduction and moulting of *Lepas anatifera* L. under laboratory conditions. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 38:589-597.
- Patel, B., y Crisp, D. J., 1960. The influence of temperatura on breeding and moulting activities of some warm water species of operculate barnacles. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 39:667-680.
- Péqueux, A., 1995. Osmotic regulation in Crustaceans. *J. Crust. Biol.*, 15:1-60.
- Pérez - Farfante, I. y Kensley, B. F., 1997. Penaeoid an Sergestoid Shrimps and Prawns of the World. Keys and Diagnose for the families and genera. *Mémoires du muséum National D'Histoire naturelle*, 175:1-233.
- Pérez - Farfante, I., 1975. Spermatophores and thelyca of the American white shrimps, genus *Penaeus*, subgenus *Litopenaeus*. *Fish. Bull.*, 73 (3):463-486.
- Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C. A. y Ross, L. G., 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157:107-115.
- Racotta, I. S. y Palacios, E., 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29:351-356.
- Ramírez-Martínez, C. y Sánchez, V., 1998. Una propuesta de diversificación productiva en el uso del agua a través de la acuicultura. Subsecretaría de Pesca. Dirección General de Acuicultura. México. 22 pp.

- Regnault, M., 1979. Ammonia excretion of the sand shrimp *Crangon crangon* (L.) during the moult cycle. *J. Comp. Physiol.*, 133:199-204.
- Renaud, L., 1949. Le cycle des reserves organiques chez les crustacés decapodés. *Ann. Inst. Oceanogr. Paris*, 24:259-267.
- Robertson, L., Bray, W., Leung-Trujillo, J. y Lawrence, A., 1987. Practical molt staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostri*. *J. World Aquacult. Soc.*, 18(3):180-185.
- Rosas, C. y Carrillo, O., 2006. Principales rutas metabólicas. Utilización de la energía. En: Rosas C., Carrillo O., Wilson R. y Andreatta E.R. (Edits). Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. CYTED. México. 322 pp.
- Rosas, C. y Sánchez, A., 1996. Effect of dietary protein level on apparent heat increament and post-parandial nitrogen excetion of *Penaeus Schmitti*, *Panaeus setiferus*, *Panaeus duorarum* and *Panaeus vannamei* (Bone). *Aquaculture and Fisheries Management*, 24:92-102.
- Rosas, C., Cooper, E. L., Pascual, C., Brito, R., Gelabert, R., Moreno, T., Miranda, G., Sánchez, A., 2004. Indicators of phsiological and immunological status of *Litopenaeus setiferus* wild populations (Crustacea, penaeidae), *Mar. Biol.*, 145:401-413.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Brito, R., Chimal, M. y Van Wormhoudt, A., 2000. El Metabolismo de los Carbohidratos de *Litopenaeus setiferus*, *L. vannamei* y *L. stylirostris*. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, Yucatán.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Taboada, G., Arena, L., Van Wormhoudt, A., 2002. An energetic and conceptual model of the physiological roles of dietary

carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 268:47-67.

Rosas, C., Bolongaro-Crvenna, A., Sánchez, A., Gaxiola, G., Soto, L. y Escobar, E., 1995. Role of the digestive gland in the energetic metabolism of *Penaeus setiferus*. *Biol. Bull.*, 189:168-174.

Rouse, D. y Kartamulia, I., 1992. Influence of salinity and temperature on molting and survival of the australian freshwater caryfish (*Cherax tenuimanus*). *Aquaculture*, 105:47-52.

Rubino, A. Lawrence, A. y Zein-Eldin, P., 1983. The polyculture of *Panaeus stylirostris* Stimpson and *Penaeus aztecus* in tanks. *J. World Mariculture Soc.*, 14:(96-108).

Salgado, U. I., 2002. Suavización no paramétrica para análisis de datos. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México. 139 pp.

Sandifer, P. y Smith, T., 1985 Freshwater pawn. En: Huner, J and Brown, E (eds.). Crustacean and mollusk aquaculture in the United State AVI Publishing Company.

Santos, E. A., Nery, L. E. M., Keller, R. y Gonclaves, A. A., 1997. Evidence for the involvement of the crustacean hyperglycemic hormone in the regulation of lipids metabolism. *Physiol. Zool.*, 70: 415-420.

Santos, E. A., y Keller, R., 1993. Crustacean hyperglycemic hormona (CCH) and the regulation of carbohydrate metabolism: current perspectives. *Comp. Biochem. Physiol.*, 106A(3):405-411.

Sefiani, M, Le Caer, J. P. y Soyey, D., 1996. Characterization of hyperglycemic and molt-inhibiting activity from sinus glands of the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 103: 41-53.

- Sellos, D., Lemoine, S., Van Wormhoudt, A., 1997. Molecular cloning of hemocyanin cDNA from *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda): *structure, evolution and physiological aspects*. *FEBS Lett.*, 407:153-158.
- Serrano, L. Blainvillain, G., Soyeux, D., Charmantier, G., Grousset, E., Aujoulat, F. y Spanings-Pierrot, C., 2003. Putative involvement of crustacean hyperglycemic hormone isoforms in the neuroendocrine mediation of osmoregulation in the crayfish *Astacus leptodactylus*. *J. Exp. Biol.*, 206:979-988.
- Skinner, D. M., 1985. Moulting and regeneration. In: Bliss, D. E., Mantel, L. H. (Eds). *The biology of crustacean*, Vol. 9. Integuments, pigments and Hormonal processes. New York; Academic Press, Pp. 44-146.
- Smith, D., Dall, W., 1985. Moulting staging the tiger prawn *Penaeus esculentus*. In: Second Australian National Seminar. PC. Rothlisberg, Hill. B. and Staple, D. (Eds) Cleveland. Australia. pp. 85-95.
- Sokal, R. R y Rohlf F. J., 1995. *Biometry*. 3a. edición. W. H. Freeman and Company. New York, 887 pp.
- Spindler-Barth, M. 1976. Changes in the chemical composition of the common shore crab, *Carcinus maenas*, during the moulting cycle. *Journal of Comparative Physiology*, 105:97-205.
- Staples, D. J. y Heales, D. S., 1990. Temperature and salinity optima for growth and survival of juvenile banana prawns *Penaeus merguensis*, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 154:251-274.

- Stevenson, J. R., 1985. Dynamics of the integument in the biology of Crustacea, Vol. 9 (Eds) Bliss, D. and Mantel, L. Academic Press pp: 2-32.
- Telford, M., 1968. The effect of stress on blood sugar composition of the lobster, *Homarus americanus*. *Can. J. Zool.*, 46:819-826.
- Underwood, A. J., 2001. Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance. Cambridge University Press. Cambridge, 504 pp.
- Van Dam, A. A., y Penning de Vries, F. W. T., 1995. Parameterization and calibration of a model to simulate effects of feeding level and feed composition on growth of *Oreochromis niloticus* (L.) and *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), *Aquaculture Research*, 26:415-425.
- Van Wormhoudt, A. y Bellon-Humbert, C., 1996. Bases biológicas del cultivo de crustáceos: Muda. En: Barnabé, G. (ed.) Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Editorial Acribia. pp. 237-249.
- Vargas-Albores , F., Guzmán, M. A., Ochoa, J. L., 1993. An anticoagulant solution for haemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*), *Comp. Biochem. Physiol.*, 160A:299-303.
- Vega-Villasante F., Fernández I., Preciado R. M., M., Tovar, D., Nolasco, H., 1999. The activity of the digestive enzymes during the molting stages of the arched swimming *Callinectes arcuatus* Ordway, 1863 (Crustacea: Decapoda: Portunidae). *Bull. Marine Sci.*, 65:1-9.
- Vega-Villasante, F., Nolasco-Soria, H., Civera-Cerecedo, R., González-Valdez, R. y Oliva-Suárez., M., 2000. Alternativa para la alimentación del Camarón en Cultivo: In : Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M. A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds) Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, Yucatán, México.

- Verri T, Mandal, A, Zilli L., Bossa D., Mandal P.K., Ingrosso L., Zonno V., Vilella S., Ahearn G.A. y Storelli C., 2001. D-Glucose transport in decapod crustacean hepatopáncreas. *Comp. Biochem. Physiol., Part A.* 130: 585-606.
- Wassenberg, T. J., y Hill, B. J., 1984. Moulting behaviour of the tiger prawn, *Penaeus esculentus* (Haswell). *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 17:50-71.
- Webster, S. G., Dircksen, H., Chung, J. S., 2000. Endocrine cells in the gut of the shore crab *Carcinus maenas* immunoreactive to crustacean hyperglycaemic hormone and its precursor-related peptide. *Cell and Tissue Research*, 300 (1):193-205.
- Welinder, B.S., 1974. The crustacean cuticle. I. Studies on the composition of the cuticle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 47A:779-787.
- Welsh, J. H., 1961. Neurohumors and neurosecretion en: The physiology of crustacea, Vol II. Ed. Talbot Waterman. Academic Press. Cap. 8, pp: 281-305.
- Whiteley, N. M., Robertson, R. F., Meagor, J., El Haj, A. J. y Taylor, E. W., 2001. Protein synthesis and specific dynamic action in crustaceans: effects of temperature. *Comp. Biochem. Physiol., Part A*, 128: 595-606.
- Wyban, J. A. y Sweeney, J. N., 1991. Intensive shrimp production technology. High Health Aquaculture Inc. Hawaii. 158 pp.
- Wyban, J., Walsh, W. A., y Godin, D. M., 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*, 138:267-279.
- Yasuda, A., Yasuda, Y., Fujita, T. y Naya, Y., 1994. Characterization of crustacean hyperglycemic hormona from the crayfish (*Procambarus clarkii*): multicplity of molecular forms by sterioinversion and diverse function. *Gen Comp. Endocrinol.*, 95:387-398

Yodmuang, S., Udomkit, A., Treerattrakool, S. y Panyim, S., 2004. Molecular and biological characterization of molt-inhibiting hormone of *Penaeus monodon*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 312 :101-114

Zar, J. H., 1999. *Biostatistical Analysis*, cuarta edición. Prentice Hall, New Jersey 663 pp.