



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



RESPUESTAS FISIOLÓGICAS DE JUVENILES
DE CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*,
A CONDICIONES OSCILANTES DE OXÍGENO
DISUELTO Y TEMPERATURA

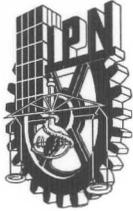
TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO
EN
CIENCIAS MARINAS

PRESENTA

ELEONORA PUENTE CARREÓN

La Paz, B. C. S., DICIEMBRE DE 2009.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 10:00 horas del día 20 del mes de Noviembre del 2009 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

"RESPUESTAS FISIOLÓGICAS DE JUVENILES DE CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*,
A CONDICIONES OSCILANTES DE OXÍGENO DISUELTUO Y TEMPERATURA"

Presentada por el alumno:

PUENTE

Apellido paterno

CARRIÓN

materno

ELEONORA

nombre(s)

Con registro:

A	0	5	0	1	2	1
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de:

DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Director de tesis
PRIMER VOCAL

DR. SILVERIO LÓPEZ LÓPEZ

PRESIDENTE

DRA. SILVIE DUMAS

SECRETARIO

DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ

SEGUNDO VOCAL

DR. ALFONSO N. MAEDA MARTÍNEZ
2º. DIRECTOR DE TESIS

TERCER VOCAL

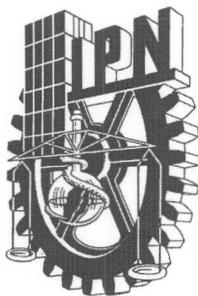
DR. SERGIO FRANCISCO MARTÍNEZ DÍAZ

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE



IPN
CICIMAR
DIRECCION



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 25 del mes Noviembre del año 2009, el (la) que suscribe MC. ELEONORA PUENTE CARREÓN alumno(a) del Programa de DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

con número de registro A050121 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo al dirección de:

DR. SILVERIO LÓPEZ LÓPEZ y DR. ALFONSO N. MAEDA MARTÍNEZ y cede los derechos del trabajo titulado:

"RESPUESTAS FISIOLÓGICAS DE JUVENILES DE CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*,
A CONDICIONES OSCILANTES DE OXÍGENO DISUELTO Y TEMPERATURA"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: silopez@ipn.mx amaeda04@cibnor.mx elpuenca@hotmail.com

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

MC. ELEONORA PUENTE CARREÓN

nombre y firma

DIOS

Te doy gracias por darme tantas bendiciones, de amarme tanto y poner en mi camino a las personas adecuadas para lograr la meta de mi vida, no me cansare de bendecirte, agradecerte y amarte.

Para mis amados y hermosos hijos que son la alegría y la razón por la cual me enfrento en los difíciles caminos de la vida y por lo cual yo me siento viva día con día, porque son el motor de mi existencia, por todo el amor que ellos me dan. Hijos los amo más que a mi vida:

Isaac Uriel

Uziel Zeraías

Ana Eleonora

Para mis padres, que me dieron todo su amor y su apoyo incondicional para terminar el proyecto de mi vida, con todo mi amor para ustedes:

Graciano

y

Ana M.

Al nuevo integrante, un ángel enviado del cielo para bendición de nuestra familia. Mi primer nieto amado:

Uriel Enrique

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) y al Instituto Politécnico Nacional (IPN) por el apoyo económico brindado a través del Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) y al programa de becas tesis.

La sustentante de esta tesis agradece el apoyo otorgador por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT-165129).

La realización de este trabajo no hubiera sido posible sin la colaboración de las instalaciones del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), y de los técnicos que me brindaron todo su apoyo.

En particular y con todo el corazón le agradezco a mi Director de Tesis Dr. Alfonso N. Maeda M. por ser el ángel que Dios puso en mi camino para devolverme la fe y la esperanza en los momentos más difíciles y creer en mí, dándome todo su apoyo, paciencia y confianza para concluir esta tesis y obtener el grado, eternamente le estaré agradecida.

Especialmente a mi segundo ángel, amigo y director Dr. Silverio López López por sus palabras de aliento y su dedicación en el trascurso de la elaboración de esta tesis, dándome su apoyo, gracias Silverio.

A la comisión revisora por sus acertados comentarios: Dra. Bertha Patricia Ceballos V., Dr. Sergio Martínez D. y Dra. Silvie Dumas.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de Ecofisiología de organismos marinos, Dra. Tere Sicard, M. C. Armando Monge, Pedro, Paty y Roxana por su invaluable colaboración en la fase experimental del presente trabajo.

En especial, quiero agradecer a la Dra. G. Fabiola Arcos, Dra. Noemi Bocanegra, C. Dra. Poli Santamaría, C. Dra. Irán Suarez y a Dominga Meza por estar conmigo en los momentos más difíciles de mi vida y carrera con todo mi corazón les doy las gracias por estar apoyándome y sosteniéndome con sus palabras de aliento y por ser mis amigas.

Un agradecimiento especial para mis padres, hermanos, hijos, nuera y nieto; por que forman lo más importante en mi vida...Mi familia!!

ÍNDICE

	Página
Lista de Figuras	I
Lista de Tablas	V
Glosario	VII
Abreviaturas	X
Resumen	XII
Abstract	XIII
I. Introducción	1
II. Antecedentes	5
II.1. Marco Teórico.....	9
II.1.1. Aspectos de la Fisiología del camarón.....	9
II.1.1.1. Alimentación.....	9
II.1.1.2. Respiración.....	10
II.1.2. Fases del Metabolismo.....	10
II.1.2.1. Proteínas.....	11
II.1.2.2. Lípidos.....	15
II.1.2.3. Carbohidratos.....	16
II.1.3. Variables Físicoquímicas.....	19
II.1.3.1. Oxígeno.....	20
II.1.3.2. Temperatura.....	21
II.1.4. Mecanismos de Compensación Fisiológica.....	21
II.1.4.1. Efectos de la Concentración de Oxígeno disuelto.....	22
II.1.4.2. Efecto de la Temperatura.....	23
II.1.5. Otras Respuestas Fisiológicas.....	24
II.1.5.1. Estrés.....	25
II.1.5.2. Enfermedades por Bacterias y Virus.....	27
II.1.6. Balance Energético.....	30
II.1.6.1. Métodos de estimación.....	31
II.1.6.1.1. Ingesta (I).....	31
II.1.6.1.2. Heces (H).....	32
II.1.6.1.3. Respiración (R).....	34
II.1.6.1.4. Excreción nitrogenada (N).....	35
II.1.6.1.5. La razón O:N.....	36
II.1.6.1.6. Potencial de crecimiento (P).....	37
III. Justificación	38
IV. Hipótesis	38

	Página
V. Objetivo General	38
V.1. Objetivos Particulares.....	39
VI. Material y Métodos	40
VI.1. Obtención de los Organismos.....	40
VI.2. Modelo de Oscilación y Diseño Experimental.....	40
VI.3. Descripción del simulador SITMA.....	42
VI.3.1. Control de las variaciones de oxígeno y temperatura..	44
VI.4. Balance Energético (BE).....	45
VI.4.1. Ingestión (I).....	46
VI.4.2. Eficiencia de Absorción (EA).....	47
VI.4.3. Tasa Respiratoria (R).....	47
VI.4.4. Tasa de Excreción (E).....	49
VI.4.5. Relación O:N.....	49
VI.5. Peso Húmedo y Seco de los tejidos.....	50
VI.6. Toma de Muestras Biológicas.....	50
VI.7. Perfil Bioquímico.....	51
VI.7.1. Obtención de Hemolinfa.....	51
VI.7.2. Proteínas Totales.....	51
VI.7.3. Carbohidratos Totales.....	51
VI.7.4. Glucosa.....	52
VI.7.5. Glucógeno.....	53
VI.7.6. Lípidos Totales.....	53
VI.7.7. Triglicéridos.....	53
VI.7.8. Colesterol.....	53
VI.7.9. Lactato.....	54
VI.8. Respuestas Inmunológicas.....	54
VI.8.1. Peroxidación de Lípidos (TBARS).....	55
VI.8.2. Proteínas solubles.....	55
VI.8.3. Actividad enzimática.....	55
VI.8.4. Catalasa (CAT) E.C.1.11.1.6.....	56
VI.8.5. Glutación S-Transferasa (GST) E.C.2.5.1.18.....	56
VI.8.6. Superóxido Dismutasa (SOD) E.C.1.15.1.1.....	57
VI.9. Análisis estadístico.....	57
VII. Resultados	58
VII.1. Temperatura y Concentración del Oxígeno disuelto en los tanques.....	58

	Página
VII.2. Temperatura y Concentración del Oxígeno disuelto en las cámaras respirométricas.....	59
VII.3. Balance Energético.....	60
VII.3.1. Tasa de Ingestión.....	60
VII.3.2. Eficiencia de Absorción.....	62
VII.3.3. Tasa de Absorción	62
VII.3.4. Tasa de Respiratoria.....	64
VII.3.5. Tasa de Excreción.....	66
VII.3.6. Relación O:N.....	68
VII.3.7. Balance Energético.....	71
VII.4. Composición Bioquímica.....	73
VII.4.1. Hemolinfa.....	75
VII.4.2. Hepatopáncreas.....	77
VII.4.2.1. Carbohidratos.....	79
VII.4.2.2. Proteínas Totales.....	82
VII 4.2.3. Lípidos Totales.....	84
VII.4.2.4. Glucosa.....	86
VII.4.2.5. Glucógeno.....	88
VII.4.2.6. Colesterol.....	90
VII.4.2.7. Triglicéridos.....	92
VII.4.3. Músculo.....	94
VII.4.3.1. Carbohidratos.....	96
VII.4.3.2. Proteínas Totales.....	99
VII.4.3.3. Lípidos Totales.....	101
VII.4.3.4. Glucosa.....	103
VII.4.3.5. Glucógeno.....	105
VII.4.3.6. Colesterol.....	107
VII.4.3.7. Triglicéridos.....	109
VII. 4.3.8. Lactato.....	111
VII.5. Inmunológicos.....	113
VII.5.1. Peroxidación de Lípidos.....	113
VII.5.2. Proteínas.....	113
VII.5.3. Catalasa.....	114

	Página
VII.5.4. Glutación Transferasa (GST).....	115
VII.5.5. Superóxido Dismutasa (SOD).....	115
VIII. Discusiones	116
VII.1. Tasas Fisiológicas.....	116
VII.2. Relación O:N.....	118
VII.3. Balance Energético.....	118
VII.4. Composición Bioquímica.....	120
VII.4.1. Carbohidratos.....	120
VII.4.2. Glucosa.....	120
VII.4.3. Glucógenos.....	121
VII.4.4. Lactato.....	122
VII.4.5. Proteínas.....	122
VII.4.6. Lípidos.....	123
VII.4.7. Triglicéridos.....	124
VII.4.8. Colesterol.....	125
VII.5. Inmunológicos.....	126
IX. Conclusiones	128
X. Bibliografía	129
Anexos	146

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Patrones de variación diarios de oxígeno disuelto (línea sólida) y temperatura (línea punteada), registrados en estanques de cultivo de camarón durante los periodos de mayor mortalidad, en tres estados del Noroeste de México. (cortesía de G. Portillo y F. Magallón).	2
Figura 2 Tasa de consumo de oxígeno (triángulos y línea sólida) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> (7g masa húmeda) expuesto a condiciones oscilantes de oxígeno disuelto (círculos y línea punteada) a tres temperaturas estables (A) 20°C; (B) 25°C; (C) 30°C), durante 14h. Los valores representan la media ± Desv. Estándard. $n = 3$.	8
Figura 3 Hemocitos de camarones peneidos. (a) Hemocito semigranuloso (SGH siglas en inglés), hemocitos hialino (H). (b) Hemocito granuloso (LGH siglas en inglés), hemocito hialino (H). Imágenes tomadas de Destoumieux, <i>et al.</i> (2000).	29
Figura 4 Distribución de energía considerando los principales parámetros del balance energético (Rosas, <i>et al.</i> 2003a).	33
Figura 5 Modelos de las simulaciones del oxígeno (línea sólida) y temperatura (línea punteada) en condiciones de laboratorio. (a) Tratamiento 1; (b) Tratamiento 2; (c) Tratamiento 3.	41
Figura 6 Esquema del Simulador Térmico Marino, se muestran los componentes diseñados para simular las oscilaciones térmicas en los tanques de forma simultanea e independiente (Tomado de Sicard, 2006).	42
Figura 7 Tanque experimental del Simulador Térmico Marino se muestra el calentador de titanio (a), el serpentín de enfriamiento (b), sensor de temperatura (c), piedras difusoras de aire (d).	43
Figura 8 Curva de simulación de la temperatura que se muestra en la pantalla de la computadora del Simulador Térmico Marino. (Modificado de Sicard, 2006).	43
Figura 9 Tanques experimentales del Simulador Térmico Marino (a). Sistema de simulación oscilatoria de la concentración de oxígeno: b) bomba de aire individual; c) tanque de nitrógeno gaseoso; d) interruptor eléctrico; e) multicontacto para abrir o cerrar el aire o el nitrógeno gaseoso.	44

	Página
Figura 10 Sensor de oxígeno de fibra óptica (microoptode) del oxímetro Microx TX, colocado a una manguera con flujo continuo para las determinaciones del oxígeno disuelto de los tanques de los tratamientos.	45
Figura 11 Cámaras respirométricas de los tratamientos dentro de los tanques experimentales del SITAM.	46
Figura 12 Cámara respirométrica con sistema de flujo continuo, para evaluar las tasas fisiológicas utilizadas del camarón blanco <i>L. vannamei</i> .	46
Figura 13 Sensor de oxígeno (a) tipo microoptode de fibra óptica de 50 μm de diámetro conectado en el puerto de salida (b) de un distribuidor de 4 vías (c) que recibía los efluentes de cada cámara (d).	48
Figura 14 Ejemplo del registro de oxígeno disuelto (PO_2), tomado de los registros del oxímetro Microx TX durante los tratamientos experimentales. Las crestas y los valles corresponden a los valores del agua antes y después de pasar por una cámara con organismos.	49
Figura 15 Secuencia para obtener la muestras de hemolinfa del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> , expuestos a la oscilación de PO_2 y de $^{\circ}\text{C}$. a) juveniles de camarón; b) extracción de la base del pleópodo del primer segmento abdominal; c y d) pool de hemolinfa.	52
Figura 16 Oscilación en la concentración del oxígeno (PO_2) y la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), registrados en las tinas durante la fase experimental para el camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> .	58
Figura 17 Oscilación en la concentración del oxígeno (PO_2) y la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), registrados en las cámaras respirométricas durante la fase experimental para el camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> .	59
Figura 18 Tasa de Ingestión (TI) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno.	61
Figura 19 Eficiencia de Absorción (EA) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno	63
Figura 20 Tasa de Absorción (TA) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno.	65
Figura 21 Tasa Respiratoria (TR) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno.	67

	Página
Figura 22 Tasa de Excreción (TE) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante los días de oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	69
Figura 23 Relación O:N (TE) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante los días de oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	70
Figura 24 Balance Energético (BE) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno.	73
Figura 25 Niveles de carbohidratos (CHO) en hepatopáncreas del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	70
Figura 26 Niveles de proteínas (PT) en hepatopáncreas del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	83
Figura 27 Niveles de lípidos (LT) en hepatopáncreas del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	85
Figura 28 Niveles de glucosa (GLU) en músculo del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	87
Figura 29 Niveles de glucógeno (GCG) en hepatopáncreas del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	89
Figura 30 Niveles de colesterol (COL) en hepatopáncreas del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	91
Figura 31 Niveles de triglicéridos (TG) en hepatopáncreas del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	93
Figura 32 Niveles de carbohidratos (CHO) en músculo del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	97
Figura 33 Niveles de proteínas (PT) en músculo del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	100

	Página
Figura 34 Niveles de lípidos (LT) en músculo del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂). (102
Figura 35 Niveles de glucosa (GLU) en músculo del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	104
Figura 36 Niveles de glucógeno (GCG) en músculo del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	106
Figura 37 Niveles de colesterol (COL) en músculo del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	108
Figura 38 Niveles de triglicéridos (TG) en músculo del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	110
Figura 39 Niveles de lactato (LAC) en músculo del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.	112
Figura 40 Niveles de proteínas en hemocitos del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	113
Figura 41 Niveles de catalasa en hemocitos del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂	114
Figura 42 Niveles de superóxido dismutasa (SOD) en hemocitos del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO ₂).	115

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Concentraciones de oxígeno disuelto (PO_2) máximos y mínimos registrados en estanques de cultivo de camarón durante un ciclo de cultivo de 3 a 5 meses en tres estados del Noroeste de México. Se indica la hora en que se registraron los valores y el rango de variación.	3
Tabla 2 Temperaturas máximas y mínimas registradas en estanques de cultivo de camarón durante un ciclo de cultivo de 3 a 5 meses en tres estados del Noroeste de México. Se indica la hora en que se registraron los valores y el rango de variación.	3
Tabla 3 Requerimiento de proteínas en diferentes especies de camarón.	12
Tabla 4 Concentración letal del amoniaco (NH_3 , mg/L) en diferentes especies de postlarvas de peneidos. Intervalos de confianza en paréntesis. Edad (PL_x),	14
Tabla 5 Concentración letal para el Nitrito-N (NO_2^- -N, mg/L) en diferentes especies de postlarvas de peneidos. Intervalos de confianza en paréntesis. Edad (PL_x).	14
Tabla 6 El contenido de energía de los tres tipos principales de nutrientes	15
Tabla 7 Enfermedades causadas por bacterias y virus en camarones peneidos.	27
Tabla 8 Balance Energético (J/g/h) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno.	72
Tabla 9 Componentes bioquímicos media (\pm D.E.) en hemolinfa, hepatopáncreas y músculo en los tratamientos de oscilación del oxígeno y temperatura durante 7 días en juveniles de camarón <i>L. vannamei</i> .	74
Tabla 10 Bioquímica de la Hemolinfa (mg/L) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno.	76
Tabla 11 Bioquímica en el Hepatopáncreas ($mg\ g^{-1}$) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno.	78
Tabla 12 Bioquímica en el Hepatopáncreas ($mg\ g^{-1}$) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno.	80

Tabla 13	Bioquímica en el Músculo (mg g^{-1}) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno.	95
Tabla 14	Bioquímica del Músculo (mg/g) del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno.	98

GLOSARIO

Absorbancia. Característica intrínseca de las moléculas medidas por espectrofotometría para absorber éstas un haz de luz a determinada longitud de onda.

Actividad enzimática: Capacidad de un enzima para transformar un sustrato.

Anabolismo o biosíntesis: es una de las dos partes del metabolismo, encargada de la síntesis o bioformación de moléculas orgánicas (biomoléculas) más complejas a partir de otras más sencillas o de los nutrientes, con requerimiento de energía (reacciones endergónicas), al contrario que el catabolismo.

Antioxidante: Cualquier sustancia que estando en concentración mucho más baja que la de cualquier sustrato oxidable por un radical libre, previene o demora la oxidación de dicho sustrato. El antioxidante posee una estructura química apropiada para reaccionar fácilmente con un radical libre con un costo mínimo para el organismo.

Asimilación: Proceso fisiológico en el cual se metabolizan los nutrientes empleando al oxígeno como el aceptor final de los electrones.

Balance Energético: Es un modelo en el que se integran diversas respuestas fisiológicas con el principal fin de conocer los destinos de la energía ingerida, incluyendo tanto los relacionados con el mantenimiento de las funciones básicas, como los dirigidos al mantenimiento de la homeostasis o la producción de biomasa y gametos.

Biomasa: Cantidad de células presentes medidas como masa.

Caloría: La cantidad de energía necesaria para la elevación de la temperatura de 1g de agua entre 14.5 y 15.5°C.

Carbohidratos: Son moléculas orgánicas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno. Son solubles en agua y se clasifican de acuerdo a la cantidad de carbonos o por el grupo funcional que tienen adherido. Representan la forma biológica primaria de almacenamiento y consumo de energía.

Catabolismo: Conjunto de reacciones de degradación donde los nutrientes (lípidos, carbohidratos y proteínas) que provienen del medio externo o de los depósitos de la misma célula, se degradan mediante reacciones oxidativas en productos más sencillos como ácido láctico, ácido acético, amoníaco, urea o CO₂.

Catalasa: Enzima hemoproteica que cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.

Dismutación: Las reacciones químicas las cuales los productos son obtenidos por reducción y oxidación del mismo átomo o molécula.

Enzima: Proteínas especializadas en la catálisis de las reacciones biológicas.

Estrés: Conjunto de respuestas fisiológicas que ocurren como reacción a un disturbio ambiental o metabólico que desvíen al organismo de su homeostasis.

Estrés oxidativo: Es un desbalance en la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) y las defensas antioxidantes, que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos los cuales provocan el deterioro y la muerte celular.

Glucólisis: Ruta metabólica por la que hexosas como la glucosa, son degradadas en sustancias más simples como piruvato y lactato.

Hemocitos: Son las células que se localizan en la hemolinfa de los invertebrados.

Hepatopáncreas: Glándula anexa al tubo digestivo, que desempeña una función análoga a la del hígado y el páncreas de los vertebrados. Se encarga de la producción de las enzimas y absorción de alimentos. Algunos autores proponen que se llame glándula del intestino medio o digestivo.

Hiperglicémia: incremento de la glucosa por arriba de los valores normales.

Hipoxia: Niveles ambientales de oxígeno reducido.

Homeostasis: Es la coordinación de un conjunto complejo de procesos fisiológicos vía comunicación química y /o eléctrica entre los tejidos para lograr las compensaciones necesarias y apropiadas.

Joule: La cantidad de trabajo realizado cuando la fuerza de un newton avanza 1m en la dirección de la fuerza ($J = m^2 s^{-2} kg^{-1}$).

Lípidos: Conjunto de moléculas orgánicas, la mayoría biomoléculas, compuestas principalmente por carbono e hidrógeno y en menor medida oxígeno, aunque también pueden contener fósforo, azufre y nitrógeno, que tienen como característica principal el ser hidrofóbicas o insolubles en agua y sí en disolventes orgánicos como la bencina, el alcohol, el benceno y el cloroformo.

Metabolismo: Conjunto de reacciones y procesos físico-químicos que ocurren en una célula que engloban la obtención y utilización de energía

Metabolito: Cualquier molécula utilizada o producida durante el metabolismo..

Metabolismo anaerobio: Metabolismo sin utilización de oxígeno molecular.

Oxidación: La combinación de una sustancia con el oxígeno, o en general cualquier reacción en la que un átomo pierde electrones.

Peroxidación de lípidos: Es la incorporación de oxígeno en aquellos lípidos que contienen uno o más dobles enlaces entre sus átomos de carbono. Este proceso conduce a la rancidez de aceites, grasas y margarinas y en sistemas biológicos determina el daño en membranas.

Proteínas: son las moléculas orgánicas principales y esenciales para construir y reparar el tejido dañado (mantenimiento), para la síntesis de nuevos tejidos (crecimiento y reproducción) e intervienen en los procesos metabólicos de los organismos como la catálisis enzimática, así como el transporte y almacenamiento de muchos iones y moléculas.

Radicales libres: Átomos o moléculas cuya última capa electrónica no se encuentran apareada en su totalidad que las hace ser altamente reactivas.

Reducción: Cualquier reacción en la que un átomo o molécula gana electrones. Los electrones tomados por la sustancia que se reduce son suministrados por otras sustancias que son oxidadas.

Respuesta celular: Reacción de defensa en la que participan directamente las células.

Respuesta humoral: Reacción de defensa producida por moléculas extracelulares, por ejemplo anticuerpos.

Sistema inmune: Tiene la función de mantener la individualidad biológica, por lo cual su actividad principal es la de diferenciar y de eliminar todo material extraño de sus tejidos.

Substrato: En bioquímica es el compuesto que se transforma en un producto en una reacción enzimática.

ABREVIATURAS

ATP	Adenosina trisfosfato
ANOVA	Análisis de variancia
BE	Balance energético
CO₂	Bióxido de carbono
EA	Eficiencia de absorción
GST	Glutación-S-Transferasa
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
IHHNV	Infección hipodérmica
NO₃	Amoníaco no ionizado
NO₄⁺	Ion de amonio
O:N	Relación oxígeno-nitrógeno
proPO	Sistema profenoloxidasa
PO₂	Concentración oxígeno disuelto en el agua
SITMA	Simulador térmico marino
SOD	Superoxido Dismutasa
TA	Tasa de absorción
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Peroxidación de lípidos
TE	Tasa de excreción
TI	Tasas de ingestión
TR	Tasa respiratoria

T1	Tratamiento uno
T2	Tratamiento dos
T3	Tratamiento tres
UPS	Unidades practicas de salinidad
VO₂	Consumo de oxígeno
TSV	Síndrome del Taura
WSSV	Síndrome de la mancha blanco
YHV	Enfermedad de la cabeza amarilla

Resumen

El cultivo de camarón en México se realiza principalmente en el noroeste del país en los estados de Sonora, Sinaloa, Nayarit, Colima y Baja California Sur, en sistemas semiintensivos. Las variables ambientales modifican las actividades fisiológicas de los organismos, la concentración del oxígeno disuelto en el agua es la variable ambiental más limitante en las especies acuáticas. En el presente trabajo, se estudio el efecto combinado de la concentración del oxígeno disuelto y temperatura, bajo condiciones oscilantes (siete días), sobre el balance energético, la relación O:N y los substratos energéticos del camarón blanco. Juveniles de camarón blanco *L. vannamei* con peso húmedo promedio de 2.8 (± 0.3) g, fueron sometidos a tres tratamientos, tratamiento 1 (T1) o control, la concentración del oxígeno disuelto en el agua (PO_2) fue a 8 ± 0.7 mg/L y la temperatura a 28°C, durante toda la fase experimental. En el tratamiento 2 (T2), la oscilación de la temperatura fue de 26 a 30°C y la PO_2 osciló de 2 a 5 mg/L. Para el tratamiento 3 (T3), la oscilación de la temperatura fue de 23 a 33°C y la PO_2 fue de 1 a 7.5 mg/L. Se estimaron, las tasas de ingestión (TI), absorción (TA), eficiencia de absorción (EA), tasa respiratoria (TR) y de excreción (TE), para obtener el balance energético y la relación de oxígeno:nitrógeno (O:N), en los organismos que se mantuvieron durante los 7 días en las cámaras respirométricas. Se evaluó la composición bioquímica en hemolinfa, hepatopáncreas y músculo en organismos de los tanques de cada tratamiento experimental, de carbohidratos, proteínas totales, lípidos totales, glucosa, glucógeno, colesterol, triglicéridos y lactato. Se realizaron análisis en los hemocitos del tratamiento 1 y 3 del último día de la fase experimental, se determinó: Peroxidación de lípidos (TBARS), proteínas solubles, catalasa, glutatión-s-transferasa (GST), superóxido dismutasa (SOD). Los resultados de la TI, TA y EA no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tres tratamientos, la TR, en el T2 y T3 presentan un patrón similar a la oscilación de concentración del oxígeno disuelto en el agua y de la temperatura, la TE fue muy variable entre los tres tratamientos y no presentaron diferencias. La relación de O:N en los tres tratamientos no fueron significativas, e indica que el principal sustrato son las proteínas y en algunas ocasiones en el T1 y T3 utilizan los carbohidratos y lípidos. El balance energético fue positivo aunque no presento diferencias significativas entre los tratamiento, pero se incremento la biomasa en los camarones al final del experimento. Los componentes bioquímicos en la hemolinfa, hepatopáncreas y músculo fueron diferentes entre los tratamientos, presentando variaciones en el segunda día de toma de muestras para estabilizarse al final de la fase experimental. El TBARS y la GST no se presento evidencias, las proteínas solubles fueron mayor en el T1 que en T3, la catalasa el T1 (181.88 ± 0.024 UCAT/mg) fue mayor en el T3 (101.46 ± 0.01 U/mg de proteína), y la SOD tuvo mayor actividad con 31.1 U/mg de proteína de proteína en el T3 en comparación con el T1. Los juveniles de camarón blanco *L.vannamei*, sometidos a oscilaciones del oxígeno disuelto y temperatura en el agua fueron capaces de regular su metabolismo y fisiología para adaptarse a las condiciones a las que fueron sometidos.

Abstract

Shrimp farming in Mexico is realized mainly in the northwest in the states of Sonora, Sinaloa, Nayarit, Colima and Baja California Sur, in semi-intensive systems. The environmental variables alter the physiological activities of organisms; the dissolved oxygen concentration in water is the most limiting environmental variable in aquatic species. The present study treats about the combined effect of dissolved oxygen concentration and temperature under oscillating conditions (seven days) on the energy balance, the O: N relation and energy substrates in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. White shrimp juvenile with average wet weight of 2.8 (\pm 0.3) g, were subjected to three treatments. Treatment 1 (T1) or control, dissolved oxygen concentration in water (PO₂), 8 \pm 0.7 mg / L and temperature 28°C. Treatment 2 (T2), PO₂ ranged from 2 to 5 mg / L and temperature range from 26 to 30°C and treatment 3 (T3), PO₂ range from 1 to 7.5 mg / L and temperature range from 23 to 33°C. The ingestion (IR) and absorption (AR) rates, absorption efficiency (AE), respiratory (RR) and excretion (ER) rates were estimated to obtain the energetic balance and the oxygen: nitrogen ratio (O: N), in organisms supported in respiratory chambers. Biochemical composition (carbohydrates, total protein, total lipids, glucose, glycogen, cholesterol, triglycerides and lactate) in haemolymph, hepatopancreas and muscle was assessed. The last day of experiment, in the treatments 1 and 3, lipid peroxidation (TBARS), soluble proteins, catalase, glutathione-s-transferase (GST), and superoxide dismutase (SOD) in hemocytes was determined. The results of IR, AR and AE did not differ significantly ($p > 0.05$) among treatments. The RR in T2 and T3 showed a similar pattern to the oscillation of dissolved oxygen concentration and temperature, the ER was highly variable among treatments and were not different. The O:N ratio in the treatments was not significant, indicating that the main substrates were the proteins and sometimes carbohydrates and lipids were used in T1 and T3. The energetic balance was positive and without significant differences between treatments, however the biomass increased in shrimp at the end of experiment. Biochemical components in the hemolymph, hepatopancreas and muscle were different between treatments, with differences on the second day of sampling, to stabilize at the end of experiment. The TBARS and GST were not detected, the soluble proteins were higher in T1 than T3, catalase in T1 (181.88 \pm 0.024 U / mg protein) was higher than T3 (101.46 \pm 0.01 U / mg protein) and SOD activity was higher (31.1 U / mg protein) in T3 than T1. Juvenile white shrimp, *L. vannamei*, subject to oscillations of dissolved oxygen and temperature were able to regulate their metabolism and physiology to adapt to the conditions under which they were subjected.

I. Introducción

Los camarones peneidos por su valor comercial, se consideran de suma importancia a nivel mundial, tanto para las pesquerías como para la acuicultura. La explotación y manejo de recursos bióticos es más eficiente en la medida en que se tengan mejores conocimientos sobre su biología, ecología y fisiología (Martínez, 1999).

El cultivo del camarón generó 1.3 millones de toneladas métricas en el año 2000 (FAO) de los cuales el 11% se produjeron en América Latina cultivando el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Roseberry, 2003). En México la camaronicultura se realiza principalmente en estanques de tierra en el noroeste del país en los estados de Sonora, Sinaloa, Nayarit, Colima y Baja California Sur. Los ciclos de cultivo en cada entidad varían debido al clima. En Nayarit los acuicultores realizan dos ciclos cortos de tres meses mientras que en Sonora, Sinaloa y BCS se lleva a cabo un solo ciclo anual con duración de 5 meses y se hacen cosechas parciales para reducir la densidad en los últimos dos meses del ciclo. Las variables ambientales modifican las actividades fisiológicas de los organismos, la concentración del oxígeno disuelto en el agua es la variable ambiental más limitante en las especies acuáticas (Boyd y Watten, 1989), especialmente durante las horas de oscuridad. En los estanques de cultivo ocurren niveles críticos cuando la concentración de oxígeno llega niveles por debajo de los 3 mg/L, y se presentan principalmente al amanecer, lo cual ocasiona que los organismos se estresen lo que puede llegar a resultar en mortalidades (Shigueno, 1975; Wickins, 1976; Madenjjan, 1989). Sin embargo, algunos de los acuicultores no registran de manera continua el oxígeno disuelto y la temperatura, por lo tanto carecen de elementos suficientes para explicar mortandades o para conocer la vulnerabilidad del camarón a las enfermedades. Durante los dos años recientes se está llevando a cabo en granjas tipo de cada entidad del noreste de México, un estudio sobre el comportamiento de la enfermedad viral mancha blanca (WSSU), en donde se registran por vez primera, variables ambientales como el oxígeno disuelto y la temperatura cada 15 min.. El análisis de las bases de datos permitió definir los patrones típicos de variación de oxígeno disuelto y temperatura en Nayarit, Sinaloa y Sonora (Fig. 1). En esta figura se observan

patrones oscilantes de ambas variables, cuyos valores máximos y mínimos ocurren casi simultáneamente (Tablas 1 y 2).

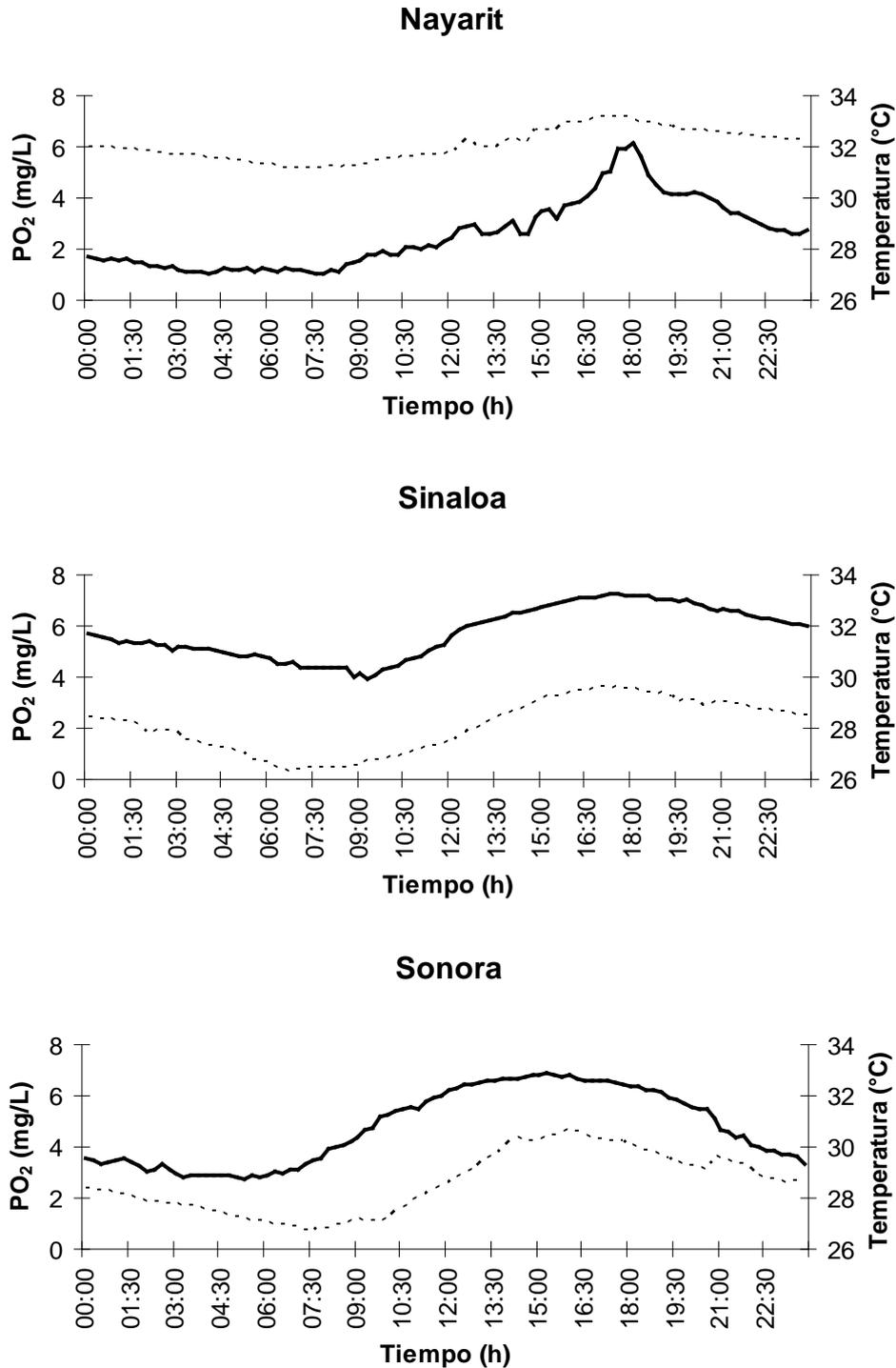


Figura 1. Patrones de variación diarios de oxígeno disuelto (línea sólida) y temperatura (línea punteada), registrados en estanques de cultivo de camarón durante los periodos de mayor mortalidad, en tres estados del Noroeste de México. (Cortesía de G. Portillo y F. Magallón).

Tabla 1. Concentraciones de oxígeno disuelto (PO_2) máximos y mínimos registrados en estanques de cultivo de camarón durante un ciclo de cultivo de 3 a 5 meses en tres estados del Noroeste de México. Se indica la hora en que se registraron los valores y el rango de variación.

Estado	Máximo		Mínimo		Rango de variación
	PO_2 (mg/L)	Hora	PO_2 (mg/L)	Hora	PO_2 Max- PO_2 Min mg/L
Nayarit	6.14	18:00	1.06	4:00	5.08
Sinaloa	7.26	17:30	3.96	9:15	3.30
Sonora	6.86	15:15	2.71	5:15	4.15

Tabla 2. Temperaturas máximas y mínimas registradas en estanques de cultivo de camarón durante un ciclo de cultivo de 3 a 5 meses en tres estados del Noroeste de México. Se indica la hora en que se registraron los valores y el rango de variación.

Estado	Máximo		Mínimo		Rango de variación $T^{\circ}C$
	Temperatura ($^{\circ}C$)	Hora	Temperatura ($^{\circ}C$)	Hora	Max- $T^{\circ}C$ Min $^{\circ}C$
Nayarit	33.2	17:15	31.2	7:00	2.03
Sinaloa	29.6	17:00	26.3	6:45	3.33
Sonora	30.7	16:00	26.7	7:30	4.02

Una revisión bibliográfica sobre el tema, reveló la falta de estudios sobre el efecto combinado de temperatura y oxígeno disuelto en condiciones oscilantes sobre la fisiología del camarón blanco. La mayoría de los estudios sobre la fisiología del camarón blanco se han realizado en condiciones estables de oxígeno disuelto y temperatura a diferentes niveles. Los estudios reportan datos de consumo de oxígeno como una contribución al conocimiento de la respuesta fisiológica del camarón, pero con ellos no se logra evaluar la condición fisiológica del organismo y los cambios constantes inducidos por las modificaciones que ocurren en el ambiente.

En el presente trabajo, se estudio el efecto combinado de la concentración del oxígeno disuelto y temperatura, bajo condiciones oscilantes, sobre el balance energético, la relación O:N y los substratos energéticos del camarón blanco.

II. Antecedentes

Existe información sobre los efectos de la temperatura y condiciones de hipoxia sobre la fisiología de algunas especies de camarón. Se encontró que el camarón *Litopenaeus vannamei* crece lentamente en temperaturas de 22°C (Edwards, 1977). El rango de temperatura para esta especie es de 23 a 34°C, en donde valores mayores o inferiores a este rango pueden ser letales (Lucien-Brun, 1989).

El rango de oxígeno disuelto para el desarrollo de *L. vannamei* ha sido determinado entre 2 y 5 mg/L (Lucien-Brun, 1989). La tolerancia a niveles bajos de oxígeno varía con las especies y en los distintos estadios de desarrollo (Broom 1971; Mackay, 1974).

Se han reportado niveles letales de oxígeno disuelto en el rango de 0.2-1.0 mg/L para un gran número de especies de camarón, incluyendo *Penaeus japonicus*, *P. schmitti*, *P. monodon* y *L. vannamei* (antes *Penaeus vannamei*) (Egusa, 1961; Mackay, 1974; Liao y Huang, 1975; Hopkins *et al.*, 1991). Niveles sub-letales de la concentración de oxígeno pueden afectar negativamente el crecimiento, alimentación, frecuencia de muda y metabolismo (Seidman y Lawrence, 1985; Clark, 1986; Chang y Ouyang, 1988; Racotta *et al.*, 2002).

Haijuan *et al.*, (2004), determinaron el límite inferior de tolerancia en el oxígeno disuelto a 3 mg/L en cultivos bajo techo, indicando que diferentes niveles de oxígeno disuelto y temperatura, afectan el consumo de oxígeno en juveniles de *L. vannamei*.

Villarreal y Ocampo, (1993), estudiaron el efecto de la talla de los organismos y la temperatura sobre el consumo de oxígeno en el camarón café *Farfantepenaeus californiensis*, encontraron que el consumo de oxígeno (mgO₂/g/min) fue independiente a la concentración del oxígeno disuelto a niveles menores de 1.8 mg/L. El coeficiente térmico (Q₁₀) indicó una alta sensibilidad de preadultos a las variaciones de la temperatura.

Villarreal *et al.*, (2003), investigaron los efectos de la salinidad en el crecimiento, supervivencia y consumo de oxígeno en juveniles del camarón café *F. californiensis*. Encontraron que al incrementarse la salinidad se reduce el peso de los organismos, y aumenta la mortalidad. El aumento en la tasa del

consumo de oxígeno a salinidades altas reflejó la respuesta osmorregulatoria y desequilibrio iónico del organismo.

Rosas *et al.*, (1999), realizaron un estudio en juveniles del camarón *Penaeus setiferus* (Linnaeus), para determinar los efectos del oxígeno disuelto y la salinidad sobre el consumo de oxígeno, excreción de amonio y la presión osmótica. Los resultados indicaron que son organismos oxirreguladores entre 4 y 5.8 mg/L de oxígeno disuelto y oxiconformadores entre 2 y 3 mg/L de oxígeno disuelto a salinidades de 15 y 35 ppm. Reportan que la excreción del amonio disminuye en proporción directa con la baja concentración del oxígeno disuelto. Reportaron que los juveniles de *P. setiferus* son capaces de cambiar su sustrato como fuente de energía en respuesta a los cambios de salinidad y oxígeno disuelto. Sin embargo, en bajas salinidades, los animales fundamentalmente mantienen las proteínas como su sustrato de energía a todos los niveles de oxígeno disuelto.

Lemos *et al.*, (2001), estudiaron las respuestas fisiológicas en postlarvas de *Farfantepenaeus paulensis* a diferentes salinidades (5, 15, 25 y 34 ups) y evaluaron el crecimiento, la eficiencia neta de crecimiento (K_2), consumo de oxígeno, excreción de amonio-N, contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos, cenizas y energía. Encontraron que el crecimiento no se ve afectado a salinidades menores de 34 ups. El consumo de oxígeno fue poco afectado por la salinidad, mientras que la excreción del amonio-N presentó una correlación negativa con la salinidad. Las proteínas fueron bajas a 34 ups, en PL VI-VII, los lípidos bajaron en salinidades de 5 ups, los niveles de carbohidratos y las cenizas no se afectaron con los cambios de la salinidad.

Pillai y Diwan, (2002), encontraron que la tasa respiratoria en *Metapenaeus monoceros* (Fabricius) es menor a salinidades bajas (20 y 25 ppt) y significativamente alta a salinidades de 30 y 35 ppt. La excreción del amonio-N se incrementó significativamente a salinidades altas y después de cambios abruptos de temperatura. La relación O:N presentó un decremento al cambio abrupto de altas a bajas salinidades, indicando un cambio hacia el metabolismo de proteínas. Una tendencia inversa se observó en la relación de O:N cuando los camarones fueron expuestos a alta salinidad indicando un cambio hacia el metabolismo de lípidos.

Li *et al.*, (2007), estudiaron la tolerancia al amonio-N, a 3, 17 y 32 ups, en juveniles de camarón blanco *L. vannamei* (0.69 ± 0.13 g). Para ello estimaron el crecimiento, la composición bioquímica y la tasa respiratoria. Encontraron que las proteínas y las cenizas no fueron afectadas por la salinidad. Los lípidos crudos en camarón fueron bajos a 32 ups. El consumo del oxígeno y el cociente respiratorio a 3 ups fueron significativamente más altos que a salinidades elevadas. Sin embargo, no hubo diferencia significativa en la producción del CO₂.

Li *et al.*, (2006), investigaron los efectos de inanición y saciedad en el consumo de oxígeno en *L. vannamei*, bajo diferentes temperaturas. Encontraron que la tasa de consumo de oxígeno y la excreción del nitrógeno se incrementa cuando los camarones se alimentan a saciedad, comparados con los camarones en inanición.

Ocampo y Ezquerro (2002), estudiaron la actividad de proteasa total, tripsina y quimotripsina en postlarvas de *F. californiensis*, durante 50 días a 2 concentraciones de oxígeno disuelto (5.8 y 2.6 mg/L) y tres temperaturas (19, 23 y 27°C). Los resultados que obtuvieron sugieren la presencia de diferentes enzimas digestivas proteolíticas como un mecanismo de adaptación a las variaciones de temperatura y oxígeno disuelto.

Comoglio *et al.*, (2004), evaluaron el estado fisiológico (consumo de oxígeno, índice de realimentación post inanición, excreción de nitrógeno y tasa de O:N) y la actividad de las enzimas digestivas en juveniles de camarón blanco *L. vannamei*, en inanición de 0 a 15 días. Encontraron que los cambios fisiológicos se encontraron después de los 6 días de ayuno. La inanición produjo la caída gradual del metabolismo a nivel basal y una disminución de la tasa de excreción de amonio.

El único estudio del que se tiene conocimiento sobre el efecto de la oscilación de oxígeno disuelto en la tasa respiratoria rutinaria del camarón blanco a diferentes temperaturas estables, es el de Puente Carreón (datos no publicados). Encontró que la tasa de consumo de oxígeno (VO₂) sigue en general el patrón de oscilación de oxígeno disuelto (PO₂), obteniéndose tasas más elevadas a temperaturas más bajas. Después de la hipoxia, la VO₂ se incrementa abruptamente para luego declinar (Figura 2).

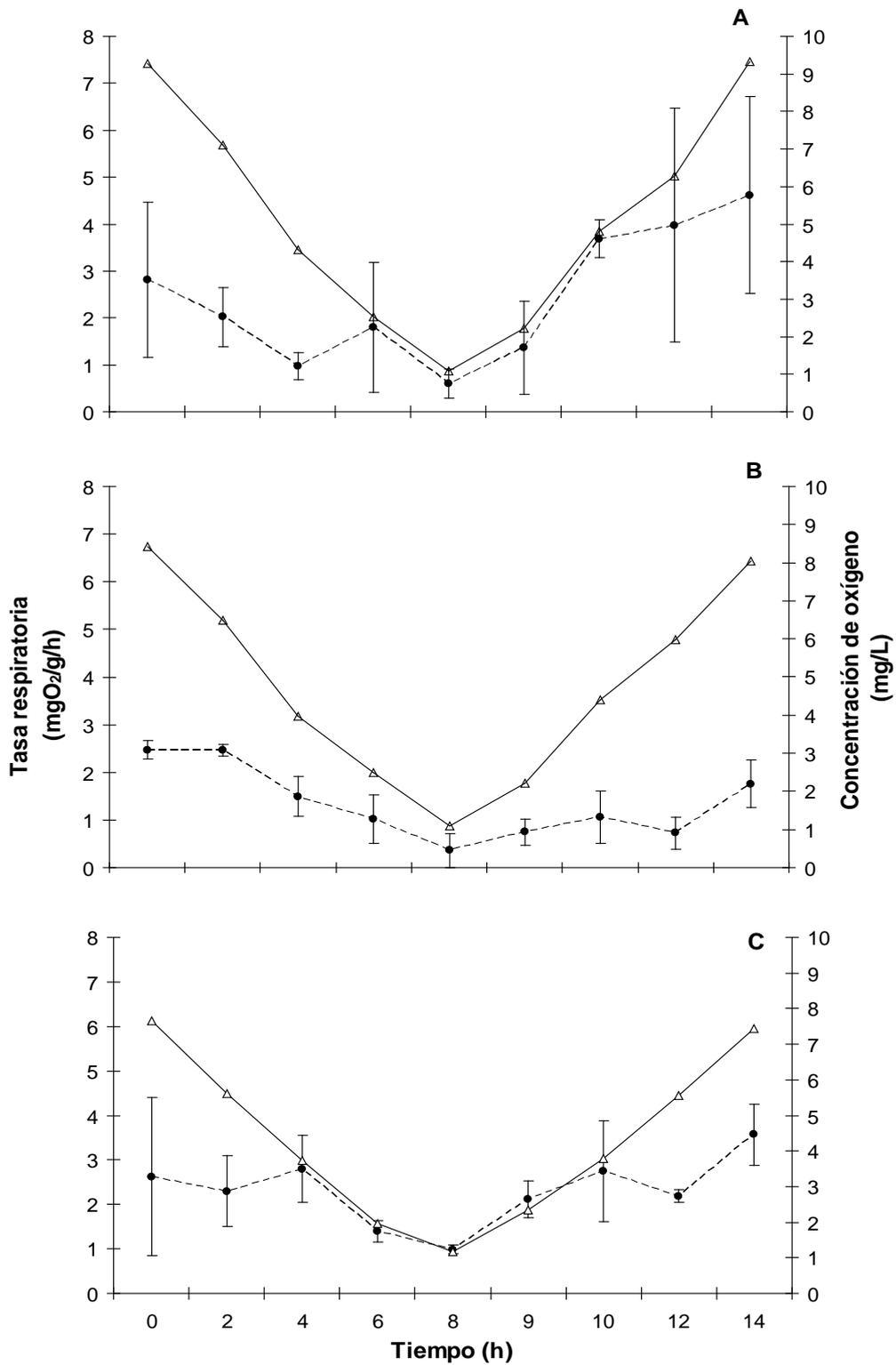


Figura 2. Tasa de consumo de oxígeno (triángulos y línea sólida) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (7g masa húmeda) expuesto a condiciones oscilantes de oxígeno disuelto (círculos y línea punteada) a tres temperaturas estables (A) 20°C; (B) 25°C; (C) 30°C, durante 14h. Los valores representan la media \pm Desv. Estándar. $n = 3$.

Villarreal y Hewitt (1991) reportaron que el aumento de la temperatura y salinidad, aumenta el consumo de oxígeno, al disminuir la concentración del oxígeno disuelto en el agua, observaron que los camarones aumentan el consumo de oxígeno hasta cierto límite en el cual empieza a disminuir. Villarreal *et al* (1994) demostraron que hay un punto en que el consumo de oxígeno en *L. vannamei* depende de la saturación de oxígeno en el medio.

II.1. MARCO TEORICO

II.1.1. ASPECTOS DE LA FISIOLOGÍA DEL CAMARÓN

II.1.1.1 Alimentación

Las respuestas fisiológicas son esenciales para evaluar el funcionamiento de los organismos a diferentes condiciones ambientales (Hernández *et al.*, 2006; Allen *et al.*, 2006).

Para el desarrollo óptimo de los camarones, se requiere de compuestos químicos vitales obtenidos del alimento, el cual se transforma una parte en energía y otra parte para la formación de biomasa. El proceso de alimentación implica las siguientes funciones: percepción, captura, ingestión y asimilación.

Después de la ingesta, el alimento se fragmenta en el estómago e inicia la degradación bioquímica en hepatopáncreas, donde se absorben y almacenan nutrientes contenidos en el alimento. La energía se transforma en biomasa, siendo el final de la digestión la formación de las heces fecales (Martínez, 1999).

El alimento es la fuente de donde se obtiene la energía metabólica, los elementos nutricionales y los componentes estructurales que los camarones requieren. El metabolismo en los organismos es más activo durante las primeras etapas del desarrollo, cuando el crecimiento es más rápido y decrece exponencialmente a medida que el animal alcanza tallas mayores y se acerca a la madurez (Rosas, *et al.* 1998; Shiau 1998). La energía derivada del alimento consumido es utilizada generalmente para el crecimiento y el metabolismo respiratorio, mientras que otra porción de energía se pierde durante la excreción de desechos nitrogenados y a través de las heces fecales (Blaxter, 1989).

II.1.1.2 Respiración

En los camarones, el aparato respiratorio se encuentra formado por dendobranquias que se localizan en las partes laterales del cefalotórax, en una cámara, protegida por la pleura que lo cubre. El agua pasa a través de esta cámara por el movimiento de los pereiópodos o cuando nadan; en las dendobranquias se lleva el intercambio gaseoso del oxígeno por el bióxido de carbono de la hemolinfa, que posteriormente pasa al corazón, para su distribución a todo el cuerpo del camarón.

El oxígeno es el último aceptor final de electrones en la secuencia de reacciones de oxidación mediante las cuales se libera la energía química en el metabolismo celular (Randall, *et al.* 1998) y por lo tanto, a través de éste se puede calcular la cantidad de energía utilizada para satisfacer las demandas fisiológicas del individuo (Lehninger, 1989). El consumo de oxígeno es mayor en organismos pequeños y para organismos más activos.

II.1.2. FASES DEL METABOLISMO

El metabolismo es el conjunto de reacciones y procesos físico-químicos que ocurren en una célula que engloban la obtención y utilización de energía, donde un compuesto químico (sustrato) es transformado en otro (producto), y éste a su vez funciona como sustrato para generar otro producto, siguiendo una secuencia de reacciones bajo la intervención de diferentes enzimas (generalmente una para cada sustrato-reacción). Las enzimas también se comportan como factores reguladores de las vías metabólicas, modificando su funcionalidad y por ende, la actividad completa de la vía metabólica en respuesta al ambiente y a las necesidades de la célula, o según señales provenientes de otras células (Randall, *et al.* 1998).

El catabolismo, es el conjunto de reacciones de degradación donde los nutrientes (lípidos, carbohidratos y proteínas) que provienen del medio externo o de los depósitos de la misma célula, se degradan mediante reacciones oxidativas en productos más sencillos como ácido láctico, ácido acético, amoníaco, urea o CO₂. El catabolismo va acompañado de liberación de la

energía, la cual es almacenada en forma de adenosina trifosfato (ATP) (Garrido, *et al.* 2005).

El anabolismo es la fase constructiva o de biosíntesis. En el anabolismo las pequeñas moléculas precursoras de las células se ensamblan para dar origen a componentes celulares como polisacáridos, ácidos nucleicos, proteínas y lípidos. Durante este proceso de biosíntesis se obtienen moléculas de mayor tamaño y complejidad estructural, por lo que requieren de energía libre, que la obtienen de la hidrólisis del ATP (Garrido, *et al.* 2005).

La velocidad de utilización de energía se llama tasa metabólica. La tasa metabólica, donde el proceso catabólico representa uno de los mayores canales de flujo energético, considera el total de las transformaciones energéticas que se llevan a cabo y frecuentemente es utilizado como un indicador del estado interno de un organismo (Ocampo, 1994).

Los componentes bioquímicos o nutrientes de mayor importancia para el camarón por su papel estructural, funcional y energético para llevar a cabo dichos procesos fisiológicos son: proteínas, lípidos y carbohidratos.

II.1.2.1. Proteínas

Las proteínas son las moléculas orgánicas principales y esenciales para construir y reparar el tejido dañado (mantenimiento), para la síntesis de nuevos tejidos (crecimiento y reproducción) e intervienen en los procesos metabólicos de los organismos como la catálisis enzimática, así como el transporte y almacenamiento de muchos iones y moléculas. Algunas proteínas intervienen también en la contracción y movimiento de los músculos. En el sistema inmunológico las proteínas forman parte de los anticuerpos. Las proteínas participan en la generación y transmisión de impulsos nerviosos, debido a que las respuestas de las células nerviosas o estímulos específicos dependen de receptores proteicos (Lehninger, 1989; Randall, *et al.* 1998; Garrido, *et al.* 2005).

Los organismos acuáticos tienen mayor requerimiento de proteínas que los organismos terrestres, debido a los bajos requerimientos de energía en los organismos heterotermos (Randall, *et al.* 1998). La mayoría de los trabajos sobre los requerimientos proteicos en camarón se basan principalmente en el aumento del peso de los organismos que fueron alimentados en condiciones

controladas de laboratorio con dietas comerciales o purificadas. Dependiendo de la especie, el rango óptimo de proteína en la dieta va del 28 a 60% para un adecuado crecimiento como se puede observar en la tabla 3 (Martínez, 1999). Estas diferencias entre especies, puede ser debido a la talla o edad, la calidad de la proteína, el nivel de energía no proteica en la dieta, la disponibilidad del alimento natural y las prácticas de cultivo (Lim y Akiyama, 1995).

Los camarones peneidos necesitan 10 aminoácidos esenciales. La arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina, los cuales se han identificado como esenciales para *M. japonicus*, *F. aztecas* y *P. monodon*. Sin embargo, con excepción del requerimiento de arginina establecida para *P. monodon*, la cantidad requerida de los otros aminoácidos esenciales para varias especies de camarón aún se desconoce (Lim y Akiyama, 1995).

Tabla 3. Requerimiento de proteínas en diferentes especies de camarón.

Especie	Proteína (%)
<i>Farfantapenaeus aztecus</i>	23 - 40
<i>F. californiensis</i>	31
<i>F. duorarum</i>	40
<i>F. indicus</i>	43
<i>Marsupenaeus japonicus</i>	52 - 57
<i>Penaeus monodon</i>	35 - 46
<i>Litopenaeus setiferus</i>	28 - 42
<i>L. stylirostris</i>	25 - 40
<i>L. vannamei</i>	25 - 36

Fuente: Cruz-Suárez (1994)

Los organismos generalmente excretan la mayor parte del exceso de nitrógeno producido durante el catabolismo de los aminoácidos y proteínas ya sea como amonio, urea o ácido úrico. Los invertebrados acuáticos son amoniotélicos, no producen urea o muy poca, excretando sus residuos nitrogenados principalmente como amonio. Las membranas celulares son permeables normalmente al amoníaco no ionizado (NH₃), pero lo son muy poco

a los iones amonio (NH_4^+). Por lo que en los amoniotélicos se transfieren los grupos amonio de los diferentes aminoácidos con la ayuda de la enzima transaminasa, el glutamato es convertido a glutamina, que es menos tóxico que el amoníaco y cruza fácilmente las membranas. La glutamina se desamina finalmente en los túbulos del riñón, liberándose el amoníaco del líquido tubular. El amoníaco no ionizado excretado puede capturar un protón para formar el NH_4^+ que no puede retornar por difusión a los tejidos y ha de ser excretado. (Randall, *et al.* 1998).

El equilibrio del amonio en el agua se presenta por:



(Bower y Bidwell 1978). El NH_3 es más tóxico, pues tiene alta solubilidad en lípidos y se puede difundir a través de las membranas de la célula; NH_4^+ es también tóxico, especialmente a niveles bajos de pH (Allan, *et al.* 1990).

En los decápodos los desechos de amonio representan más del 85% de la excreción nitrogenada y se excreta en su mayor parte a través del epitelio branquial (Regnault, 1987) mediante la difusión del NH_3 y NH_4^+ y del intercambio Na/NH_4^+ (Pequeux y Grills, 1981; Pressley *et al.* 1981; Jiang, *et al.* 2004). La excreción de amonio en los crustáceos es afectado por factores internos como el tamaño corporal, el estado del ciclo de muda así como, los factores externos como la temperatura, la salinidad y la concentración del oxígeno disuelto. En los camarones, la excreción de amonio se incrementa cuando la salinidad es alta y ante los cambios abruptos en la temperatura, como se ha reportado para varias especies *F. indicus*, *M. japonicus*, *P. monodon*, *F. chinensis*, *F. aztecas*, *L. vannamei*, *Metapenaeus conoceros* y *L. stylirostris* (Gerhardt, 1980; Chen y Lai, 1993; Chen, *et al.* 1994a; Chen y Lin, 1995; Hernández y Díaz, 1995; Jiang *et al.* 2001, Pillaiy Diwan, 2002; Re *et al.* 2004). Se han realizado varios estudios sobre la toxicidad y las concentraciones letales de amonio y nitrito, en postlarvas de diferentes especies de peneidos (Tabla 4 y 5) como lo reportaron Alcaraz *et al.* (1999). Los camarones expuestos a niveles altos de amonio se ven afectados en varios procesos metabólicos, en la osmorregulación, consumo de oxígeno y el transporte del oxígeno (Hernández, 1998; Schmitt y Santos, 1999).

Las altas concentraciones de amonio inhiben la excreción y la acumulación del amonio en la hemolinfa (Chen y Kou, 1993; Chen y Nan, 1993). Los organismos pueden pasar de organismos amoniotélicos a ureotélicos (Chen y Cheng, 1993a; Chen y Lin, 1995), disminuyen su crecimiento y aumenta la frecuencia de muda (Chen y Kou, 1992); se presentan también cambios en la cantidad de proteínas en la hemolinfa, disminuyendo ésta cuando aumenta el amonio ambiental, (Chen *et al.* 1993; Chen y Cheng, 1995; Hernández, 1998), así como en la hemocianina (Chen y Cheng, 1993b; Hernández, 1998), la concentración de aminoácidos libres aumenta, (Chen *et al.* 1994b), el consumo de oxígeno se incrementa (Chen y Lai, 1992; Chen y Lin, 1992b; Chen y Lin 1995), y se ha reportado la muerte de los organismos con altas concentraciones de amonio (Chen *et al.* 1990).

Tabla 4. Concentración letal del amoniaco (NH₃, mg/L) en diferentes especies de postlarvas de peneidos. Intervalos de confianza en paréntesis. Edad (PL_x).

Species	24 h	48 h	72 h	96 h	Reference
<i>P. monodon</i> (PL6)	4.70 (3.66–6.03)	2.50 (2.07–3.02)	1.54 (1.36–1.87)	1.04 (0.85–1.27)	Chin and Chen (1987)
<i>P. japonicus</i> (PL1)	2.30 (1.70–2.28)	1.70 (1.30–2.20)	1.40 (1.20–1.70)	1.30 (0.90–1.60)	Lin et al. (1993)
<i>P. chinensis</i> (PL4)	1.85 (1.60–2.00)	1.20 (0.96–1.50)	0.73 (0.53–0.88)	0.40 (0.24–0.56)	Chen and Lin (1991)
<i>P. paulensis</i> (PL1)	1.40 (1.14–1.49)	0.40 (0.42–0.56)	0.33 (0.21–0.42)	0.32 (0.21–0.36)	Ostrensky and Wasieleskv (1995)
<i>P. setiferus</i> (PL20)	1.49 (1.30–1.68)	1.19 (1.01–1.37)	1.12 (0.92–1.32)	—	Alcaraz et al. (1999)

Fuente: Alcaraz, *et al.* (1999)

Tabla 5. Concentración letal para el Nitrito-N (NO₂⁻-N, mg/L) en diferentes especies de postlarvas de peneidos. Intervalos de confianza en paréntesis. Edad (PL_x).

Species	24 h	48 h	72 h	96 h	Reference
<i>Penaeus monodon</i> PL6	61.9 (51.6–74.2)	33.2 (26.8–41.1)	20.5 (16.2–26.0)	13.6 (11.2–16.4)	Chen and Chin (1988)
<i>P. japonicus</i> PL2	83.4 (66.3–105.0)	53.8 (45.0–67.5)	21.8 (16.3–28.3)	13.0 (9.3–17.0)	Chen and Tu (1990)
<i>P. japonicus</i> PL12	87.8 (69.3–107.5)	55.0 (42.5–67.5)	25.0 (20.0–30.0)	20.6 (17.5–25.0)	Lin et al. (1993)
<i>P. paulensis</i> PL1	277.8 (225.8–343.4)	41.6 (31.2–55.5)	14.5 (6.8–27.1)	10.7 (5.1–19.7)	Ostrensky and Poersch (1992)
<i>Metapenaeus ensis</i> PL1	70.1 (57.2–85.9)	27.1 (18.2–40.8)	12.8 (7.1–23.0)	9.1 (5.2–16.3)	Chen and Nan (1991)
<i>P. setiferus</i> PL25	268.1 (206.1–330.0)	248.8 (195.2–302.5)	167.3 (102.2–232.5)	—	Alcaraz et al. (1999)

Fuente: Alcaraz, *et al.* (1999).

II.1.2.2. Lípidos

Los lípidos son moléculas biológicas insolubles en agua con estructuras químicas relativamente simples (Randall, *et al.*, 1998). Las funciones de los lípidos son diversas en los organismos. Las grasas y los aceites son las formas principales de almacenamiento energético mientras que los fosfolípidos y los esteroides forman parte de la membrana celular. Otros lípidos, en cantidades pequeñas, son cofactores enzimáticos, transportadores electrónicos, agentes emulsionantes, hormonas y mensajeros intracelulares (Lehninger, 1989).

Las grasas están formadas por moléculas de triglicéridos, cada una de ellas constituida por una molécula de glicerol unida por enlaces éster a tres cadenas de ácidos grasos. Los triglicéridos al hidrolizarse se separan quedando una molécula de glicerol y tres de ácidos grasos. Si todos los átomos de carbono de la cadena del ácido graso están unidos por enlaces simples se les llama saturados. Si la cadena de ácidos grasos contiene uno o más dobles enlaces entre carbonos, se denomina ácido graso insaturado (Randall, *et al.*, 1998). Los ácidos grasos tienen tres funciones fisiológicas principales: forman parte de la estructura de fosfolípidos y glicolípidos, actúan como hormona o como moléculas combustibles.

Los triglicéridos o grasas neutras, predominan en el hepatopáncreas y en el ovario, son indispensables para proveer de energía al camarón (Bray *et al.* 1990) ya que son depósitos muy concentrados de energía metabólica, contienen en mayor grado energía que los carbohidratos y las proteínas (Newsholme y Leecha, 1983). Tabla 6.

Tabla 6. El contenido de energía de los tres tipos principales de nutrientes.

Sustrato	Contenido energético (Kcal ·g⁻¹)
Carbohidratos	4.0
Proteínas	4.5
Lípidos	9.5

Los fosfolípidos son los componentes principales de las membranas celulares, son moléculas con una parte hidrófila (el grupo que contiene el fosfato) y una parte hidrófoba (la cadena de ácidos grasos) que es soluble en lípidos. Esta propiedad permite que las moléculas de fosfolípidos de las membranas formen una capa de transición entre una fase acuosa y una fase lipídica. Las membranas biológicas constan principalmente de dos capas de fosfolípidos, con las “colas” apolares de cada capa orientadas hacia el interior y las “cabezas” polares orientadas hacia las fases acuosas (Randal, *et al.*, 1998).

Algunos autores han reportado que los fosfolípidos no pueden ser sintetizados por los crustáceos. El ácido araquidónico 20:4-n6, el ácido eicosapentanoico 20:5-n3 y docosahexaenoico 22:6-n3 (Teshima *et al.* 1988; Millamena y Pascual, 1990; Millamena *et al.* 1993), estos tres ácidos grasos esenciales son necesarios en la maduración gonádica, desove y postdesove de los crustáceos, ya que se ha reportado una influencia positiva en la fecundidad, eclosión y sobrevivencia de huevos y nauplios (Bray *et al.* 1990; D’Abramo, 1997).

El colesterol como los fosfolípidos forman parte de la estructura de membranas celulares, en el transporte de lípidos mediante lipoproteínas y, en el caso del colesterol, este es precursor de la vitamina D y de hormonas esteroideas, necesarias para la reproducción (Teshima, 1982; Cahu y Quazuguel, 1989). El colesterol no lo pueden sintetizar los camarones y debe ser incluido en la dieta (Teshima, 1982). El nivel de colesterol recomendado para alimento de camarón varía de 0.3 a 0.4 % (Akiyama *et al.* 1992).

II.1.2.3. Carbohidratos.

Después de las proteínas y los lípidos, los carbohidratos representan el tercer elemento más abundante presente en el cuerpo de los organismos. Los carbohidratos son compuestos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, se dividen en, polisacáridos, oligosacáridos y monosacáridos. Estos nutrientes son utilizados principalmente como fuentes de energía química inmediata (glucosa 6-fosfato) o almacenada (glucógeno). Sin embargo, también pueden ser convertidos en intermediarios metabólicos, aminoácidos, esteroides o en ácidos grasos. Y en sentido opuesto, las proteínas y los lípidos pueden ser

convertidas, por la mayoría de los animales, en carbohidratos. Otra de las funciones además de material energético, los carbohidratos son utilizados como material de estructura, ya que se involucran en la síntesis de quitina necesaria para la formación del exoesqueleto en los insectos y crustáceos, (Randall, *et al.*1998). La mayoría de las moléculas de glucosa son fosforiladas y convertidas en glucosa-6-fosfato mediante la catálisis de enzimas hexoquinasas. Dependiendo de las necesidades de los organismos, la glucosa-6-fosfato puede tomar una de las tres rutas, la glucólisis, glucogénesis y la ruta de las pentosas-fosfato. La glucólisis se lleva a cabo cuando se requiere energía adenosina trifosfato (ATP) o estructuras carbonadas. La glucogénesis ocurre cuando es abundante la glucosa-6-fosfato, así como el ATP para formar glucógeno. En la ruta de las pentosas-fosfato, la energía es utilizada para la formación de la coenzima NADPH y ribosa-5-fosfato, los cuales están involucrados en la síntesis de nucleótidos (Santos y Keller, 1993).

Los camarón están adaptados para producir carbohidratos por vía gluconeogénica (Rosas, *et al.* 2001). La enzima fosfoenol piruvato carbonoquinasa, que se encuentra en la glándula digestiva, es la enzima que regula la gluconeogénesis, cataliza la conversión del oxalo acetato a fosfoenol piruvato el cual da inicio a la cadena de reacciones que terminan en la formación de glucosa. La fuente que abastece a las vías gluconeogénicas es el pool de aminoácidos libres compuestos principalmente de aminoácidos no esenciales, a través del mecanismo de desaminación y transaminación. La transaminación es la conversión de los aminoácidos libres en α -cetoglutarato, utilizando el glutarato como sustrato. Uno de los productos finales de esta reacción es el amonio.

La utilización que pueden hacer los camarones de los carbohidratos es limitada debido a que carecen de sitios para almacenar y la capacidad del procesamiento enzimático que presentan (Rosas, *et al.* 2000).

La mejor forma en que los carbohidratos son mejor asimilados por los camarones es cuando se incluyen en la dieta en forma de almidón, lo que representa una fuente barata de energía metabólica en los alimentos, así mismo, se pueden utilizar en lugar de las proteínas y lípidos para proporcionar energía, de tal forma que la proteína adquiere mayor valor utilizándola para el crecimiento, en vez de proporcionar energía (D'Abrahamo y Conklin, 1995).

Después de la ingestión, el almidón es degradado hasta glucosa, una parte es fosforilada y pasa a la hemolinfa y la otra se utiliza en la síntesis del glucógeno. Se ha observado que se elevan los niveles de la glucosa en la hemolinfa después de las primeras horas de la alimentación, el glucógeno en la glándula digestiva se eleva después de 4 horas de la alimentación (Cousin, 1995; Rosas, *et al.* 1995; Rosas *et al.* 2000).

Abdel-Rahman, (1979) reportó que la velocidad con que se asimila la glucosa es más rápida que cuando se utiliza al almidón como fuente de carbohidratos. Esto se debe a que la glucosa puede interferir en la absorción de otros nutrientes debido a que ésta puede saturar los sitios de absorción, inhibiendo la captación de aminoácidos, afectando el crecimiento y la sobrevivencia como fue reportado para las siguientes especies de camarones *F. aztecus*, *F. duorarum*, *M. japonicus* y *P. monodon*, (Kanazawa, 1985; Lim y Akiyama, 1995; Shiau, 1998).

El exceso de carbohidratos produce daños en hepatopáncreas y en las branquias, debido a la limitante física que presentan las células para almacenar este nutriente, (Pascual, *et al.* 1983). El hepatopáncreas tiene células B y R las cuales son las encargadas de la degradación y almacenamiento de los nutrientes consumidos en el alimento (Al-Mohana y Nott, 1987; Gibson, 1979) y es el sitio de la síntesis de la hemocianina, entre otras (Gellissen, *et al.* 1991). Si las células B y R se saturan de glucógeno este nutriente interfiere en la absorción de otras moléculas, provocando la pérdida de nutrientes por las heces, reduciendo la síntesis de moléculas fisiológicamente útiles como la hemocianina o afectando la concentración de nutrientes que serán utilizados en el crecimiento (Rosas, *et al.* 2000).

Rosas, *et al.* (2000), describen las rutas que siguen los carbohidratos dietéticos durante la digestión y asimilación, en tres especies de camarones, *L. vannamei*, *L. stylirostris* y *L. setiferus*. En las células B del hepatopáncreas la enzima α -amilasa, degrada los carbohidratos de la dieta en maltosa y oligosacáridos, posteriormente mediante la enzima α -glucosidasa se obtiene la glucosa. Cuando la glucosa preste en cantidades suficientes en hepatopáncreas es fosforilada por la hexoquinasa la cual le permite pasar a través de las células y entrar a la hemolinfa como glucosa 1-6 fosfato. Los niveles de la glucosa en la hemolinfa están controlados por la actividad de la α -amilasa,

reflejándose en niveles diferentes de esta en la hemolinfa y en el uso que cada especie le puede dar a los carbohidratos como sustratos energéticos. Si la disponibilidad de glucosa 1-6 fosfato depende de la α -amilasa y ésta es saturable entonces la relación enzima y sustrato controlará al final la formación del exoesqueleto y el metabolismo energético.

La limitada capacidad de los camarones para usar los carbohidratos de la dieta puede ser una consecuencia de la adaptación metabólica para el uso de las proteínas como fuente primaria de energía, debido a que éstas representan el mayor sustrato de reserva en estos organismos (Rosas, *et al.* 2000).

El glucógeno es la molécula de almacenamiento de carbohidratos en los crustáceos decápodos, y el hepatopáncreas el sitio donde principalmente se acumula (Gibson y Barker, 1979; Loret, 1993). El glucógeno en crustáceos 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 (Rosas, *et al.* 1995; Sánchez, *et al.* 1991; Shiau, 1992).

II.1.3. VARIABLES FISICOQUÍMICAS

Las aguas poco profundas de las costas, así como las de los estanques de cultivo, están frecuentemente sometidas a variaciones de parámetros fisicoquímicos, tales como la temperatura, salinidad, concentraciones de oxígeno disuelto, pH y nutrientes disueltos, todos ellos de suma importancia para el óptimo desarrollo de los organismos cultivados. La acumulación de materia orgánica y su consecuente descomposición, estos cambios fisicoquímicos ocurren al mismo tiempo y a menudo en periodos cortos, favorece la reducción de la concentración de oxígeno disuelto y la acumulación de compuestos nitrogenados (Alcaraz, *et al.* 1999), y son las principales variables limitantes en la calidad del agua en el cultivo de camarón (Chang y Ouyang 1988). La temperatura, salinidad, talla y actividad de los organismos determinan el consumo de oxígeno (Villarreal y Rivera, 1993). Sin embargo, los cambios de estos parámetros son repentinos en los estanques, como el decremento en la concentración de oxígeno, incremento en el pH, variaciones de la salinidad, afectando la calidad en el producto y en ocasiones pueden causar la pérdida total (Boyd y Watten, 1989).

II.1.3.1. Oxígeno

El oxígeno disuelto es un factor ambiental regulador del metabolismo de los camarones (Rosas, *et al.* 1998). Su papel regulador está dado por la participación directa en la obtención de energía a partir de la respiración, por la fosforilación oxidativa. En este proceso, el oxígeno es el último aceptor de electrones de la cadena respiratoria, permitiéndoles a los camarones, y en general a los organismos aerobios, aprovechar al máximo la energía contenida en los enlaces de las moléculas de carbono que son metabolizadas por el ciclo de Krebs (ciclo de los ácidos tricarboxílicos). El utilizar o no oxígeno como el aceptor final de electrones marca una gran diferencia en la cantidad de energía disponible para realizar trabajo. Una reducción relativamente pequeña del oxígeno disuelto de 5 a 4 mg/L provoca una reducción de hasta un 25% en la energía canalizada hacia la producción de biomasa (Rosas, *et al.* 1998). Esta limitación es importante si se considera que, en estanques de cultivo de camarón así como en las lagunas costeras y estuarios tropicales, las aguas con bajos niveles de oxígeno son comunes, sobre todo cuando estas se cargan de materia orgánica producto de las lluvias de verano.

El efecto de la temperatura y la cantidad de oxígeno disuelto se relacionan ampliamente. En organismos poiquiloterms, la temperatura afecta la tasa metabólica y consecuentemente la demanda de oxígeno, en este caso, los organismos pueden modificar su capacidad oxirreguladora en función de la cantidad de oxígeno disuelto, los organismos que presentan esta adaptación se denominan oxiconformadores (Wannamaker y Rice, 2000). Ante un cambio rápido en la cantidad de oxígeno, estos, regulan la tasa de ventilación y el porcentaje de utilización de oxígeno en la cámara branquial. Así mismo, para compensar el cambio en la cantidad de oxígeno disuelto presente en el agua, pueden regular la presión de la hemolinfa en las branquias, de esta forma, la hemolinfa puede transportar una mayor cantidad de oxígeno (Kinne, 1970).

En organismos intermareales y en bentónicos, que permanecen por mucho tiempo en hipoxia (sin contacto con oxígeno) existen mecanismos de adaptación más drásticos, en donde les es posible utilizar otras vías metabólicas anaeróbicas; en estos organismos, la presión sanguínea se encuentra incrementada en relación con organismos presentes en zonas

oxigenadas (Herreid, 1980), de igual forma, el área branquial tiene mayores dimensiones. Existe otro mecanismo, mediante el cual la cantidad de pigmento respiratorio se incrementa, o la afinidad del pigmento respiratorio por el oxígeno puede sufrir una alteración.

II.1.3.2. Temperatura

La temperatura es el factor que determina la velocidad de las reacciones metabólicas de los organismos vivos, la cual se refleja en funciones como el crecimiento, la muda, etcétera (Kinne, 1970). Todos los organismos tienen un rango en el cual desempeñan estas funciones de manera óptima, pero a medida que la temperatura se aleja de este rango, dichas funciones son afectadas hasta que dejan de llevarse a cabo a determinadas temperaturas extremas.

Algunos organismos se desarrollan en un rango amplio de temperatura y se llaman euritermos, otros tienen un rango estrecho y se llaman estenotermos. La mayoría de las especies comerciales de camarón se ubican en la parte media de esta clasificación, es decir, no son completamente euritermos ni tampoco estenotermos (Martínez, 1999).

La temperatura es un factor importante en el crecimiento de los camarones, a mayor temperatura se presenta por lo regular, un mayor crecimiento. La tolerancia a la temperatura, los rangos óptimos y la causa de cómo afecta el crecimiento, depende de las especies, la edad y factores como la salinidad y la concentración del oxígeno disuelto, entre otros. Villarreal y Ocampo (1993) indicaron que *F. californiensis* tiene un óptimo fisiológico a 23°C. Para *L. stylirostris* el rango de tolerancia se encuentra entre los 12 a 34°C y su óptimo para su buen desarrollo es de 23 a 28°C. (Martínez, 1999).

II.1.4. MECANISMOS DE COMPENSACIÓN FISIOLÓGICA

Los organismos parecen vivir confortables en su ambiente, sin embargo la mayoría de los hábitats son hostiles para las células animales. En la mayoría de los organismos marinos el agua que los rodea es más salada que sus propios líquidos corporales. Algunos organismos viven en ambientes que son demasiado calientes o muy fríos. Más aún, la mayor parte de los ambientes

se caracterizan por sufrir fluctuaciones en sus propiedades físicas y químicas, como la temperatura, concentración del oxígeno disuelto, salinidad, pH, etc.

Los fuertes cambios ambientales externos en los organismos podrían afectar de forma destructiva el medio intracelular, los tejidos y las funciones de los órganos, de no ser por las compensaciones fisiológicas de control que están dirigidas a mantener condiciones estables en los tejidos corporales de los organismos (homeostasis) (Randall, *et al.* 1998).

La homeostasis se lleva a cabo por la coordinación de un conjunto complejo de procesos fisiológicos vía comunicación química y /o eléctrica entre los tejidos para lograr las compensaciones necesarias y apropiadas.

II.1.4.1. Efectos de la concentración de oxígeno disuelto

Las constantes exposiciones a las bajas concentraciones de oxígeno disuelto (hipoxia) en áreas de agua poco profundas (lagunas costeras, esteros, etc), como en los estanques de cultivo, se deben principalmente al exceso de materia orgánica en descomposición, además del incremento o decremento en la productividad primaria que afecta la concentración de oxígeno principalmente al amanecer abatiéndolo y llegando a niveles críticos de hipoxia, lo cual se incrementa por la falta de cambios de agua (BANCOMEXT, 1999). Estas variaciones en la concentración del oxígeno disuelto en el agua, repercuten directamente en los camarones afectando su conducta y la fisiología normal (Herreid II, 1980; Fandrey, 1995; Wu, 2002).

El rango óptimo de la concentración del oxígeno disuelto para un buen desarrollo de los camarones se encuentra de 4 a 7 mg/L. Por debajo de estas concentraciones el camarón gasta energía en pasar más agua por las branquias, lo cual se refleja en un menor crecimiento. A mayores concentraciones pueden presentarse trastornos como burbujas en la hemolinfa, lo que puede ocasionarles un menor desarrollo en su crecimiento e inclusive llegar a la muerte (Martínez, 1999).

Un decremento en la concentración del oxígeno disuelto en el agua de mar afecta a los organismos y se ve reflejado en su tasa de crecimiento siendo éste menor, en una deficiencia en la conversión alimenticia, reducción en la frecuencia de muda, y por ende una mayor susceptibilidad a las enfermedades

llegando a causar la muerte de los organismos afectados (Seidman y Lawrence, 1985; Silva y Regnault, 1980; Wu, 2002).

Las bajas concentraciones de oxígeno tienen un efecto negativo en el crecimiento como lo reportaron Seidman y Lawrence (1985) para las postlarvas de *P. vannamei* donde el nivel crítico es de 1.91.mg/L y 2.22 mg/L para *P. monodon*.

Se han realizado diversos trabajos donde se mide el consumo de oxígeno hasta niveles en que se presenta la muerte del individuo como un estimador del nivel letal de oxígeno (Egusa, 1961; Mackay, 1974; Liao y Huang, 1975, Hopkins, *et al.* 1991). En el camarón *Penaeus monodon*, el nivel letal de la concentración del oxígeno disuelto está entre 0.2 a 1.0 mg/L en condiciones de laboratorio (Allan y Mangire, 1991), en postlarvas de *P. setiferus* es de 1.86 mg/L (Martínez, *et al.* 1998) y en postlarvas de *P. californiensis*, la concentración del oxígeno disuelto se ha reportado de 0.9 y 2.0 mg/L de oxígeno disuelto (Villarreal *et al.* 2003).

II.1.4.2. Efecto de la temperatura

La temperatura es el principal factor que limita la distribución, abundancia y el nivel de actividad en los poiquiloterms (Kinne, 1970), en esta clasificación se encuentran la mayoría de los invertebrados marinos y peces. Afecta de forma directa e indirectamente en el desarrollo y la supervivencia en los estadios larvales, juveniles y en los adultos; durante la fase reproductiva de los organismos determina la maduración de gametos, desove y el desarrollo embrionario.

La temperatura es el factor ambiental más importante en la vida de cualquier organismo, los ajustes bioquímicos o fisiológicos que ocurran en cualquier adaptación, dependerán de reacciones metabólicas que involucren enzimas dependientes totalmente de este factor para su desarrollo (Alpuche, *et al.* 2005). El efecto de la temperatura en las enzimas provoca que la tasa metabólica de un animal incremente exponencialmente con la temperatura corporal (Randall, *et al.* 1998).

La Q_{10} es la relación metabolismo/temperatura definido como el incremento de la tasa respiratoria asociada con un incremento en la temperatura de 10°C (Rosas, *et al.* 1999).

Las reacciones químicas y los procesos fisiológicos como el metabolismo, crecimiento, locomoción, etc., tienen valores de Q_{10} de 2 y 3, en tanto que los procesos puramente físicos (como la difusión) tienen menor sensibilidad térmica (es decir, cercanos a 1.0). La tasa metabólica de los organismos con temperatura corporal variable aumenta de 2 a 3 veces por cada 10°C de incremento en la temperatura ambiental. Sin embargo algunos invertebrados intermareales, que experimentan grandes variaciones de la temperatura, tienen tasas metabólicas con valores de Q_{10} de aproximadamente 1.0; por lo que la tasa del metabolismo cambia muy poco con variaciones térmicas de hasta 20°C (Randall, *et al.* 1998).

El efecto de la temperatura es dramático y extraordinariamente rápido afectando el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas además de la calidad espermática (Alpuche, *et al.* 2005).

En condiciones extremas de cambios de temperatura, la salinidad y por tanto la presión hidrostática cambian, ante esto, la conformación de las membranas celulares se modifica estructuralmente. Se presenta una mayor concentración de fosfolípidos en la membrana. La enzima $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPasa al interaccionar con los fosfolípidos de cierto radio específico pasa de su forma inactiva a su forma activa; a temperaturas bajas, esta enzima se activa para incrementar la presión osmótica interna y disminuir el punto de congelación de los fluidos extracelulares y permitir a los organismos sobrevivir (Randall, *et al.* 1988).

Primavera (1985), reportó que el parámetro que influye mayormente en la reproducción de los camarones son las oscilaciones en la temperatura, ya que pueden provocar retroceso en el desarrollo ovárico de las hembras y pérdida en la calidad espermática de los machos.

II.1.5. OTRAS RESPUESTAS FISIOLÓGICAS

Los organismos se enfrentan constantemente a cambios en su ambiente, como la alteración en la disponibilidad de oxígeno, salinidad, temperatura, entre otros, lo cual conlleva una serie de alteraciones fisiológicas y metabólicas, que se traduce en un conjunto de respuesta para mantener su homeostasis.

II.1.5.1. Estrés

El estrés es un conjunto de respuestas fisiológicas que los organismos presentan como reacción a un disturbio ambiental o metabólico que desvíen al organismo de su homeostasis (Selye, 1956). El estrés desencadena rápidamente una cascada de respuestas fisiológicas y moleculares (Livingstone, 1985). Este es un problema que presenta la acuicultura, debido a que los camarones de importancia comercial son sometidos a condiciones de manejo que inducen una respuesta de estrés durante su captura, transporte, manipulación y hacinamiento.

Se puede clasificar el estrés en dos tipos, obedeciendo a las condiciones en las que se presente en una escala temporal. Estrés agudo, que es producido por un evento puntual (captura, manipulación, etc.), se caracteriza por un aumento en los niveles metabólicos y hormonales en un corto tiempo (de minutos a horas) y una rápida recuperación a los niveles basales. Estrés crónico, producido por eventos de mayor tiempo de duración (de varios días a semanas), tales como las condiciones ambientales a los que se encuentran sometidos los organismos, se caracteriza por un incremento en los niveles metabólicos y hormonales por días o semanas (mayor tiempo), por lo cual la recuperación tiende a ser más lenta (Zacarías-Soto 1997).

Las respuestas al estrés incluyen alteraciones fisiológicas, conductuales y genéticas que ocurren en los organismos (Thomas, 1990). En peces se han descrito tres niveles de respuesta a condiciones estresantes. (1) Respuestas neuronales y neuroendocrinas, como la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y sistema simpatoadrenal. (2) Cambios en la química sanguínea, tisulares y bioenergéticos tal como el consumo de oxígeno y excreción nitrogenada. (3) Alteraciones de las principales funciones bioquímicas y desbalance en los procesos fisiológicos afectando el crecimiento y reproducción, así como en un incremento en la susceptibilidad a enfermedades (Wedemeyer y Mcleay, 1981).

En los invertebrados, el tipo de respuestas también podría clasificarse de forma análoga a la de los peces. Santos y Keller (1993b), reportan la participación de la hormona hiperglicémica de los crustáceos (CHH), en el metabolismo de carbohidratos. Webster (1996), encuentra que los niveles de

CHH se elevan en la hemolinfa cuando los organismos se encuentran en condiciones de hipoxia. Mattson y Spaziani (1985), encontraron que la hormona inhibidora de la muda (MIH), disminuye en la hemolinfa en condiciones estresantes, como la manipulación de los organismos, activando el proceso de muda y se utiliza como un indicador de estrés.

Para evaluar las respuestas de estrés, se han realizado estudios midiendo los niveles del lactato y glucosa en la hemolinfa, hepatopáncreas, músculo y otros tejidos, (Henry, *et al.* 1994; Racotta y Palacios, 1998; Racotta y Hernández-Herrera, 2000; Morán, 2003). En varios decápodos, el lactato y la glucosa en la hemolinfa se incrementan posterior a la manipulación de los organismos (Kuo, *et al.* 1995; Sefiani, *et al.* 1996; Racotta y Palacios, 1998), así como una disminución en la concentración de triglicéridos en hemolinfa (Racotta y Palacios, 1998). Cuando los camarones son expuestos al aire, durante la manipulación para ser transportados o en muestreos constantes, los efectos del estrés se ven reflejados en una marcada hiperglicemia e hiperlactemia (Paterson, 1993; Santos y Keller, 1993b; Webster, 1996; Hall y Van Ham, 1998; Schmitt y Santos, 1999; Lorenzon, 2005). También se ha reportado incrementos en los niveles de lípidos en hemolinfa (Schmitt y Santos, 1999). Otras variables metabólicas como la hemocianina, proteínas totales, lípidos totales, triglicéridos y colesterol pueden ser utilizados para conocer las condiciones fisiológicas del camarón (Sánchez, *et al.* 2001).

El factor de estrés que se ha estudiado con mayor frecuencia, es el provocado por condiciones de hipoxia y anoxia, así como las respuestas metabólicas asociadas. La mayoría de los organismos han desarrollado estrategias para tener la capacidad de sobrevivir a periodos prolongados con poco oxígeno (Hochachka, *et al.* 1996). Cuando la concentración del oxígeno disuelto es limitada, se activa el metabolismo anaeróbico, produciendo el lactato mediante una reacción catalizada por la enzima lactato deshidrogenasa. Estas reacciones durante condiciones anaeróbicas permiten que la glucólisis continúe para la producción de energía (ATP), en tasa reducida. Entre las respuestas estudiadas de diversos componentes bioquímicos a condiciones de hipoxia y anoxia se encuentran los carbohidratos, lípidos y aminoácidos.

II.1.5.2. Enfermedades por Bacterias y Virus

A nivel mundial se cultivan millones de hectáreas de camarón de diferentes especies de importancia comercial, la industria ha invertido cientos de millones en dólares para aumentar la producción de este valioso recurso. Sin embargo, esta industria se ve afectada constantemente por las diversas enfermedades que se llegan a presentar en los cultivos, algunas de ellas se pueden tratar con antibióticos, pero otras como la Mancha Blanca (WSSV) (De la Rosa-Vélez, 2001, Jiang, *et al.* 2006), pueden causar pérdidas millonarias.

Las bacterias que se han aislado en peneidos son del género *Vibrio* como causantes de algunas de las enfermedades (Campa-Córdova, 2002). En la tabla 7 se presentan las principales enfermedades causadas por bacterias y virus en los camarones (Aguirre-Guzmán y Ascencio-Valle, 2000 citado en Campa-Córdova 2002). De la Rosa-Vélez (2001), reporto en México diversos virus que han provocado dramáticas pérdidas en los cultivos: *Baculovirus penaei*, en 1998, infección hipodérmica (IHHNV) en 1989 y 1990, síndrome del Taura (TSV) a partir de 1995, y recientemente el síndrome de la mancha blanca (WSSV) y la enfermedad de la cabeza amarilla (YHV), siendo estas enfermedades amenazas potenciales para la salud de los cultivos.

Tabla 7. Enfermedades causadas por bacterias y virus en camarones peneidos.

BACTERIAS	VIRUS
Vibriosis	Síndrome del Taura (TVS)
Enfermedad por bacterias filamentosas	Síndrome de la mancha blanca (WSSV)
Hepatopancreatitis necrosante	Infección hipodérmica y necrosis hematopoiética (IHHNV)
Enfermedad por bacterias quitinolíticas	Baculovirus (BP)
Enfermedad de las patas rojas	Enfermedad de la cabeza amarilla (YHV)
Microbacteriosis	Enfermedad por iridovirus (IROD)
Infección por ricketzias	Enfermedad por Rhabdovirus (RPS)

(Aguirre-Guzmán y Ascencio-Valle, 2000)

Para el tratamiento y control de enfermedades se pueden utilizar productos microbianos, conocidos como inmunoestimulante, que además de activar el sistema inmune no-específico de los organismos, se puede usar como tratamiento alternativo a los antibióticos y agentes químicos que son usados con frecuencia en la prevención de enfermedades en la acuicultura (Campa-Córdova, *et al.* 2005).

En el camarón como en todos los crustáceos no poseen un sistema inmunitario específico con memoria (Berger, 2000 citado en Rendón y Balcázar, 2003), lo que impide se puedan utilizar vacunas.

El sistema inmune tiene la función de mantener la individualidad biológica, por lo cual su actividad principal es la de diferenciar y de eliminar todo material extraño de sus tejidos (Vargas, *et al.* 1996).

En los crustáceos este sistema se basa en efectores celulares y humorales, que actúan en conjunto para eliminar bacterias o virus infecciosos (Campa-Córdova, 2002). En estas reacciones inmunitarias intervienen los hemocitos.

Los hemocitos son las células que se localizan en la hemolinfa de los invertebrados y son los primeros efectores de la inmunidad celular no específica en el hospedero, además de participar en numerosos procesos del sistema inmune como fagocitosis, encapsulación, formación de nódulos, citotoxicidad, melanización y formación de nódulos (Söderhäll y Cerenius, 1992).

La circulación en los camarones es abierta que irriga a los tejidos, la hemolinfa circula por el espacio entre el ectodermo y endodermo llamado hemocele. La hemolinfa contiene un pigmento respiratorio llamado hemocianina que es una proteína que contiene cobre, encargada de transportar el oxígeno. En su forma oxigenada la hemolinfa es de color azul claro, y no presenta color cuando está desoxigenada (Randall, *et al.* 1998).

Los hemocitos se pueden clasificar en tres tipos, basados en criterios morfológicos (Martin y Graves, 1985) y citoquímicos (Hose *et al.* 1987), en hemocitos hialinos, semigranulosos y granulosos. Los hemocitos hialinos (Figura 9a), no contienen gránulos densos dentro del citoplasma, en el centro se encuentra el núcleo que es grande (Söderhäll y Cerenius, 1992). Los hemocitos participan en los procesos de coagulación y tienen capacidad

fagocítica (Hose y Martin, 1989). Los hemocitos semigranulosos (Figura 3a), presentan núcleo esférico o en forma de herradura y muchos gránulos pequeños de forma redondeada (Rendón y Balcázar, 2003). En los peneidos, estas células intervienen en la fagocitosis, encapsulación y en la liberación del sistema profenoloxidasa proPO (melanización). Además sintetizan y liberan las peneidinas que son péptidos antimicrobianos (Destoumieux, *et al.* 2000).

Los hemocitos granulosos (Figura 3b), son células grandes que tienen grandes gránulos, alta relación citoplasma-núcleo y excéntrico, inclusiones citoplasmáticas, así como un retículo endoplasmático liso y ribosomas libres en citoplasma. Almacenan enzimas constituyentes del sistema proPO en los crustáceos en un nivel mayor que los semigranulosos. Estas enzimas son liberadas por exocitosis cuando los hemocitos son estimulados por la peroxinectina y la proteína fijadora de β -glucanos (Smith y Söderhäll, 1983). Al igual que los hemocitos semigranulosos, sintetizan y almacenan las peneidinas (Destoumieux, *et al.* 2000). Intervienen también en el mecanismo de encapsulación (Rendón y Balcázar, 2003).

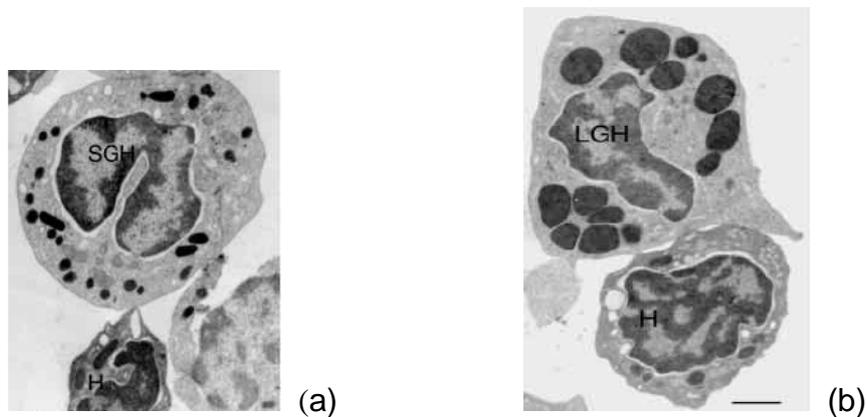


Figura 3. Hemocitos de camarones peneidos. (a) Hemocito semigranuloso (SGH siglas en inglés), hemocitos hialino (H). (b) Hemocito granuloso (LGH siglas en inglés), hemocito hialino (H). Imágenes tomadas de Destoumieux, *et al.* (2000).

El sistema inmune en los crustáceos decapados, presentan diferentes mecanismos de defensa ante partículas o microorganismos extraños al organismo y se lleva a cabo mediante los siguientes procesos celulares.

La fagocitosis, elimina el material particulado mediante dos tipos de células, los hemocitos libres y los fagocitos fijos, estos se encuentran en los sinus hemales del hepatopáncreas (Rendón y Balcázar, 2003). La fagocitosis

consiste de los siguientes pasos: quimiotaxis, adherencia, ingestión, destrucción del patógeno y expulsión del material de desecho por exocitosis (Campa-Córdova, 2002).

La nodulación, se lleva a cabo cuando el organismo es invadido por numerosos microorganismos, se encuentran en exceso y no pueden ser eliminados por fagocitosis. Los microorganismos son aprisionados por varias capas de hemocitos, formando nódulos y se activa el sistema profenoloxidasa, para continuar con una fuerte melanización, para después ser removidos y alojándose en branquias y entre los túbulos hepatopancreáticos (Söderhäll y Cerenius, 1992).

La encapsulación es una respuesta multicelular para eliminar partículas extrañas de gran tamaño que no pueden ser fagocitadas, muchos hemocitos semigranulares cubren a la partícula formando capas alrededor de ella y la encapsulan mediante la proteína 76kD que está asociada a la activación del sistema profenoloxidasa. Esta proteína funciona como factor de adhesión para células granulares y semigranulares, como un factor de desgranulación para esta células (Söderhäll y Cerenius, 1992).

El sistema de coagulación de la hemolinfa es otra respuesta de defensa en los crustáceos, ante la pérdida de hemolinfa de las heridas a través del exoesqueleto y la diseminación de bacterias a todo el cuerpo (Söderhäll y Cerenius, 1992). La coagulación se lleva a cabo mediante una cascada enzimática en la que intervienen enzimas proteolíticas que finalmente hidrolizan a una proteína, el coagulógeno. El coagulógeno se transforma a coagulina y finalmente se polimeriza para formar el coágulo (Montaño-Pérez, *et al.* 1999).

Por otra parte la respuesta humoral, dependiendo del tipo de acción que ejercen sobre los patógenos, en el plasma de crustáceos se encuentran sustancias inhibitoras del crecimiento bacteriano, inhibidores enzimáticos, sustancias causantes de lisis celular, aglutininas y precipitinas (Bachère, *et al.* 2000).

II.1.6. BALANCE ENERGÉTICO

Todos los organismos necesitan adquirir una cierta cantidad de sustancias nutritivas con una variedad apropiada. Los nutrientes son sustancias que tienen la función de proporcionar energía metabólica, utilizada para el

crecimiento, reparar los tejidos y producción de gametos. Un estado nutritivo en equilibrio se da cuando el organismo tiene suficiente entrada de todos los nutrientes necesarios para un crecimiento a largo plazo y mantenimiento. Los requerimientos nutritivos incluyen: (1) suficiente fuentes de energía para mantener todos los procesos corporales, (2) suficiente proteína y aminoácidos para mantener un balance positivo de nitrógeno, (3) suficiente agua y minerales para compensar su pérdida o incorporación en los tejidos corporales y, (4) aquellos aminoácidos esenciales y vitaminas no sintetizados en el cuerpo (Randall, *et al.*1998).

El modelo del balance energético, considera a los organismos desde el punto de vista energético, como un sistema abierto que intercambia energía con su ambiente, en tres formas: calor, trabajo y energía potencial almacenada en compuestos bioquímicos (Rosas, *et al.* 2003a; Sicard, 2006). Este modelo integra diversas respuestas fisiológicas con el fin de conocer los destinos de la energía ingerida (Figura 4).

El modelo del balance energético se integra con sus elementos en la siguiente ecuación propuesta por Lucas (1993).

$$I = H + N + R + P + Ex$$

Donde:

I es la cantidad de energía que se obtiene del alimento que es consumido por el organismo.

H representa la energía que se pierde mediante las heces.

N la energía perdida a través de la excreción nitrogenada.

R la energía invertida en los procesos metabólicos (respiración).

P es la energía invertida en la producción de tejidos y gametos.

Ex es la energía perdida en la exuvia.

II.1.6.1. Métodos de estimación

Mediante la ecuación del balance energético, se puede inferir y obtener información de los procesos involucrados en el flujo de energía de los organismos, desde una perspectiva integral o de algunos de sus elementos.

II.1.6.1.1. Ingesta (I)

La tasa de ingestión (*I*) se determina con la diferencia del peso de alimento inicial menos el peso de alimento residual, esta evaluación se realiza en los organismos cultivados que se encuentran en condiciones de laboratorio.

La tasa de ingestión para los organismos silvestres se evalúa mediante la diferencia del peso del estómago lleno menos el peso del estómago vacío (Rosas, *et al.*, 2003b).

II.1.6.1.2. Heces (H)

La tasa de producción de heces (**H**), corresponde a la fracción del alimento que no se absorbe en la glándula digestiva y a los desechos de las células responsables de la digestión exógena en el estómago y en la glándula digestiva (Rosas. *et al.*2003b).

La **H** se puede utilizar para calcular la cantidad de energía absorbida (**Ab**) del material ingerido del alimento por los organismos mediante la siguiente ecuación (Lucas, 1993):

$$\mathbf{Ab = I - H}$$

En condiciones experimentales se complica medir las heces por que tienden a lixiviarse en el agua muy rápido, lo que hace difícil determinar con precisión la tasa de producción. Con el uso de métodos indirectos se puede evaluar la cantidad de energía perdida a través de la producción de heces (Condrey, *et al.* 1972; Conover, 1996).

En este método las heces son utilizadas como un indicador de la cantidad de materia orgánica absorbida asumiendo que los minerales del alimento se absorben en cantidades despreciables en los camarones.

$$\mathbf{U' = (F' - E') / (1 - E') F'}$$

Donde:

U' es la eficiencia de absorción de la energía ingerida en el alimento.

F' es la razón entre peso seco libre de cenizas entre peso seco del alimento.

E' es la razón entre peso seco libre de cenizas entre peso seco de las heces.

Tomando en cuenta que algunos minerales y vitaminas pueden ser absorbidas por los animales una corrección al modelo fue establecida:

$$\mathbf{U^* = U' / 100 + [(Au / Af) E' (1 - F') / F' (1 - E')] x 100}$$

Donde:

U* es la eficiencia de absorción corregida por la absorción de vitaminas y minerales.

Au / Af son las cenizas del alimento entre las cenizas de las heces, que representa la cantidad de cenizas asimiladas.

$$I = H + N + R + P + Ex$$

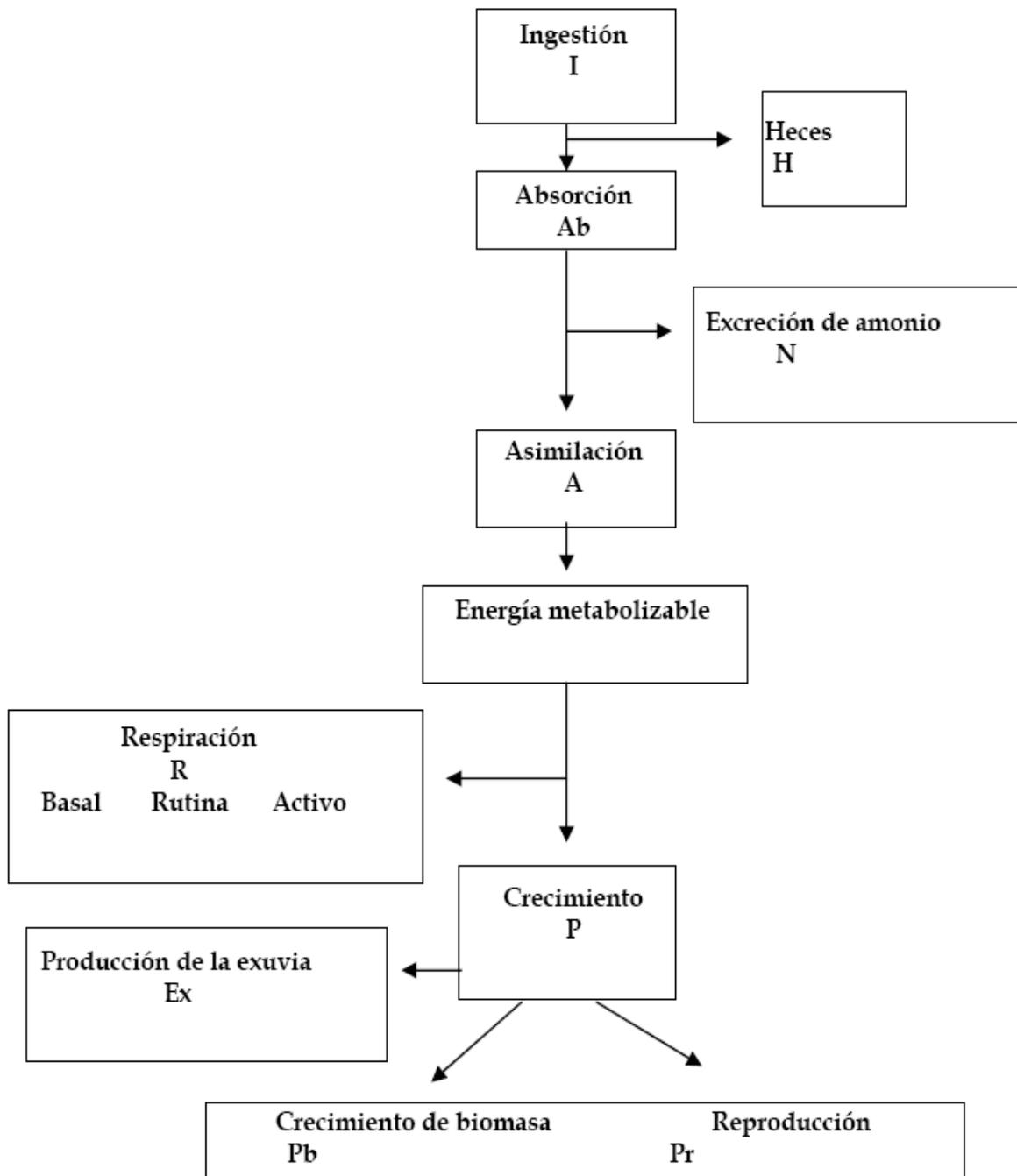


Figura 4. Distribución de energía considerando los principales parámetros del balance energético (Rosas, *et al.*2003a).

Con este método no es necesario cuantificar la cantidad de heces producidas sino contar con una cantidad lo suficiente para poder hacer el análisis del contenido de materia orgánica.

Se puede determinar la energía asimilada (**As**) con los valores de **U*** y de **I**, utilizando la ecuación:

$$As = U^* \times I$$

La **U*** funciona como un factor de corrección de **I** permitiendo calcular **As** sin la necesidad de saber la cantidad de **H** producido.

II.1.6.1.3. Respiración (R)

El consumo de oxígeno es una respuesta fisiológica que se puede correlacionar con las variaciones de los factores ambientales, ya que la tasa respiratoria está relacionada con el trabajo metabólico y el flujo de energía que los organismos canalizan hacia los mecanismos del control homeostático (Salvato *et al.*, 2001).

La medición de la tasa respiratoria es útil cuando se integra a la ecuación de balance energético y se genera el marco o campo de crecimiento (scope for growth) o bien, para estimar el marco de actividad (scope for activity) el cual refleja la energía disponible del organismo para crecer, reproducirse, etc. El marco de actividad se obtiene restando la tasa respiratoria activa (TRA) menos la tasa respiratoria estándar (TRE). La TRA es aquella que presentan los organismos alimentados a saciedad mientras que la TRE, refleja el metabolismo basal del individuo y se produce en aquellos organismos mantenidos en inanición por tiempos prolongados (Fry, 1947).

En la mayoría de los trabajos que se han realizados para determinar el consumo de oxígeno, se utiliza el sistema cerrado, el cual presenta ciertas desventajas, la primera es que no se pueden realizar lecturas continuas y por periodos prolongados del consumo de oxígeno de los organismos en las cámaras, ya que se ha demostrado que el consumo de oxígeno se reduce en un 30% cuando la concentración de oxígeno disuelto en el agua de las cámaras se reduce de 5 a 4 mg/L (Rosas, *et al.* 1997), la segunda no se puede disminuir o aumentar la concentración del oxígeno disuelto al mismo tiempo con los organismos en la cámara para evaluar los efectos de las variaciones, y

tercera los organismos ante la disminución en la concentración del oxígeno se empiezan a estresar y las lecturas del consumo de oxígeno se modifican. En el sistema abierto con flujo de agua, las variaciones en la concentración de oxígeno se pueden mantener por periodos prologados sin que exista la limitante en la disponibilidad del oxígeno dentro de las cámaras, lo cual evita que el organismo se estrese, además si las condiciones del experimento lo requieren la concentración del oxígeno se puede incrementar o disminuir sin tener que extraer al animal de la cámara, y continuar con la lectura y registro del consumo de oxígeno, otra aspecto positivo es que se pueden variar otros parámetros al mismo tiempo como la temperatura, salinidad, etc., y obtener información de la fisiología del animal a diferentes condiciones ambientales.

El consumo instantáneo de oxígeno, se estima por diferencia entre la concentración de oxígeno (PO₂) de la cámara control y las PO₂ de las cámaras con organismos.

La VO₂ estandarizada a la masa seca se calcula con la ecuación:

$$VO_2 = (PO_{2c} - PO_{2i}) * F / P$$

Donde: **VO₂** = Tasa respiratoria

PO_{2c} = Concentración de oxígeno disuelto de la cámara control (mL/L)

PO_{2i} = Concentración de oxígeno disuelto en la cámara *i* con organismos (mL/L)

F = Flujo de agua a través de la cámara (mL/h)

P = Masa seca del organismo incubado (g).

II.1.6.1.4. Excreción nitrogenada (N)

En general en crustáceos, **N** se calcula a partir de la medición de amonio excretado, el cual representa el 70 y 90% de los productos del metabolismo de las proteínas (Rosas, *et al.* 2003b).

La tasa de excreción (TU) estandarizada se calculará mediante la ecuación:

$$TU = (Uc - Ub) * F / P$$

Donde: **TU** = Tasa de excreción

Uc = Concentración de amonio en la cámara con organismos (µgNH₄/mL)

Ub = Concentración de amonio en la cámara control (µgNH₄/mL)

F = Flujo de agua a través de la cámara (mL/h)

P = Masa seca de los organismos incubados (g)

II.1.6.1.5. La razón O:N

La razón **O:N** es una herramienta para identificar el sustrato metabólico que los organismos utilizan para satisfacer las demandas de energía corporal. Esta razón es el producto de la relación entre el consumo de oxígeno y la excreción de amonio y se expresa como la cantidad de átomos de cada molécula de gramo de peso del camarón.

II.1.6.1.6. Potencial de crecimiento (P)

La ecuación del balance energético puede ser utilizada para calcular la cantidad de energía invertida. La energía invertida en la producción de tejidos y gametos **P**, puede ser calculada mediante la ecuación:

$$P = I - (R + N + H + Ex) \quad \text{ó}$$

$$P = A - R \quad \text{ó} \quad P = (Ab + N) - R$$

La utilidad de la ecuación del balance energético depende en gran medida de la precisión con la cual se adquieran los datos que la conforman.

Son pocos los estudios realizados donde se utiliza la ecuación del balance energético en camarones peneidos. En *P. monodon* en la fase larvaria Kurmaly *et al.* (1989a, b), reportaron un incremento en el consumo de oxígeno y en el campo de crecimiento (scope for growth) de las larvas asociado con la edad, y la energía necesaria para satisfacer los requerimientos de esta especie. Rosas, *et al.* (1998b), evaluaron los efectos del oxígeno disuelto (OD) sobre la energía asimilada del alimento (As), mediante la tasa respiratoria (R) y la producción de biomasa (P) durante el crecimiento de postlarvas de *P. setiferus* utilizando la ecuación $As = R + P$. Reportaron que el nivel del OD no afectó la sobrevivencia, P y As fueron constantes a 4 y 5.4 mgL⁻¹ DO pero decrecieron conforme disminuyó el nivel del OD. Sin embargo, la cantidad de energía asimilada dirigida a la producción (P/As) se incrementó cuando se reduce el OD a 4 mgL⁻¹. Observaron que los efectos producidos por bajos niveles de OD son generalmente compensados con un incremento en la eficiencia de producción (P), aun cuando se reduce la eficiencia respiratoria.

Lemos y Pha, (2001) reportaron el balance energético de larvas de *Farfantapenaus paulensis*, donde encontraron que requiere de 3.63 Jolules de energía digerible por larva producida. Pascual, *et al.* (2004), reportaron en juveniles de *L.vannamei* los efectos del nivel de proteína en el alimento utilizando dos dietas una con el 15% y otra con el 40%. Evaluaron el balance energético, mediante la tasa de ingestión (I), tasa de respiración (R), la producción de biomas (P) durante el proceso de crecimiento, así como, la energía perdida por las heces (H) y productos urinarios (U) el cual calcularon con la siguiente ecuación $(H-U) = I - R - P$ y la energía asimilada (As) como $R - P$. Encontraron que el coeficiente de crecimiento fue mayor para los camarones alimentados con el 40% de proteínas, con una perdida de energía (H-U) del 5.6%, así como una alta asimilación y eficiencia de producción (P/As) que los obtenidos para los alimentados con la dieta del 15% de proteínas.

Con el estudio del balance energético se tienen las bases para comprender las formas que los camarones y organismos acuáticos transforman la energía que ingieren en biomasa y cómo han evolucionado para tener éxito en la naturaleza. El aprovechar el potencial adaptativo debe ser uno de los objetivos de los productores para maximizar los sistemas productivos los cuales deben estar diseñados tomando en cuenta la relaciones energéticas ente el organismo y su ambiente (Rosas, *et al.* 2003a).

III. Justificación

En México, las granjas de camarón que cultivan el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, se ubican en las costas del Noroeste del país, en los estados de Colima, Nayarit, Sinaloa, Sonora y Baja California Sur. Esta especie alcanza la talla comercial en 3 a 5 meses de cultivo y posee un alto valor en el mercado (Martínez-Córdoba, 1993). Los estudios existentes sobre el efecto combinado de temperatura y oxígeno disuelto del camarón blanco se han realizado en condiciones estables de esas variables, lo cual no refleja las condiciones reales a las que el camarón blanco está sujeto durante su cultivo. Se requiere por lo tanto estudiar la fisiología del camarón en condiciones oscilantes de oxígeno disuelto y temperatura, similares a las que presentan en un ciclo de cultivo.

IV. Hipótesis

El marco de actividad del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* sometido a condiciones oscilantes de oxígeno disuelto y temperatura durante 7 días, mostrará una tendencia hacia la estabilización, debido a las compensaciones fisiológicas que el organismo realizará.

V. Objetivo General

Estudiar las respuestas fisiológicas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, sujeto a condiciones oscilantes de oxígeno disuelto y temperatura, típicas de las granjas de cultivo semiintensivo de camarón en el Noroeste de México.

V.1. *Objetivos Particulares*

- 1.- Definir el patrón de oscilación de oxígeno disuelto y temperatura representativo de las granjas de cultivo de camarón en el Noroeste de México.
- 2.- Evaluar el balance energético de juveniles de camarones blancos sometidos al patrón de oxígeno disuelto y temperatura seleccionado.
- 3.- Determinar la relación O:N de los juveniles de camarón blanco sometidos al patrón de oxígeno disuelto y temperatura seleccionado.
- 4.- Determinar las variaciones en el perfil bioquímico (proteínas, carbohidratos, glucógeno, lípidos, triglicéridos y colesterol) en diferentes tejidos.
- 5.- Evaluar las respuestas inmunológicas en diferentes tejidos de los juveniles del camarón blanco.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

VI.1. Obtención de los Organismos

Juveniles de camarón blanco *L. vannamei* con peso húmedo promedio de 2.8 (\pm 0.3) g, se obtuvieron de los estanques de cultivo del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Un total de 450 organismos se transfirieron al laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos del CIBNOR. En 3 tanques de plástico 150 L de capacidad previamente llenados a 100L con agua de mar, en cada uno de los tanques se colocaron 150 camarones en el estadio de intermuda. Los organismos fueron aclimatados durante cuatro días a 28°C, en agua de mar filtrada a 20 μ m, a 37 UPS, aireación constante, con la finalidad de permitir que los camarones se recuperaran del estrés producido durante el manejo y traslado, y propiciar su adaptación a las condiciones del laboratorio. Los organismos se alimentaron a razón del 7% del peso total del organismo por día, se dividió la ración en 2 partes iguales de 3.5%, el alimento se suministró a los organismos a las 10:00 y 22:00 h.

VI.2. Modelo de Oscilación y Diseño Experimental

La fase experimental duro 7 días, se establecieron los modelos de oscilación de las concentraciones del oxígeno disuelto en el agua y las temperaturas representativos de las granjas de cultivo de camarón en el Noroeste de México. Se utilizaron estos modelos para definir los tratamientos experimentales.

Para el tratamiento 1 (T1) o control, la concentración del oxígeno disuelto en el agua (PO_2) fue a 8 ± 0.7 mg/L y la temperatura a 28°C, durante toda la fase experimental. En el tratamiento 2 (T2), la oscilación de la temperatura fue de 26 a 30°C y la PO_2 osciló de 2 a 5 mg/L. Para el tratamiento 3 (T3), la oscilación de la temperatura fue de 23 a 33°C y la PO_2 fue de 1 a 7.5 mg/L.

Para los tratamientos T2 y T3, los valores mínimos para ambos parámetros fueron a las 4:00 h y los valores máximos se registraron a las 16:00 h (Figura 5).

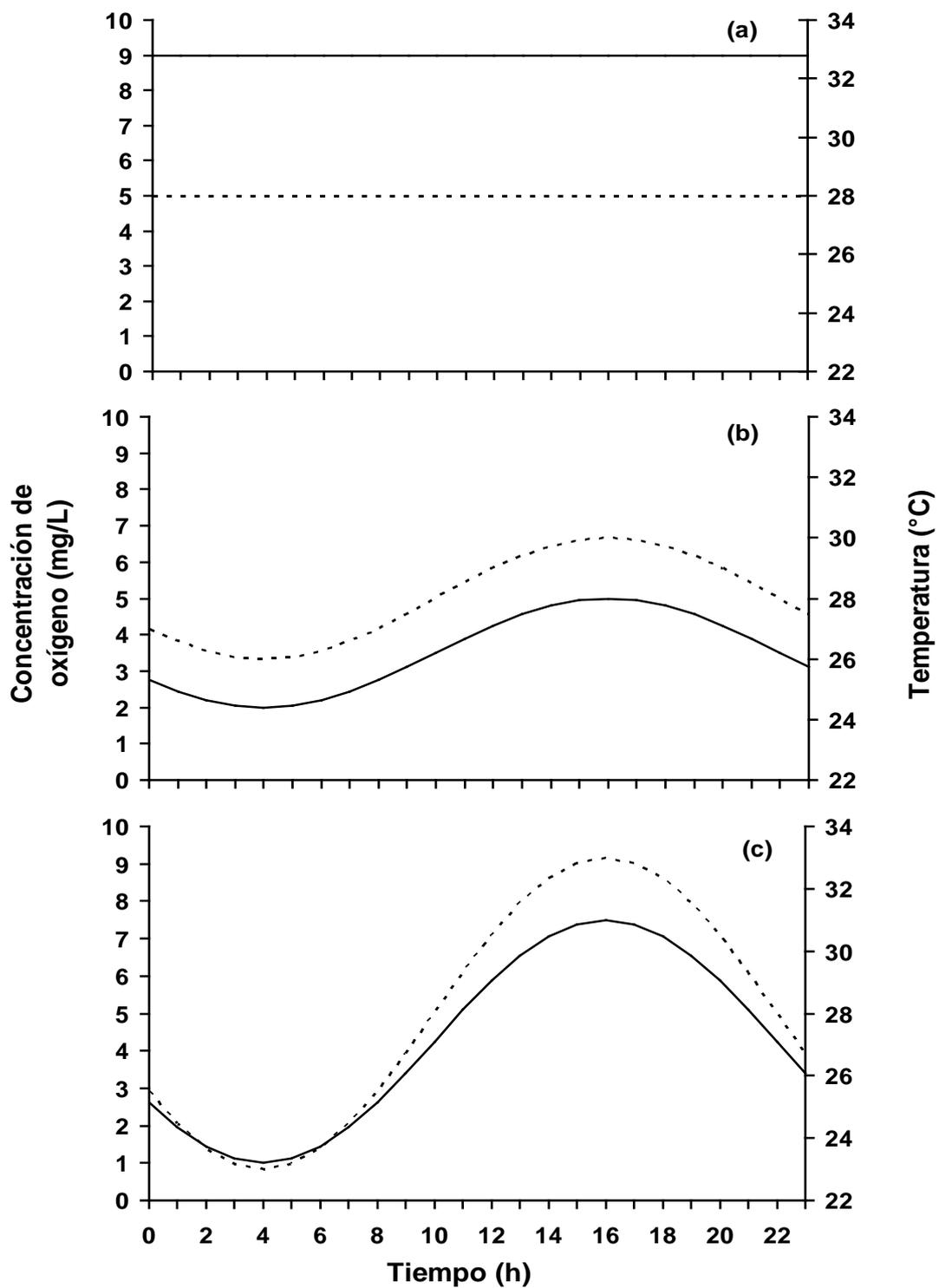


Figura 5. Modelos de las simulaciones del oxígeno (línea sólida) y temperatura (línea punteada) en condiciones de laboratorio. (a) Tratamiento 1; (b) Tratamiento 2; (c) Tratamiento 3.

VI.3. Descripción del simulador SITMA

El SITMA es un sistema computarizado con el cual se controló la temperatura del agua en los 3 tanques provistos de flujo continuo (300 ml/min), de forma simultánea e independiente para cada tratamiento (Figura 6). El control de la temperatura se realizó mediante un calentador de titanio Area Inc. (modelo TYL12074-R15) de 1000 Watts (240V; 2.5 Amp) y un sistema de refrigeración doméstico de ¼ HP conectado a un serpentín de acero inoxidable de 6 m de longitud. El programa del SITMA comparó la temperatura guardada en la memoria para el tiempo designado, el cambio en la temperatura enciende o apaga el enfriador o en el caso contrario el calentador (Figura 7). El ajuste térmico fino se llevo a cabo mediante el control de la potencia del calentador. La energía para los calentadores y enfriadores viene del centro de control y cargas (Sicard, 2006). A este gabinete se conectaron los 3 sensores de temperatura colocados en cada uno de los tanques experimentales para el registro de la temperatura real del agua de los tanques. Mediante dos bombas sumergible de 1/16 HP, se homogenizó la temperatura del agua.

La tarjeta de interfase comunica el centro de cargas con la computadora de mesa en la cual se encuentra instalado el programa del SITMA. En la Figura 8, se observa la pantalla principal. En el eje de las ordenada se grafica la temperatura y en el de las abscisas el tiempo en horas durante las 24 horas del día. En esta figura se puede observar una curva de temperatura sinusoidal, la cual se capturó y también se registro directamente de un termógrafo digital.

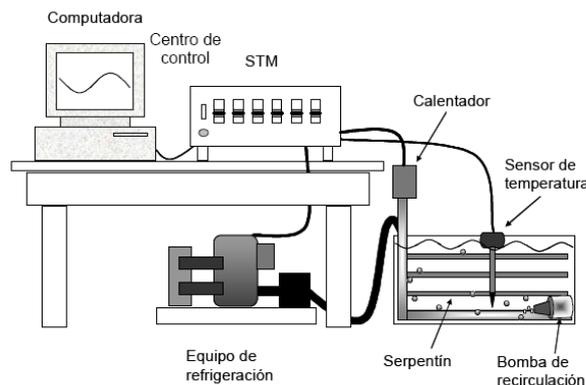


Figura 6. Esquema del Simulador Térmico Marino, se muestran los componentes diseñados para simular las oscilaciones térmicas en los tanques de forma simultanea e independiente (Tomado de Sicard, 2006).

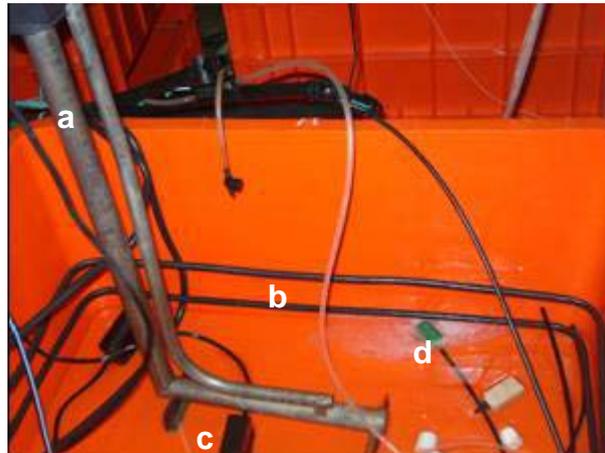


Figura 7. Tanque experimental del Simulador Térmico Marino se muestra el calentador de titanio (a), el serpentín de enfriamiento (b), sensor de temperatura (c), piedras difusoras de aire (d).

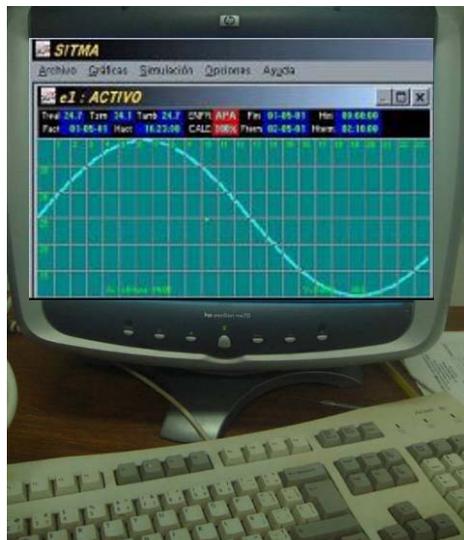


Figura 8. Curva de simulación de la temperatura que se muestra en la pantalla de la computadora del Simulador Térmico Marino. (Modificado de Sicard, 2006)

VI.3.1. Control de las variaciones de oxígeno y temperatura

En los tanques se incorporó el sistema de oscilación del O₂. En cada tanque experimental se colocaron 4 piedras difusoras, dos conectadas a una bomba de aireación, que se conectaron a un contacto múltiple con interruptor, para controlar las variaciones de la concentración del oxígeno disuelto (PO₂) en el agua. Para disminuir la PO₂ se colocaron en el mismo tanque dos piedras difusoras conectadas a un interruptor eléctrico el cual se conectó al manómetro del tanque de nitrógeno gaseoso, el interruptor se conectó a un contacto múltiple con interruptor (Figura 9). Las variaciones en la concentración de oxígeno en el agua se realizaron manualmente encendiendo o apagando el aire o el nitrógeno gaseoso.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 9. Tanques experimentales del Simulador Térmico Marino (a). Sistema de simulación oscilatoria de la concentración de oxígeno: b) bomba de aire individual; c) tanque de nitrógeno gaseoso; d) interruptor eléctrico; e) contacto múltiple para abrir o cerrar el aire o el nitrógeno gaseoso.

El registro de los cambios en la PO₂ se realizó con un oxímetro Microx TX equipado con un sensor tipo microoptode de fibra de vidrio de 50 µm de diámetro, instalado a una manguera de silicón con flujo continuo (Figura 10), proveniente del agua del tanque del tratamiento. Las PO₂ leídas por el Microx TX fueron registradas cada 5 s en una computadora portátil, en la pantalla se observaron las gráficas de los tres tratamientos de la PO₂.



Figura 10. Sensor de oxígeno de fibra óptica (microoptode) del oxímetro Microx TX, colocado a una manguera con flujo continuo para las determinaciones del oxígeno disuelto de los tanques de los tratamientos.

VI.4. Balance Energético (BE)

Se utilizó un sistema de cuatro cámaras de plástico de 1.5 L (cámaras respirométricas) diseñadas especialmente para los juveniles del camarón (Figura 11). Estas cuatro cámaras se introdujeron en cada uno de los tanques de tratamiento experimental para mantener la misma temperatura en las cámaras y en el tanque. En 3 cámaras se introdujo un camarón y la cuarta cámara permaneció sin organismo, la cual fue el control. La toma de muestras se llevo a cabo a diferentes horas del día (04:00, 10:00, 16:00 y 22:00 h).

Se midieron las tasas fisiológicas que componen la ecuación del balance energético propuestas por Ivellev (1945), Winberg (1960) y Warren y Davis (1967):

$$BE = (I \times Ea) - (R + E)$$

Donde: **BE** es el balance energético
I es la ingesta del alimento
Ea la eficiencia de absorción
R es la respiración
E es la excreción amoniacal

Las tasas fisiológicas se refirieron al peso seco de tejido y se expresaron en unidades energéticas (Joules/g/h).



Figura 11. Cámaras respirométricas de los tratamientos dentro de los tanques experimentales del SITAM.

VI.4.1. Ingestión (I)

La ingestión se midió cuantificando el consumo de alimento. El alimento comercial se proporcionó por un tapón de cierre hermético en cada cámara. Se dio 3.5% del peso corporal por ración, se alimentaron dos veces al día y se dejó el alimento por dos horas (Figura 12), posteriormente se recogió el alimento residual mediante sifoneo. La ingestión se obtuvo mediante la diferencia del peso seco del alimento ofrecido menos el peso seco del alimento residual. La tasa de ingestión se reporta en peso por hora.

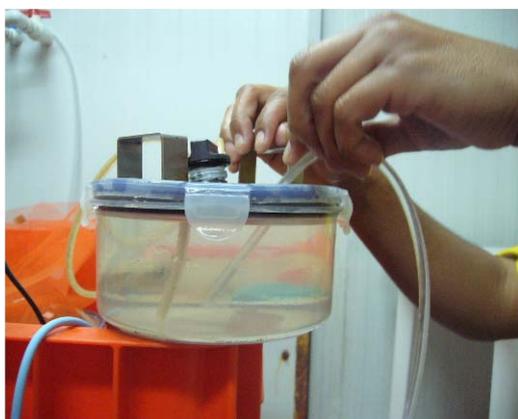


Figura 12. Cámara respirométrica con sistema de flujo continuo, para evaluar las tasas fisiológicas utilizadas del camarón blanco *L. vannamei*.

VI.4.2. Eficiencia de Absorción (EA)

Para evaluar la eficiencia de absorción se determinó primero la tasa de producción de heces. Dos horas posteriores a la alimentación, las heces se obtuvieron mediante sifoneo de las cámaras respirométricas (Figura 12). Las heces se colocaron en filtros de fibra de vidrio de 0.75 µm previamente lavados con agua destilada y secados durante 24 horas a 60 °C, e incinerados en una mufla para eliminar la materia orgánica (450°C) durante 12 horas hasta obtener un peso constante. Los filtros con heces se lavaron con una solución de formato de amonio al 3% con lo cual se eliminan las sales y se procedió a secarlos a 60°C hasta obtener un peso constante. Los filtros con las heces se incineraron mediante el mismo método, se obtuvo el peso constante para tener el peso seco libre de cenizas (Sokin, 1973).

Mediante el método de Conover (1966), las heces fueron utilizadas como indicador de la cantidad de materia orgánica absorbida o eficiencia de absorción, que consiste en relacionar el contenido de materia orgánica e inorgánica de alimento y de las heces mediante la ecuación:

$$EA = (F - E) / (1 - E) * F$$

La materia orgánica del alimento es el peso seco libre de cenizas del alimento, y el contenido de materia orgánica de las heces es el peso seco libre de cenizas de las heces.

VI.4.3. Tasa Respiratoria (R)

Un sensor de oxígeno tipo microoptode de fibra óptica de 50 µm de diámetro conectado en el puerto de salida de un distribuidor de 4 vías que recibía los efluentes de cada cámara para medir el oxígeno disuelto. El distribuidor permitió pasar una submuestra del efluente de cada cámara por separado sin alterar el flujo, gracias a las válvulas que contiene (Figura 13). El sensor estaba conectado a un oxímetro Microx TX controlado por un software de la computadora que recibió los datos. Las concentraciones registradas por el Microx TX se graficaron, se realizaron los cálculos de la PO₂ de cada cámara (Figura 14).

La tasa respiratoria (R) referida al peso seco se calculó mediante la ecuación:

$$R = (PO_{2c} - PO_{2i}) * F / P$$

Las cámaras con los organismos y control, recibieron el agua del tanque con las temperaturas y PO_2 oscilantes seleccionadas. Las oscilaciones de oxígeno disuelto se produjeron combinando el burbujeo de aire proveniente de un soplador instalado en el laboratorio, y el burbujeo de nitrógeno gaseoso para simular las concentraciones deseadas. La temperatura del tanque se reguló mediante el Simulador Térmico Marino (SITMA) que replicó automáticamente en el tanque la temperatura del sitio de cultivo. Las oscilaciones combinadas de PO_2 y temperatura se mantuvieron durante 7 días, tiempo en el cual se midió la VO_2 (consumo) de cada tratamiento al inicio, tercer y último día del experimento y por triplicado.

Los resultados de la tasa respiratoria expresados en $mgO_2/g/h$ fueron transformados a unidades energéticas considerando que un mL de O_2 consumido es equivalente a 20.2 Joules (Elliot y Davison, 1975).

Figura 13. Sensor de oxígeno (a) tipo microoptode de fibra óptica de 50 μm de diámetro conectado en el puerto de salida (b) de un distribuidor de 4 vías (c) que recibía los efluentes de cada cámara (d)

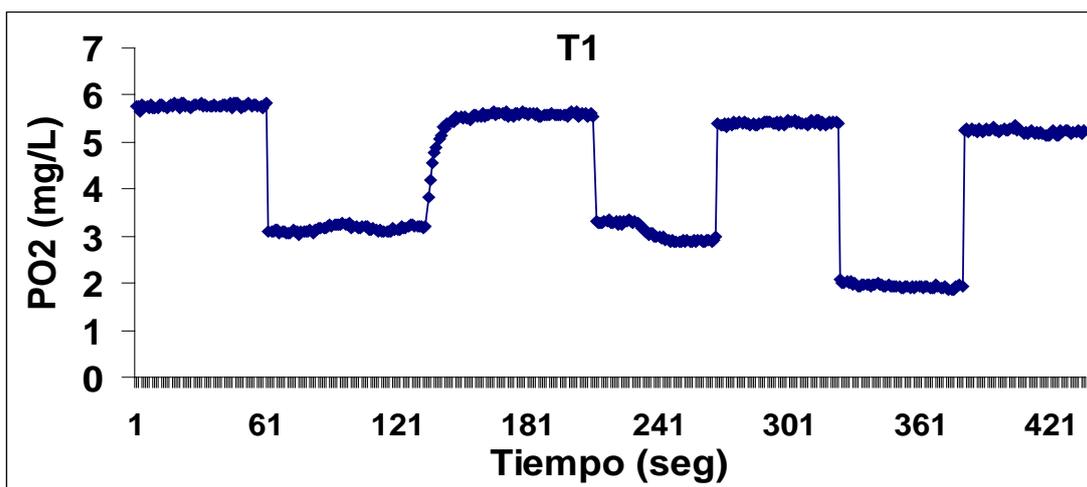


Figura 14. Ejemplo del registro de oxígeno disuelto (PO_2), tomado de los registros del oxímetro Microx TX durante los tratamientos experimentales. Las crestas y los valles corresponden a los valores del agua antes y después de pasar por una cámara con organismos.

VI.4.4. Tasa de Excreción (E)

Se midió la tasa de excreción por la diferencia entre las concentraciones de las cámaras con organismos, menos la concentración de amonio en la cámara control. Se tomaron 3 muestras de agua por cámara de los efluentes del distribuidor (Figura 19), en tubos eppendorf de 2 mL, las muestras se congelaron $-80^{\circ}C$, para su análisis. La concentración de amonio se estimó con el método de Solórzano (1969), adaptado a microplaca por Hernández-López y Vargas-Albores (2003).

La tasa de excreción (E) referida al peso seco se calculó mediante la ecuación:

$$E = (E_c - E_b) * F / P$$

La tasa de excreción se expresó en $\mu g N-NH_4/g/h$ y posteriormente se convirtió en unidades energéticas utilizando el equivalente energético de 7.37×10^{-3} Joules por $\mu g N-NH_4$ (Logan y Epifanio, 1978).

VI.4.5. Relación O:N

Se determinó la relación O:N de los camarones de cada tratamiento, se calculó dividiendo VO_2 entre TU (tasa de excreción).

VI.5. Peso Húmedo y Seco de los tejidos

Los juveniles de camarones se extrajeron de las cámaras, se pesaron con una balanza digital para obtener el peso húmedo, después se tomó la muestra de hemolinfa y se preservaron a -80°C. Los camarones se pesaron en una balanza digital, se tomó la muestra de hemolinfa y se preservaron a -80°C previamente etiquetados. Para la disección de los órganos se utilizó una placa de aluminio de 4 mm de grosor congelada sobre una charola de plástico de 4 cm de profundidad llena con agua congelada. Cada órgano se peso en una balanza digital y se tomó una fracción de 0.1g para cada análisis y se preservaron en tubos eppendorf etiquetados en el ultracongelador a -80°C.

El peso seco se estimó mediante una fracción de cada órgano y de los restos de los organismos, los cuales se liofilizaron y se calculó el peso seco con la siguiente ecuación:

$$\mathbf{PS = (PHO)*(PSF)/ PHF}$$

Donde:

PS = Peso seco

PHO = Peso húmedo del órgano

PSF = Peso seco de la fracción

PHF = Peso húmedo de la fracción

Obtenidos los pesos secos de todos los componentes corporales se calculó el peso seco del organismo.

VI.6. Toma de Muestras Biológicas

La obtención de las muestras biológicas se realizó en tres ocasiones durante la fase experimental a las cuales se le denominó día 1, 2 y 3, que corresponden a un ciclo de 22:00 a 22:00 h de los siguientes días 1-2, 4-5 y 7-8 días respectivamente. Se tomaron dos camarones por triplicado de los tanques de cada tratamiento (T1, T2, T3), cada 6 h durante 24 h. Al final del experimento se tomó un camarón por triplicado para evaluar el BE de las cámaras respirométricas de cada tratamiento. La disección y preservación se realizó de la misma forma que fue descrita en la sección VI.4. Los tejidos congelados para los análisis bioquímicos de hepatopáncreas y músculo se liofilizaron y se tomó una muestra de 0.01g de cada uno.

VI.7. Perfil Bioquímico

Se determinó el perfil bioquímico para determinar las reservas energéticas y moléculas estructurales en el camarón blanco *L. vannamei*, sujetos a las oscilaciones de temperatura y oxígeno y del balance energético en los tejidos corporales de hemolinfa, hepatopáncreas y músculo. Se utilizaron las técnicas que a continuación se describen adaptadas a microplaca y los resultados de hemolinfa se expresaron en mg/mL y para el hepatopáncreas y músculo en mg/g de peso seco.

VI.7.1. Obtención de Hemolinfa

La hemolinfa se extrajo de la base del pleópodo del primer segmento abdominal utilizando una jeringa hipodérmica estéril de 1 ml previamente enjuagada con anticoagulante (oxalato de sodio con HEPES) frío, la jeringa se colocó en hielo hasta el momento de utilizarla. Se extrajo 0.1 ml de hemolinfa por cada organismo, se tomaron 6 muestras por tratamiento (T1, T2, T3). La hemolinfa obtenida de cada tratamiento se juntó para formar un pool debido que la cantidad individual no era suficiente para realizar los análisis bioquímicos correspondientes. El pool de hemolinfa se centrifugó a 3,500 rpm por 5 min. El sobrenadante se separó y se utilizó para los análisis bioquímicos (Figura 15). El precipitado conformado por el paquete celular (hemocitos) se guardó a -80°C para los análisis de inmunología.

VI.7.2. Proteínas Totales

Para determinar la cantidad de proteínas se utilizó el Kit de Bio-Rad. (No. Cat. 500-0006). El complejo azul formado es directamente proporcional a la concentración de la proteína en la muestra. Se utilizó albúmina de bovino como referencia. Este análisis se realizó en hemolinfa, hemocitos, músculo y hepatopáncreas.

VI.7.3. Carbohidratos Totales

Para determinar la cantidad de carbohidratos totales, se utilizó el método de Antrona (Roe, 1954), propuesta por Van-Handel, 1965. Se basa en hidrolizar los enlaces glucosídicos de los polisacáridos y disacáridos para

convertirlos en monosacáridos, los cuales reaccionan con el compuesto de Antrona para dar una coloración que puede variar de color verde a negro, dependiendo de la cantidad de carbohidratos presentes en la muestra. Las muestras se leen a 630nm. La concentración de carbohidratos en los tejidos se determinó comparando los resultados con una curva estándar de dextrosa de 7 puntos en el rango de concentraciones de 0.15 a 10.0 mg/mL. Este análisis se realizó en músculo y hepatopáncreas.

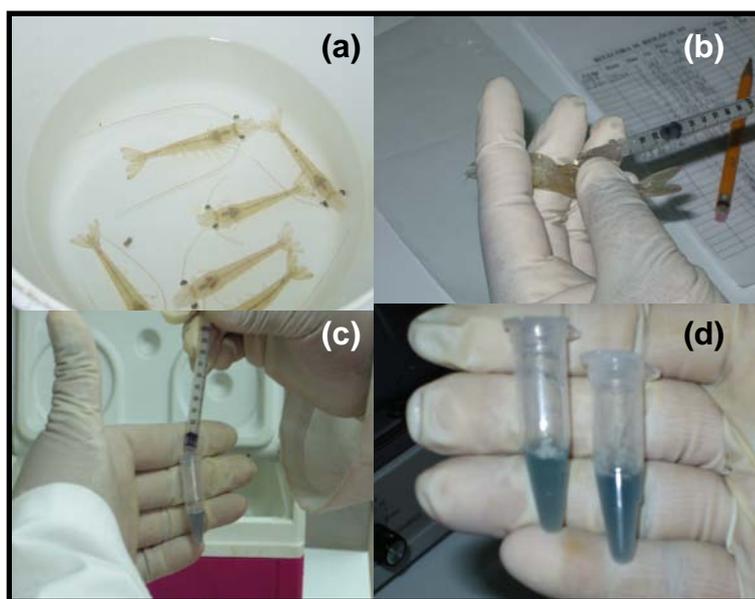


Figura 15. Secuencia para obtener las muestras de hemolinfa del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, expuestos a la oscilación de PO_2 y de $T^\circ C$. a) juveniles de camarón; b) extracción de la base del pleópodo del primer segmento abdominal; c y d) pool de hemolinfa.

VI.7.4. Glucosa

Para medir glucosa, se utilizó la prueba enzimática colorimétrica (kit de RANDOX método GOD-PAP, No. catalogo AY 891), El método utiliza como sustrato un p-nitrofenilmalto heptaosido bloqueado por benzilidina. Se utilizan dos enzimas indicadoras: Glucoamilasa, para escindir los productos de la reacción de la amilasa y α -glucosidasa para liberar el p-nitrofenol. La glucosa terminal del sustrato es bloqueada químicamente para prevenir la escisión por las enzimas indicadoras. Las muestras se leen en un lector de microplacas BIO-RAD 550 a una absorbancia de 490 nm. La concentración de glucosa en

los tejidos se determinó comparando los resultados con una curva estándar de dextrosa de 7 puntos en el rango de concentraciones de 1.5 a 100 mg/dL

VI.7.5. Glucógeno

El glucógeno se determinó con el método de antrona (Van-Handel, 1965), al igual para los carbohidratos, precipitando primero el glucógeno presente en la muestra con etanol por centrifugación. Se agrega al glucógeno precipitado la solución antrona a 80°C para llevar a cabo la reacción antes descrita. Este análisis se realizó en músculo y hepatopáncreas.

VI.7.6. Lípidos Totales

Para determinar los lípidos totales se llevó a cabo mediante el método descrito por Barnes y Blackstock (1973). Se basa en la reacción de los lípidos con el reactivo fosfovainillina y el ácido sulfúrico que da un complejo de color rosa. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de lípidos en la muestra y se lee a una absorbancia de 540nm. Al mismo tiempo se corrió la curva estándar con 6 puntos en el rango de concentraciones de 0.16 a 5.0 mg/L de lípidos. Este análisis se realizó en hemolinfa, músculo y hepatopáncreas.

VI.7.7. Triglicéridos

La determinación de triglicéridos se llevo acabó utilizando el kit comercial de diagnóstico Boehringer Mannheim (No. Cat. 1072 765 y 1072 692) que utiliza el método GPO-PAP. Se basa en la hidrólisis de los triglicéridos por lipasas; el glicerol-3.fosfato es oxidado por el glicerol fosfato oxidasa a dihidroacetona fosfato y peróxido, el cual reacciona con la 4-aminoantiparina y 2-clorofenol para producir 4-fenozona colorida rosada que puede medirse a 490 nm. La coloración es proporcional a la concentración de glicerol-3-fosfato. La concentración absoluta se obtuvo al comparar los resultados de las muestras con la curva estándar. Ésta se prepara a partir de una solución estándar de triglicéridos de 200 mg/dL, incluida en el kit, se diluyó la solución salina hasta obtener un rango de concentración de 6.25 a 200 mg/dL. Este análisis se realizó en hemolinfa, músculo y hepatopáncreas.

VI.7.8. Colesterol

Se utilizó el kit comercial de diagnóstico Boehringer, Mannheim (No. Cat. 290319) para determinar el colesterol y aplica el método CHOD-PAP. Se basa utilizando detergentes para separar el colesterol de los ésteres (lipoproteínas). La aplicación posterior de colesterol esterasa hidroliza los ésteres del colesterol incluyendo, el colesterol producido y el libre, que son oxidados por la enzima colesterol oxidasa formando peróxidos. El peróxido reacciona con la 4-aminofenazona y fenoles en presencia de peroxidasa, produciendo la 4-(p-benzoquinonaamino)-fenazona rosada la cual se lee a 490 nm. La concentración de ésta es proporcional al colesterol contenido en la muestra. Se corre al mismo tiempo la curva estándar de colesterol en un rango de concentración de 6.25 a 200 mg/dL. La solución estándar del colesterol a 200 mg/dL esta incluida en el Kit con la cual se realizan las diferentes diluciones para la curva estándar. Este análisis se realizó en hemolinfa, músculo y hepatopáncreas.

VI.7.9. Lactato

Se determinó con la prueba enzimática colorimétrica (kit de RANDOX, No. catalogo LC 2389), el ácido láctico en presencia de oxígeno con la ayuda de lactato oxidasa dan lugar a piruvato + peróxido de hidrogeno, este último compuesto reacciona con 4-chlorofenol y 4-ajminoantipirina en presencia de peroxidasa da lugar a un compuesto colorido (quinoneimina), el cual es directamente proporcional a la concentración de lactato presente en la muestra. La concentración del lactato en los tejidos se determinó comparando los resultados con una curva estándar de dextrosa de 8 puntos en el rango de concentraciones de 0.3 a 40 mg/dL Las muestras se leen en un lector de microplacas BIO-RAD 550 a una absorbancia de 540 nm. Este análisis se realizó en hemolinfa y músculo.

VI.8. Respuestas Inmunológicas

Los análisis para las respuestas inmunológicas se realizaron en las muestras del pool de hemocitos de los camarones del tratamiento 1 y tratamiento 3 del 7 día de la fase experimental. Las muestras de los paquetes

celulares se maceraron y se homogenizaron agregando 400 μL de solución isotónica a 0.1mM de pH 7.5. Se tomó una muestra de 200 μL del homogenizado para los análisis de peroxidación de lípidos, y los 200 μL de muestra se centrifugaron a 3,500 rpm por 10 min a 4°C, el sobrenadante se separo del precipitado para los análisis de proteínas totales solubles y la actividad enzimática.

VI.8.1. Peroxidación de Lípidos (TBARS)

El principio de la técnica es la reacción de ácido tiobarbitúrico (TBA) con los hidroperóxidos y aldehídos lipídicos resultantes de la peroxidación de la membrana celular para formar melondialdehído (MDA), que es un pigmento rosa cristalino con absorción máxima de 532-535 nm (Persky, *et al.*, 2000).

En una microplaca se colocó 50 μL de muestra por triplicado, se incubó en baño de agua a 37°C con agitación durante 15 min, después se colocó en baño de hielo y se agregó 50 μL de ácido tricloroacético (TCA 12.5%) para detener la reacción. Se agregó 100 μL TBA al 1%, se agitó y se colocó la microplaca en baño de agua a 90°C por 10 min con agitación, se dejó enfriar en una cama de hielo y se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min a 4°C. El sobrenadante se pasa a otra microplaca y se lee la absorbancia a 532 nm en un espectro con ultravioleta. Al mismo tiempo se corre la curva estándar de 1,1,3,3,-tetraetoxipropano (TEP) de 0 a 5 nM/250 μL . Los resultados obtenidos a partir de la curva estándar, se expresaron en nanomoles de sustancias reactivas al TBA por gramo de tejido (nM/g).

VI.8.2. Proteínas solubles

La cantidad de proteínas solubles se calculó para estandarizar los valores de actividad enzimática, usando un kit comercial basado en el método descrito por Bradford (1976) descrito en la sección VI.6.2.

VI.8.3. Actividad enzimática

La actividad enzimática se define como la velocidad a la cual una enzima transforma su substrato en producto. Para cuantificar el grado de actividad de una enzima es posible medir la desaparición del propio substrato, o bien, la aparición del producto (Stryer, 1995).

En el presente estudio se llevo acabó la evaluación de tres enzimas antioxidantes: catalasa, glutatión S tranferasa (GTS) y superoxido dismutasa (DOD).

VI.8.4. Catalasa (CAT) E.C.1.11.1.6

Esta técnica mide la desaparición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a 240 nm. La descomposición enzimática del H_2O_2 es una reacción de primer orden; su tasa es proporcional a la concentración de peróxido presente, por lo que se trabaja con concentraciones bajas del mismo (Aebi, 1984). Se calibró el espectrofotómetro (Spectrophotometer Beekman DDU-640) con la solución 1 a 240 nm utilizando lámpara de UV. En una celda de cuarzo se agregaron 495 μ L de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 8 mM ajustado a una absorbancia de 0.5 ± 0.01 a 240 nm y 10 μ L de muestra. Se agitó y se registró el $\Delta A/\text{min}$ a 240 nm en el espectro. Los valores negativos de la pendiente $\Delta A/\text{min}$ indican actividad catalasa visualizando una curva ascendente. Se utilizó catalasa de hígado de bovino como estándar (C-9322). Los cálculos se realizaron con la siguiente ecuación:

$$U/\text{ml} = (\Delta A/\text{min} \times \text{CE} \times \text{Factor de Dilución}) / 60 \text{ seg}$$

$$U/\text{mg} = (U/\text{ml}) / (\text{mg/l proteína})$$

Donde:

CE es el coeficiente de extinción del peróxido = $0.0346 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$

$\Delta A/\text{min}$ es el cambio en la densidad óptica por unidad de tiempo generado por el consumo del peróxido de hidrógeno

La unidad se considera como la descomposición de 1 μmol de peróxido por minuto a 25°C . La actividad específica es la unidad enzimática por mg de proteína.

VI.8.5. Glutatión S-Transferasa (GST) E.C.2.5.1.18

La glutatión S-Transferas (GST) cataliza la unión del glutatión reducido (GSH) con xenobióticos. Para determinar su actividad, se mide la aparición del complejo tioéter glutatión dinotrobenceno a 340 nm. Cuando se conjugan GSH y 1-cloro 2,4-dinitrobenceno (DNDB) (Habig y Jakoby, 1981).

Las muestras con 50 mg/mL, se colocaron por triplicado en una microplaca, y se agregó 285 μ L de la solución de corrida (25 mL de solución

amortiguadora de fosfatos 0.1 mM pH 7.0 conteniendo 5 mL glutatión reducido (GSH, 10 mM) y 416 μ L EDTA 60 mM ajustado a 50 mL con agua desionizada), 6 μ L de la solución de sustrato (CDNB). El blanco se preparó por triplicado con 294 μ L de solución de corrida y 6 μ L de CNDNB. Se registró el cambio de absorbancia cada 30 seg durante 6 min a $\lambda = 340$ nm (ΔA_{340}). La unidad se expresa U GST/mg proteína. Una unidad de actividad de GST se define como la cantidad de enzima que cataliza la conjugación de 1 μ mol de CNDNB/min a 25°C

VI.8.6. Superóxido Dismutasa (SOD) E.C.1.15.1.1

La actividad de la enzima superóxido dismutasa se determinó de acuerdo al método descrito por Beauchamp y Fridovich (1971) utilizando NBT en presencia de riboflavina. Se colocó en una microplaca 200 μ L de mezcla de reacción (EDTA 0.1 mM, metionina 13 μ M, NBT 0.75 mM y riboflavina 20 μ M, en solución tampón de fosfatos 50 nM, pH 7.8), más 0 – 10 μ L del extracto crudo de la muestra y de 10 a 0 μ L de buffer. La microplaca con las muestras se expusieron a luz fluorescente durante de 30 seg o hasta que los blancos alcanzaron una densidad óptica entre 0.2 – 0.25 a 560 nm. Se realizó al mismo tiempo la curva estándar. La actividad específica se calculó en unidades por mg de proteínas.

VI.9. Análisis estadístico

Los valores obtenidos en porcentaje, como es la eficiencia de absorción se transformaron en Arcoseno y con log10 para los datos de los análisis bioquímicos. Se realizó un análisis de normalidad y homogeneidad de varianza mediante el análisis de Kolmogorov-Smirnow. Se utilizó análisis de variancia (ANOVA) de una vía para determinar la diferencia entre tratamientos y dos vías para determinar la diferencia entre la hora y día en cada tratamiento, posteriormente se aplicó la prueba de Tukey cuando se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Se realizó la correlación y su nivel de significancia entre los parámetros a los diferentes datos de balance energético y de los bioquímicos. Se usó el software Statistica versión 8.0.

VII. RESULTADOS

VII.1. Temperatura y Concentración del Oxígeno disuelto en los tanques.

Los registros de temperatura de los tres tratamientos a lo largo del experimento se muestran en la Figura 16. Estos resultados muestran que los equipos mantuvieron las temperaturas deseadas en los diferentes tratamientos durante los 7 días del experimento.

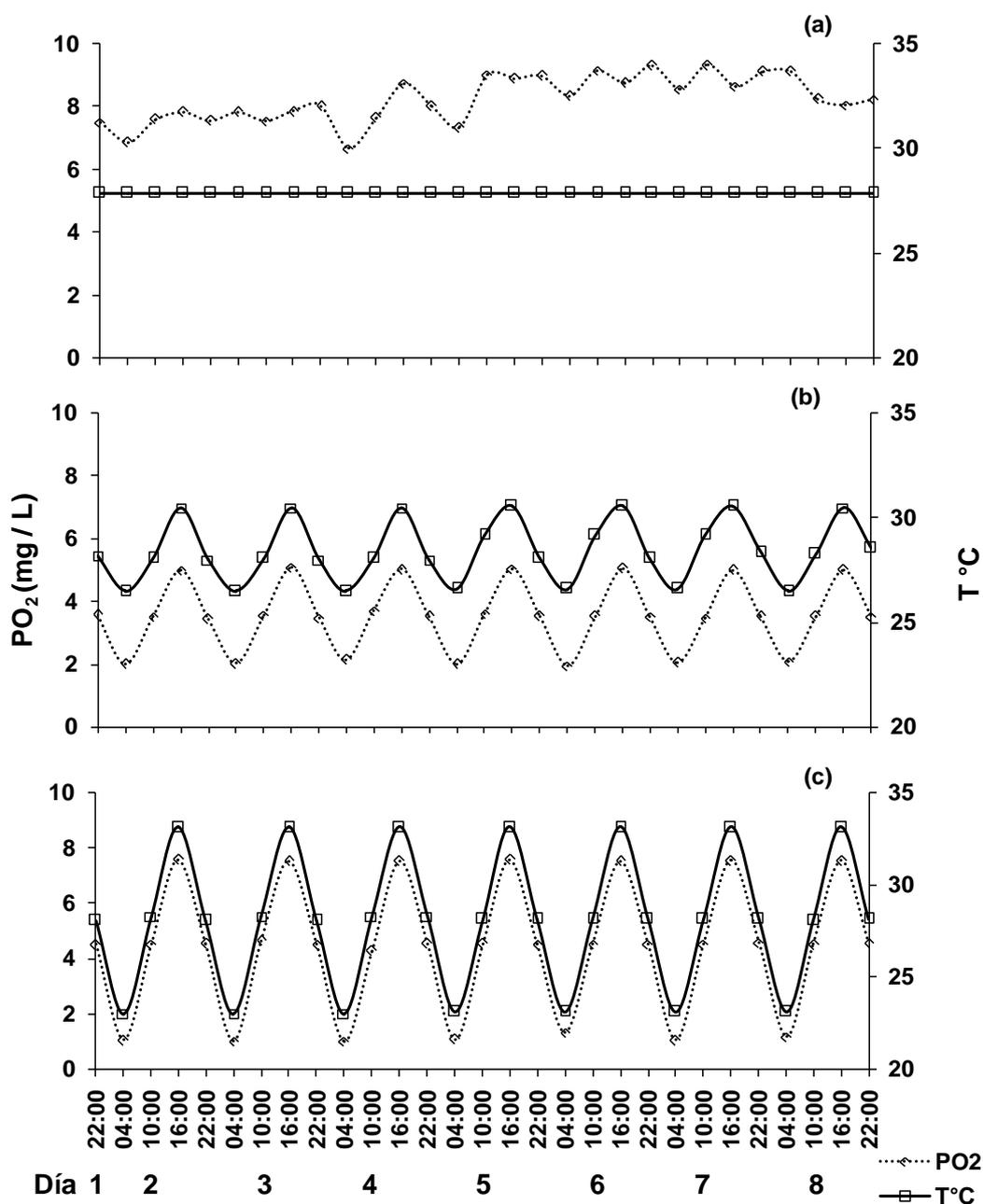


Figura 16. Oscilación en la concentración del oxígeno (PO₂) y la temperatura (T °C), registrados en las tinas durante la fase experimental para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L).

VII.2. Temperatura y Concentración del Oxígeno disuelto en las cámaras respirométricas.

Los registros de la concentración del oxígeno disuelto en los tres tratamientos a lo largo del experimento se muestran en la Figura 17. Estos resultados muestran que el control manual en la oscilación que se llevo a cabo durante la fase experimental se mantuvo dentro del rango deseado en los diferentes tratamientos durante los 7 días del experimento, a excepción de algunos eventos ocasionales producidos por fallas técnicas.

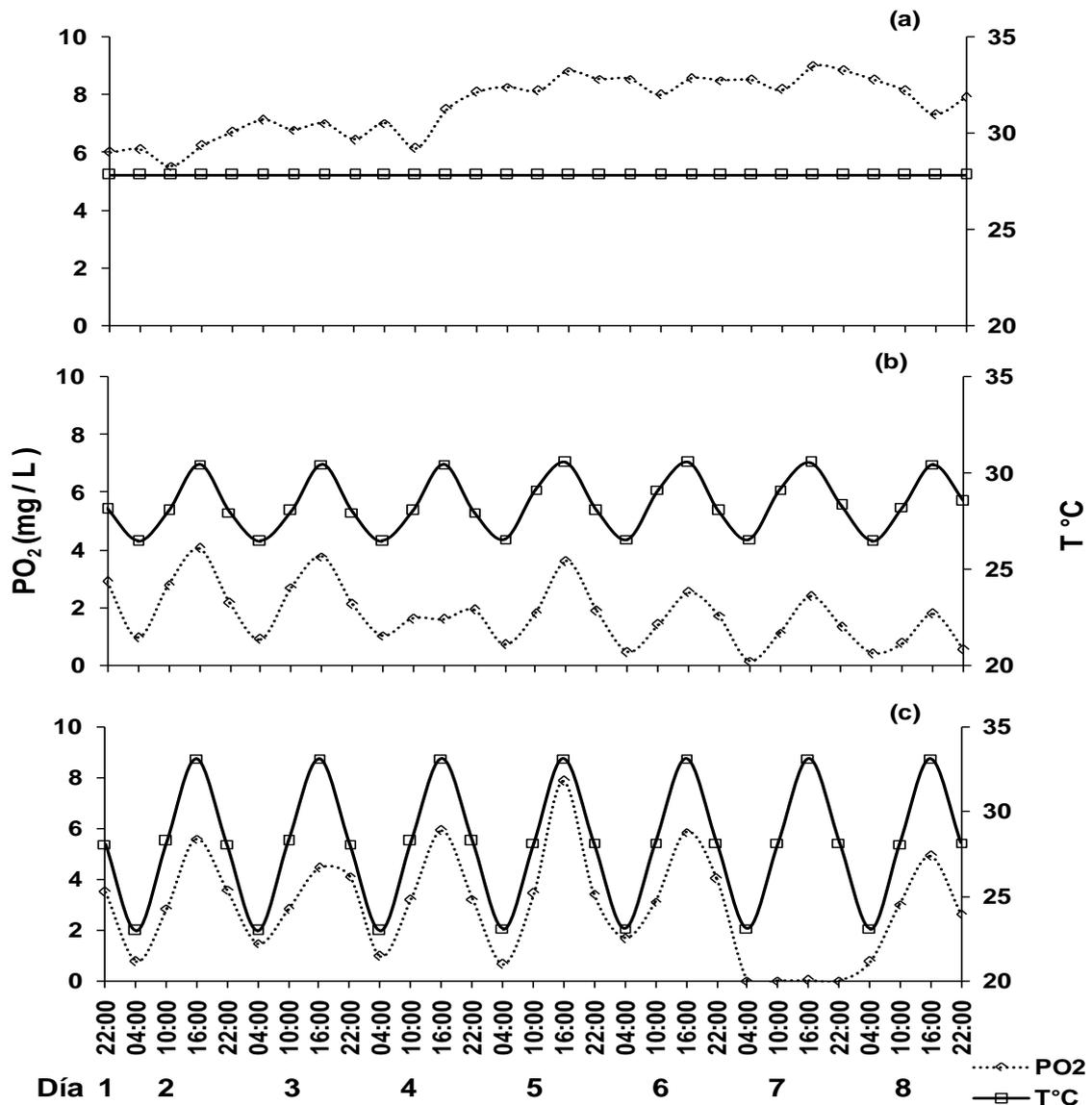


Figura 17. Oscilación en la concentración del oxígeno (PO_2) y la temperatura (T $^{\circ}C$), registrados en las cámaras respirométricas durante la fase experimental para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8 ± 0.7 mg/L); (b) tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L).

VII.3. Balance Energético

Se describen a continuación los resultados de las respuestas fisiológicas de los juveniles del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, tasa de ingestión, tasa de absorción, eficiencia de absorción, tasa respiratoria y de excreción, elementos principales para la obtención del balance energético.

VII.3.1. Tasa de Ingestión

En la Figura 18, se muestra la variación promedio de la tasa de ingestión en los tratamientos. Los resultados no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos (T1= 69.07 ± 26.07 J/g/h; T2= 66.39 ± 31.37 J/g/h; T3= 70.02 ± 33.41 J/g/h). Sin embargo, se puede observar una tendencia al incremento en el tratamiento 1 (Figura 18a). Para este caso se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los días. La tasa de ingestión al inicio de la fase experimental fue de 53 ± 38 J/g/h, la cual se incrementa al final del tratamiento a 80 ± 3 J/g/h, y el día 2 (47.51 ± 18.70 J/g/h) fue significativamente menor que el día 7 (90.43 ± 24.26 J/g/h).

En el tratamiento 2 como se puede observar en la Figura 18b, la tasa de ingestión fue de 79 ± 38 J/g/h al inicio de la fase experimental, posteriormente se observa una disminución a los 3 días siguientes, y a partir del quinto día se incrementa la tasa de ingestión, obteniéndose un valor de 86 ± 10 J/g/h al final de la fase experimental; se presentaron diferencias significativas entre los días ($p < 0.05$), siendo el día 2 (34.82 ± 15.85 J/g/h) significativamente menor a los dos últimos días 7 (91.8 ± 34.65 J/g/h) y día 8 (92.73 ± 14.67 J/g/h).

En el tratamiento 3 (Figura 18c), la tasa de ingestión en al inicio del día fue de 34 ± 15 J/g/h, observándose un ligero incremento en los siguientes días para finalizar con 54 ± 9 J/g/h, no habiendo diferencias significativas entre los días ($p > 0.05$) del tratamiento.

La correlación entre la concentración del oxígeno disuelto en el agua y la tasa de ingestión fue significativa y de 0.3 para el tratamiento 1 y de -0.4 para el tratamiento 2.

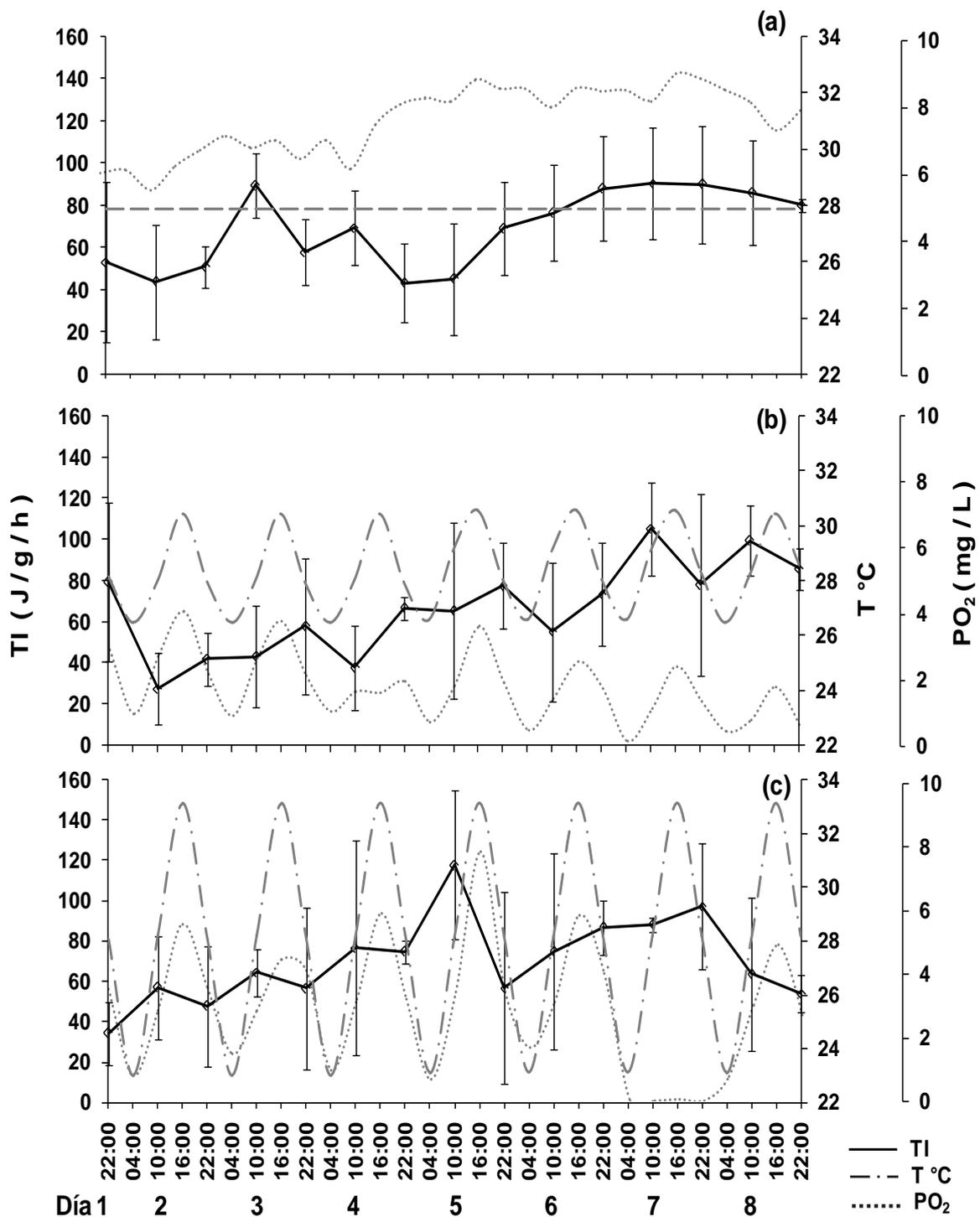


Figura 18. Tasa de Ingestión (TI) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno. (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 3.

VII.3.2. Eficiencia de Absorción

En la Figura 19, se muestra la variación promedio de la eficiencia de absorción en los tratamientos. Los resultados no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos (T1= $71.76 \pm 4.58\%$; T2= $71.77 \pm 6.01\%$; T3= $71.99 \pm 5.70\%$).

En el tratamiento 1 (Figura 19a), entre los días no se observaron diferencias significativas. Sin embargo, se observó que la eficiencia de absorción al inicio de la fase experimental fue de $68 \pm 5 \%$, y presenta una tendencia a incrementarse finalizando con un valor de $74 \pm 6 \%$.

En el tratamiento 2 (Figura 19b), la eficiencia de absorción promedio fue de $68 \pm 4 \%$ en el primer día, pero para finalizar se obtiene un valor promedio de $71 \pm 5 \%$; no se presentaron diferencias significativas entre los días ($p > 0.05$).

En el tratamiento 3 (Figura 19c), la eficiencia de absorción promedio en el primer día fue de $75 \pm 4 \%$, observándose variaciones en los siguientes días para finalizar con $76 \pm 2 \%$; el día 5 ($66.60 \pm 5.68 \%$) fue significativamente menor ($p < 0.05$) en comparación el día 7 ($75.82 \pm 4.81 \%$) y el día 8 ($76.82 \pm 2.48 \%$).

Se observó una correlación significativa entre la concentración del oxígeno en el agua y la eficiencia de absorción de 0.4 para el tratamiento 1, de 0.1 para el tratamiento 2 y de -0.3 para el tratamiento 3.

VII.3.3. Tasa de Absorción

En la Figura 20, se muestra la variación promedio de la tasa de absorción en los tratamientos. Los resultados no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos (T1= $49.77 \pm 19.52 \text{ J/g/h}$; T2= $47.18 \pm 21.94 \text{ J/g/h}$; T3= $50.44 \pm 22.30 \text{ J/g/h}$). Sin embargo, se observa una tendencia a aumentar la tasa de absorción en el tratamiento 1 (Figura 20a), en este caso se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los días. La tasa promedio al inicio de la fase experimental fue de $37 \pm 26 \text{ J/g/h}$, la cual se incrementa al final del tratamiento a $60 \pm 6 \text{ J/g/h}$, siendo el día 2 ($32.91 \pm 26.12 \text{ J/g/h}$) significativamente menor que el día 7 ($68.63 \pm 19.72 \text{ J/g/h}$).

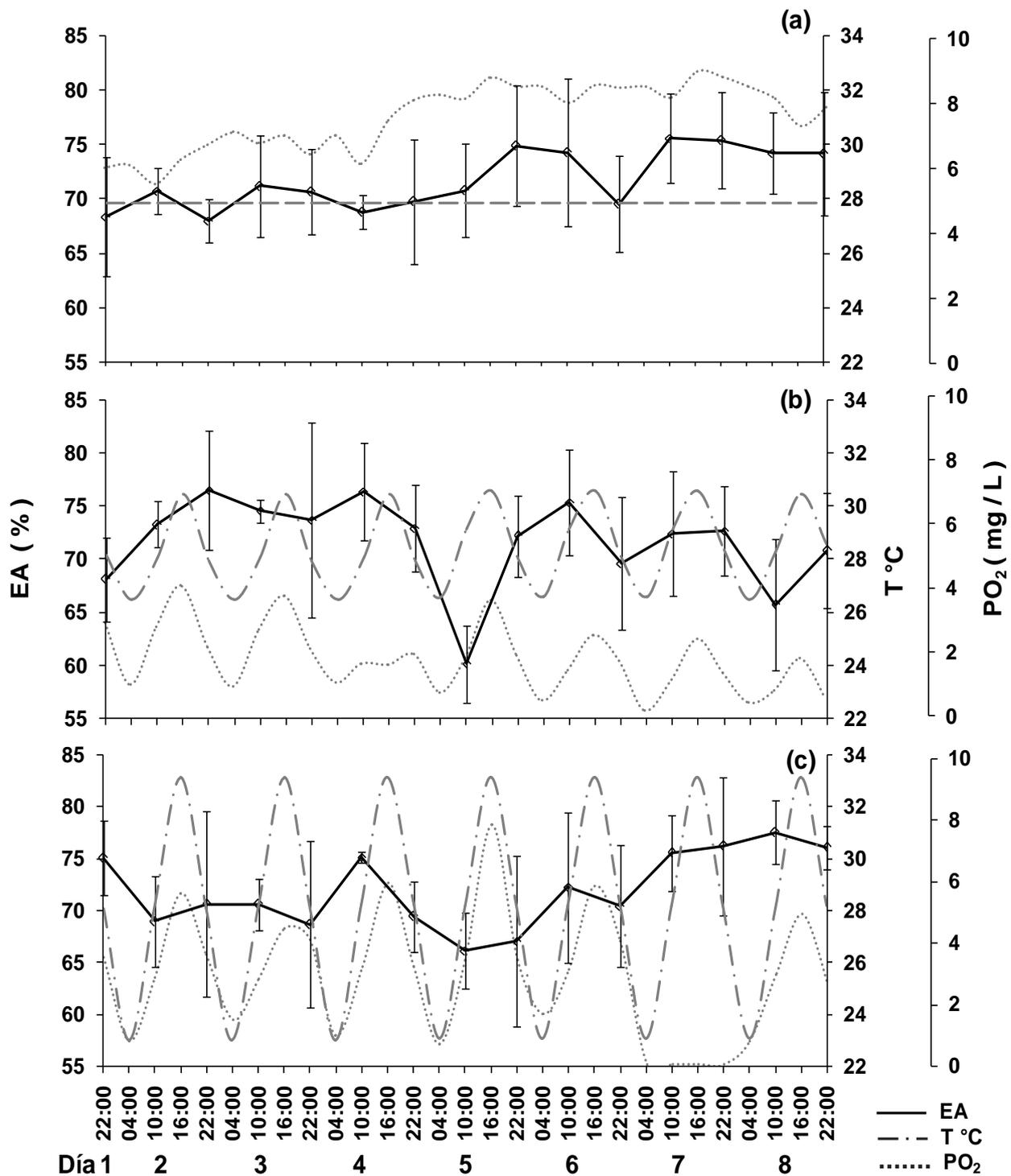


Figura 19. Eficiencia de Absorción (EA) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno. (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 3.

En el tratamiento 2 (Figura 20b), la tasa de absorción fue de 53 ± 24 J/g/h al inicio de la fase experimental, se observa una disminución al 2 día hasta 20 ± 13 J/g/h, y luego se observa un incremento progresivo en la tasa de absorción, obteniéndose un valor promedio de 58 ± 10 J/g/h al final de la fase experimental; se presentaron diferencias significativas entre los días ($p < 0.05$), siendo el día 2 (25.94 ± 11.64 J/g/h) significativamente menor que el día 7 (68.43 ± 26.61 J/g/h) y el día 8 (63.06 ± 10.08 J/g/h).

En el tratamiento 3 (Figura 20c), la tasa de absorción en al inicio del primer día fue de 26 ± 11 J/g/h, observándose un incremento en los siguientes días para finalizar con 41 ± 7 J/g/h, habiendo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el día 1 (25.65 ± 11.45 J/g/h) y el día 7 (70.48 ± 17.67 J/g/h).

Se observó una correlación significativa entre la concentración de oxígeno en el agua y la tasa de absorción de 0.4 para el tratamiento 1, de -0.4 para el tratamiento 2 y de -0.3 para el tratamiento 3.

VII.3.4. Tasa de Respiratoria

En la Figura 21, se muestra la variación promedio de la tasa respiratoria. Los resultados obtenidos entre los tratamiento arrojaron que son significativamente diferentes ($p < 0.05$), siendo el tratamiento 1 (2.45 mgO₂/g/h) y el tratamiento 2 (2.43 mgO₂/g/h) menores que el tratamiento 3 (3.5 mgO₂/g/h).

En el tratamiento 1 (Figura 21a), la tasa al inicio del primer día fue de 1.46 ± 0.56 mgO₂/g/h, con variaciones en el transcurso de los días, para finalizar con 1.65 ± 0.52 mgO₂/g/h. El día 4 (3.41 ± 1.00 mgO₂/g/h) fue significativamente mayor a los demás días.

En el tratamiento 2 (Figura 21b), la tasa respiratoria fue de 2.60 ± 0.05 mgO₂/g/h al inicio de la fase experimental, se puede observar variaciones que siguiendo el patrón de oscilación de la temperatura y oxígeno en el transcurso de los siguientes días para finalizar con 2.02 ± 0.24 mgO₂/g/h. Los días 2, 3, 5, y 6 son mayores significativamente ($p < 0.05$) al día 8 y presentaron diferencias con el día 1 ($p > 0.05$).

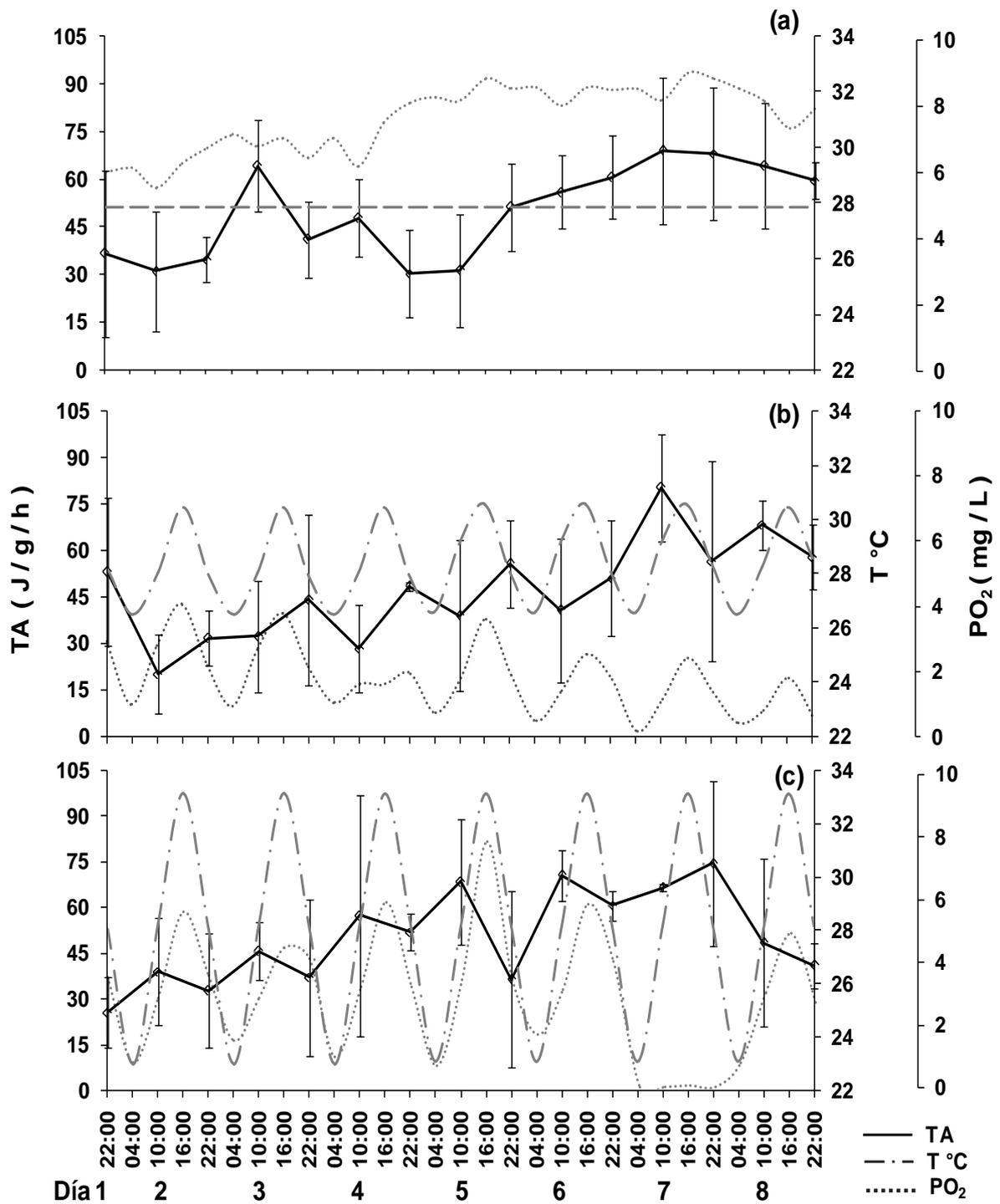


Figura 20. Tasa de Absorción (TA) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno. (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 3.

El tratamiento 3 (Figura 21c), la tasa respiratoria promedio en el primer día fue de 2.55 ± 0.02 mgO₂/g/h, observándose un incremento significativo en el segundo día 14.27 ± 4.86 mgO₂/g/h, las variaciones en los siguientes días siguieron el patrón de oscilación de la temperatura y oxígeno para finalizar con un valor de 2.61 ± 1.84 mgO₂/g/h semejante al valor del primer día. El día 2 fue significativamente mayor ($p < 0.05$) a los días 4, 5, 7, y 8, mientras que el día 4 fue significativamente diferente al día 6.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y la tasa respiratoria no fue significativa y de -0.15 para el tratamiento 1; de -0.1 para el tratamiento 2 y de -0.1 para el tratamiento 3.

VII.3.5. Tasa de Excreción

En la Figura 22, se muestra la variación promedio de la tasa de excreción. Los resultados obtenidos arrojaron que no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos (T1= 2.20 ± 3.92 mμN-NH₄/g/h; T2= 1.74 ± 2.71 mμN-NH₄/g/h; T3= 2.15 ± 3.53 mμN-NH₄/g/h), sin embargo entre los días de cada tratamiento existe diferencia significativa ($p < 0.05$).

En el tratamiento 1 (Figura 22a), presentaron diferencias significativas entre los días ($p < 0.05$), la tasa de excreción en el primer día y del último fue de 0 mμN-NH₄/g/h, con grandes variaciones en el transcurso de los días. El día 2 (7.36 ± 5.60 mμN-NH₄/g/h), fue significativamente mayor que los otros días y no presentó diferencias significativa con el día 4.

En el tratamiento 2 (Figura 22b), la tasa de excreción fue de 0 mμN-NH₄/g/h al inicio de la fase experimental, se puede observar un incremento significativo en el día 3 de 12.2 ± 2.3 mμN-NH₄/g/h, en los siguientes días fue disminuyendo la concentración para finalizar con 0.4 ± 0.3 mμN-NH₄/g/h. El día 4 (5.90 ± 4.46 mμN-NH₄/g/h) fue significativamente mayor a los otros 7 días.

El tratamiento 3 (Figura 22c), la tasa de excreción al inicio del primer día fue de 7.0 ± 1.4 mμN-NH₄/g/h, observándose un incremento significativo en el quinto día 12.4 ± 1.3 mμN-NH₄/g/h, las variaciones en los siguientes días fueron significativamente menores para finalizar con un valor de la tasa de excreción

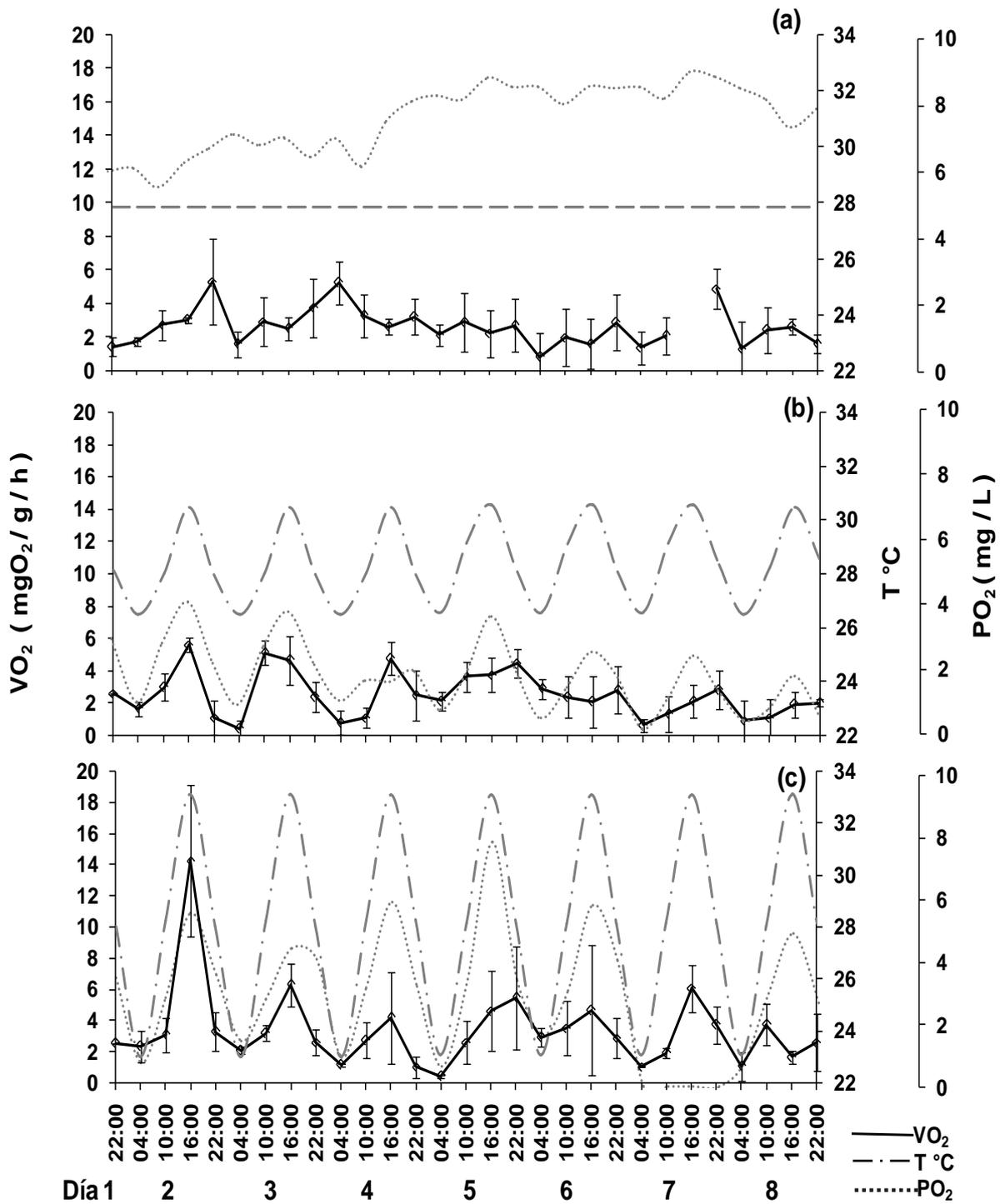


Figura 21. Tasa Respiratoria (TR) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno. (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 3.

de 0.4 ± 0.4 $\mu\text{N-NH}_4/\text{g/h}$ significativamente menor ($p < 0.05$) al primer día. El día 5 (7.01 ± 4.89 $\mu\text{N-NH}_4/\text{g/h}$) fue mayor significativamente que los otros 7 días e igual al primer día del tratamiento.

En el tratamiento 1 y 3, se observó una correlación significativa entre la concentración de oxígeno y la tasa de excreción, de -0.4 y 0.22 respectivamente, en el tratamientos 2, no fue significativa y presentó una correlación de 0.05.

VII.3.6. Relación O:N

En la Figura 23, se muestra la variación promedio de la relación de oxígeno nitrógeno (O:N). Los resultados entre los tratamientos no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$), sin embargo entre los días de cada tratamiento existe diferencia significativa en el tratamiento 2 ($p < 0.05$).

En el tratamiento 1 (Figura 23a) la relación O:N en al inicio del primer día fue de 0.1 ± 0.1 , se observa un gran incremento en el día 7 a 51.5 ± 50.4 , para finalizar con el mismo valor del primer día.

En el tratamiento 2 (Figura 23b), la relación O:N promedio fue de 0.2 ± 0.1 , al inicio de la fase experimental, la cual se incrementa significativamente al finalizar con 28.1 ± 24.3 . El día 8 (16.08 ± 17.17) fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que los demás días.

El tratamiento 3 (Figura 23c), la relación O:N al inicio de la fase experimental fue de $3.9.0 \pm 0.7$, observándose un incremento en los días 3, 6 y 7, en el último día del tratamiento se incrementó a 17.1 ± 29.3 .

No se observó una correlación significativa entre la concentración del oxígeno y la relación O:N, de 0.13 para el tratamiento 1, de 0.14 para el tratamiento 2 y de 0.02 para el tratamiento 3.

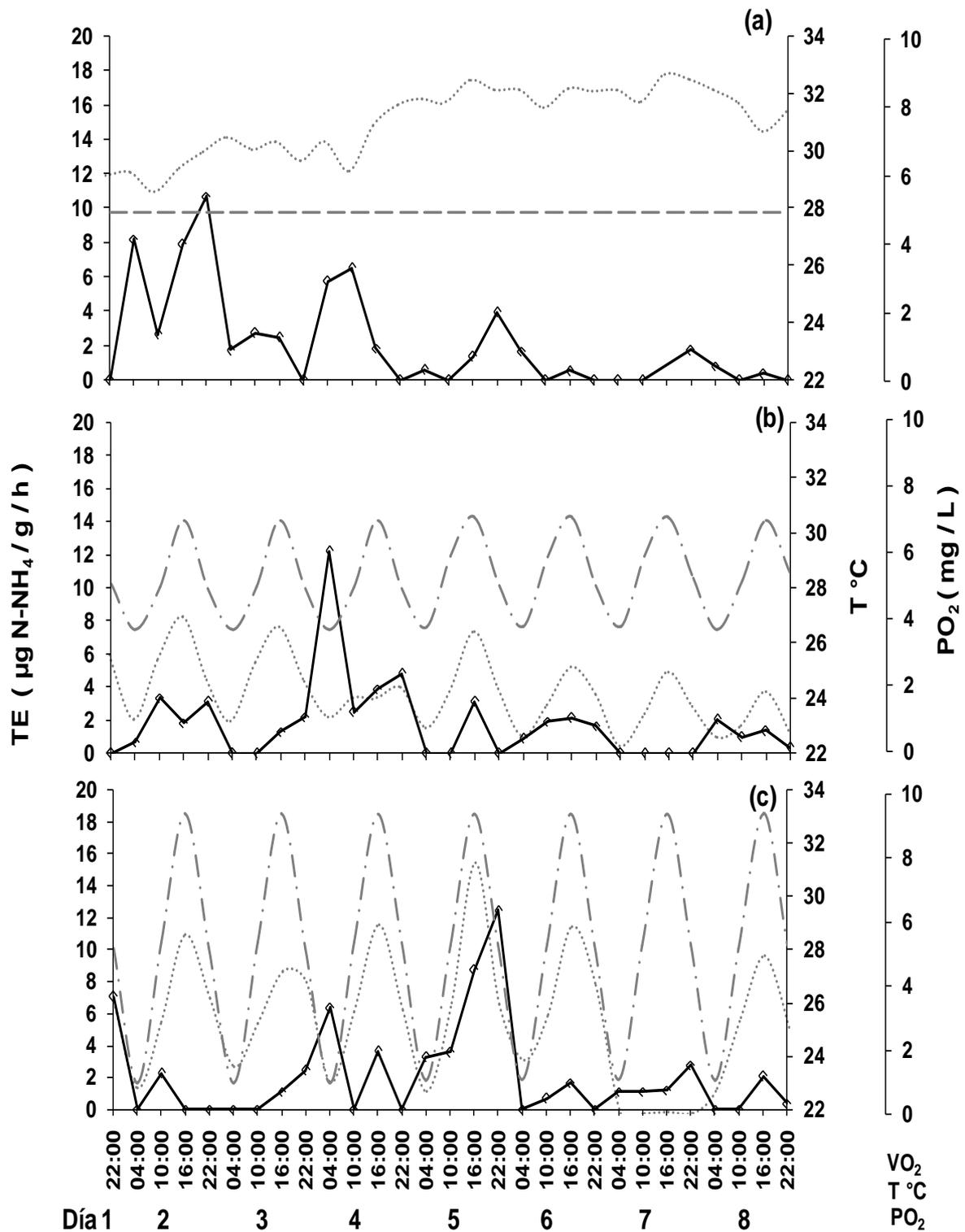


Figura 22. Tasa de Excreción (TE) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante los días de oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO_2). (a) Tratamiento 1, control (28°C y $8 \pm 0.7 \text{mg/L}$). (b) Tratamiento 2, ($26\text{-}30^\circ\text{C}$ y $3\text{-}5 \text{mg/L}$). (c) Tratamiento 3, ($23\text{-}33^\circ\text{C}$ y $1\text{-}7.5 \text{mg/L}$). Media \pm desviación estándar, $n = 3$

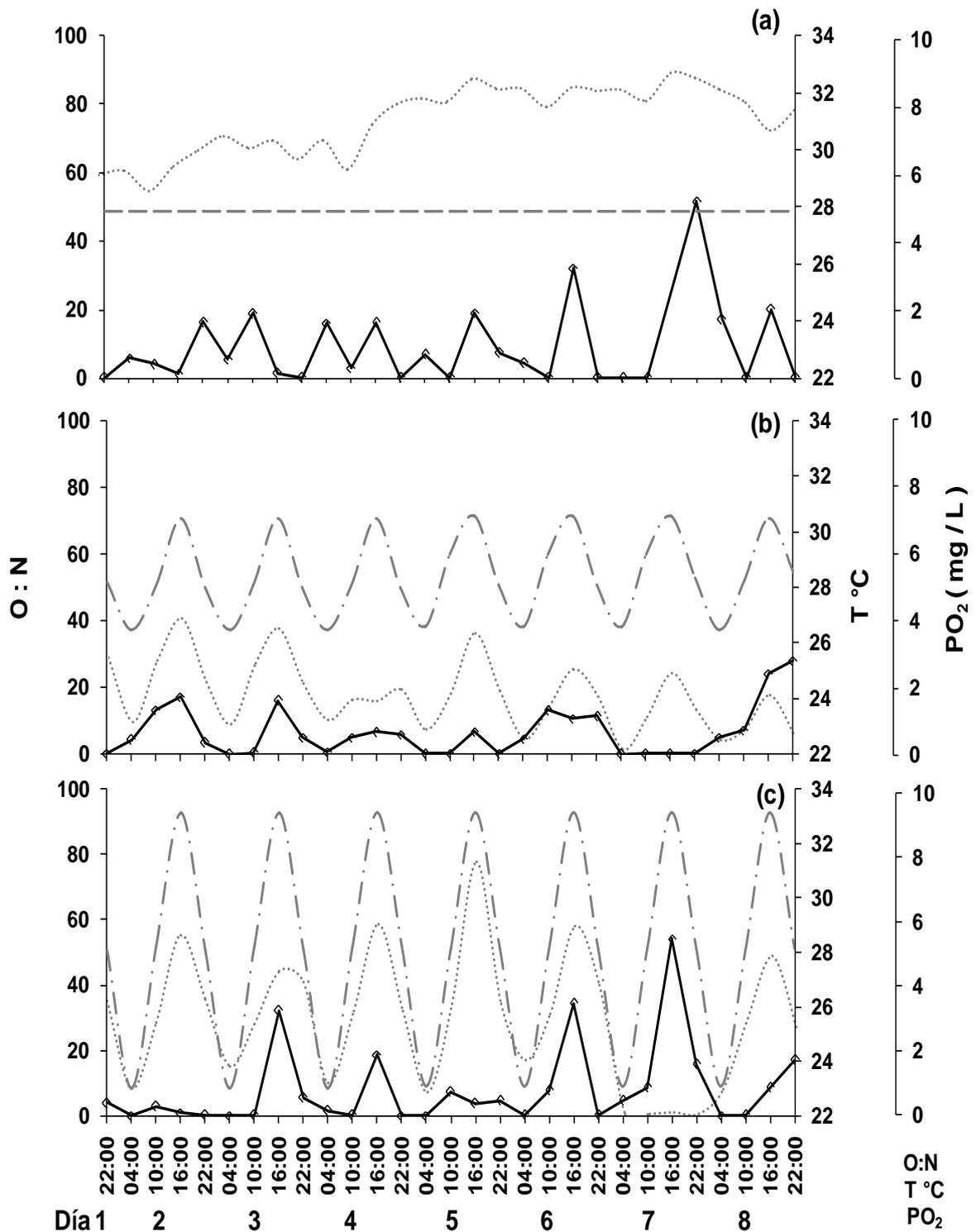


Figura 23. Relación O:N (TE) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante los días de oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L). (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L). (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). No hay diferencias significativas ($p > 0.05$). Media ± desviación estándar, $n = 3$.

VII.3.7. Balance Energético

En la Figura 24 y Tabla 8, se muestra la variación promedio del balance energético. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos y días. Sin embargo, se observa una tendencia a aumentar el balance energético. En el tratamiento 1 (Figura 24a), al inicio del primer día fue de 4 ± 29.1 J/g/h, la cual se incrementa al final del tratamiento a 36.3 ± 3.0 J/g/h. El balance energético general fue de 131 J/g/h.

En el tratamiento 2 (Figura 24b), el balance energético promedio al inicio de la fase experimental fue de -8.5 ± 23.1 J/g/h, se observa un incremento progresivo, obteniéndose un valor de 34.4 ± 2.1 J/g/h al final de la fase experimental. El balance energético general fue de 205 J/g/h.

En el tratamiento 3 (Figura 24c), el balance energético en el primer día fue de -13.3 ± 15.0 J/g/h, observándose un incremento en los siguientes días para finalizar con 4.1 ± 27.3 J/g/h. El balance energético general fue de 168 J/g/h.

Nos se observaron diferencias significativas en la correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y balance energético para los tratamientos.

Tabla 8. Balance Energético (J/g/h) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno. (T1) Tratamiento 1, (T2) Tratamiento 2; (T3) Tratamiento 3; (BE) Balance energético. Los valores son la media \pm desviación estándar, $n = 3$.

Día	Hora	T1	T2	T3
1	22:00	4.6 \pm 29.1	-8.5 \pm 23.1	-13.3 \pm 15.0
2	10:00	1.9 \pm 20.6	-13.2 \pm 28.0	4.8 \pm 6.8
2	22:00	-40.5 \pm 38.6	22.2 \pm 23.1	-3.1 \pm 20.1
3	10:00	27.8 \pm 26.5	-8.2 \pm 8.5	0.3 \pm 11.7
3	22:00	-12.4 \pm 29.3	7.2 \pm 22.3	0.1 \pm 32.6
4	10:00	1.0 \pm 22.3	32.3 \pm 17.9	18.4 \pm 43.2
4	22:00	-18.4 \pm 23.5	-4.9 \pm 33.5	37.1 \pm 5.6
5	10:00	1.7 \pm 44.5	-20.4 \pm 28.5	36.9 \pm 53.2
5	22:00	12.4 \pm 21.9	-11.5 \pm 21.1	-20.5 \pm 38.7
6	10:00	24.9 \pm 26.1	21.4 \pm 28.0	23.3 \pm 17.7
6	22:00	19.9 \pm 28.4	33.6 \pm 26.0	19.1 \pm 12.9
7	10:00	43.3 \pm 0.0	49.8 \pm 21.3	44.0 \pm 10.1
7	22:00	-1.4 \pm 26.1	27.9 \pm 22.9	21.7 \pm 16.1
8	10:00	29.3 \pm 32.5	43.1 \pm 16.2	-4.7 \pm 19.1
8	22:00	36.3 \pm 13.0	34.4 \pm 2.1	4.1 \pm 27.3
BE		131	205	168

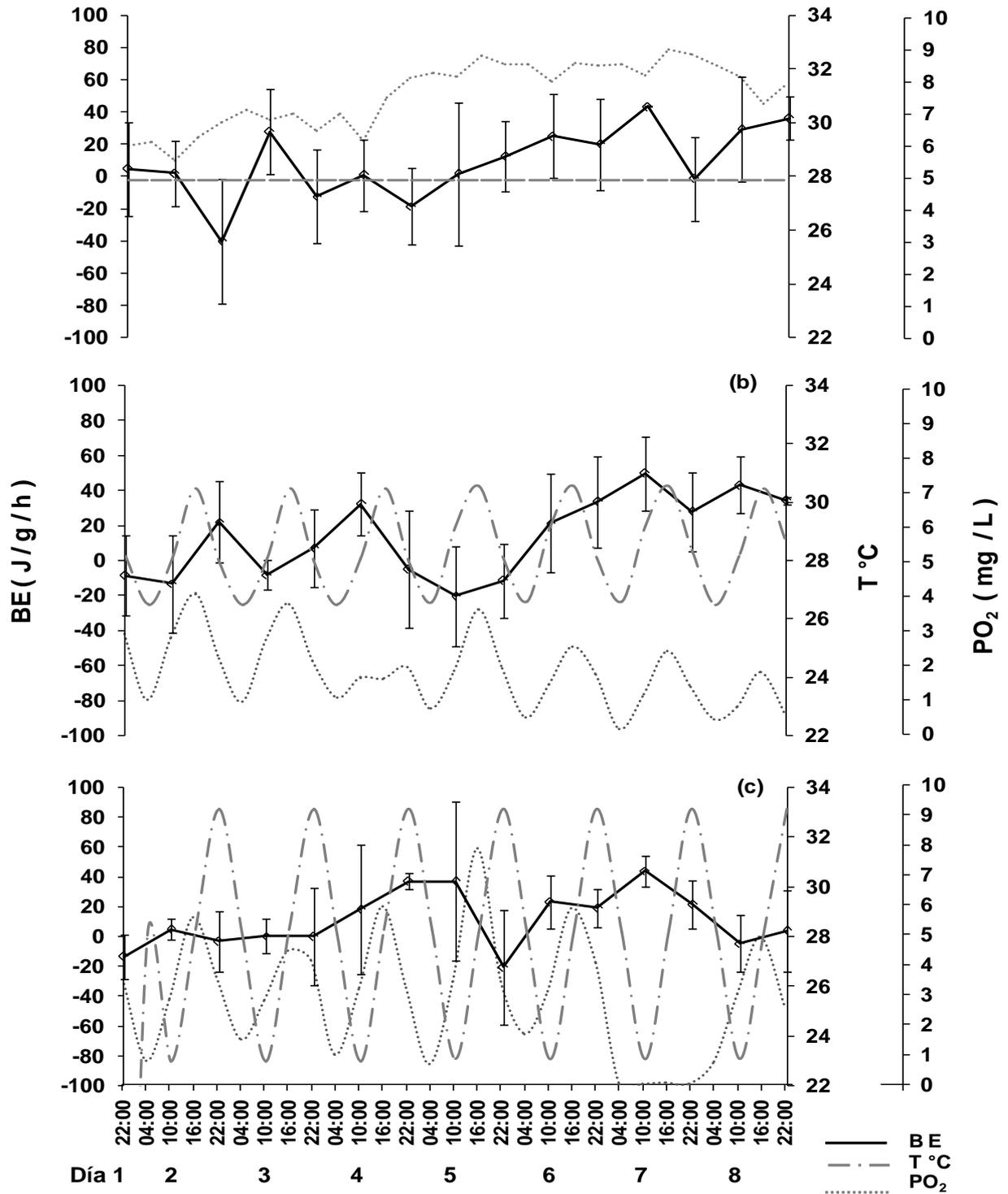


Figura 24. Balance Energético (BE) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante los días de oscilación de la temperatura y oxígeno. (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). No hay diferencias significativas ($p>0.05$) entre tratamientos. Media \pm desviación estándar, $n = 3$.

VII.4. Composición Bioquímica

En la Tabla 9, se muestran los promedios por tratamiento de los diferentes componentes bioquímicos en los tejidos de hemolinfa, hepatopáncreas y músculo, en los juveniles de camarón blanco *L. vannamei*, expuestos a condiciones oscilantes de temperatura y concentración de oxígeno. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos en los componentes bioquímicos de la hemolinfa. Sin embargo, se puede observar que en el tratamiento 3, los promedios en la concentración de carbohidratos, proteínas totales, lípidos totales, glucosa y colesterol son más elevados que en los tratamientos 1 y 2.

En hepatopáncreas se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamiento. Los carbohidratos y proteínas totales fueron significativamente menores en el tratamiento 3. La concentración en los lípidos totales y los triglicéridos fueron significativamente mayores en los tratamientos 2 y 3. La concentración de la glucosa en hepatopáncreas en el tratamiento 3 se incrementa significativamente en contraste con los tratamientos 1 y 2. El colesterol y el glucógeno no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos en este tejido.

Los componentes bioquímicos en el músculo presentaron diferencias significativas entre tratamientos en proteínas totales, glucosa, triglicéridos y colesterol. En el tratamiento 2 las proteínas fueron significativamente menores que en el tratamiento 1 y 3. Las concentraciones de la glucosa y triglicéridos son significativamente menores en los tratamientos 2 y 3. Los niveles del colesterol fueron significativamente mayores en el tratamiento 3.

Tabla 9. Componentes bioquímicos media (\pm D.E.) en hemolinfa, hepatopáncreas y músculo en los tratamientos de oscilación del oxígeno y temperatura durante 7 días en juveniles de camarón *L. vannamei*.

Componentes Bioquímicos	Media		
	T1	T2	T3
<i>Tejido Hemolinfa (mg ml⁻¹)</i>			
Carbohidratos	0.59 \pm 0.17	0.59 \pm 0.18	0.70 \pm 0.21
ProteínasTotales	100.86 \pm 6.92	99.00 \pm 9.28	103.06 \pm 4.89
Lípidos Totales	2.41 \pm 0.59	2.37 \pm 0.60	2.44 \pm 0.82
Lactato	0.16 \pm 0.04	0.20 \pm 0.08	0.17 \pm 0.07
Glucosa	0.07 \pm 0.03	0.08 \pm 0.03	0.09 \pm 0.04
Triglicéridos	0.67 \pm 0.12	0.64 \pm 0.16	0.66 \pm 0.18
Colesterol	0.19 \pm 0.04	0.22 \pm 0.06	0.24 \pm 0.08
<i>Hepatopáncreas (mg g⁻¹)</i>			
Carbohidratos	58.17 ^a \pm 16.37	54.39 ^{ab} \pm 19.51	52.77 ^b \pm 15.89
ProteínasTotales	180.59 ^a \pm 32.10	174.37 ^{ab} \pm 34.88	169.93 ^b \pm 27.99
Lípidos Totales	200.13 ^a \pm 82.67	220.87 ^b \pm 91.78	209.53 ^b \pm 80.31
Glucosa	10.35 ^{ab} \pm 4.06	9.45 ^a \pm 4.27	10.64 ^b \pm 5.86
Triglicéridos	34.83 ^a \pm 9.19	42.32 ^b \pm 10.37	42.25 ^b \pm 10.09
Colesterol	1.62 \pm 1.18	1.44 \pm 0.99	1.30 \pm 0.41
Glucogéno	24.93 \pm 7.03	24.12 \pm 6.14	23.87 \pm 6.85
<i>Músculo (mg g⁻¹)</i>			
Carbohidratos	84.58 \pm 27.67	87.36 \pm 22.51	88.96 \pm 19.89
ProteínasTotales	791.60 ^a \pm 116.66	746.18 ^b \pm 150.68	774.86 ^{ab} \pm 143.54
Lípidos Totales	45.29 \pm 19.42	41.68 \pm 16.64	44.06 \pm 23.71
Lactato	4.94 \pm 1.36	5.16 \pm 1.47	4.87 \pm 1.38
Glucosa	31.41 ^a \pm 6.27	28.52 ^b \pm 6.74	28.49 ^b \pm 7.15
Triglicéridos	15.78 ^a \pm 2.55	14.91 ^{ab} \pm 2.46	14.87 ^b \pm 3.36
Colesterol	18.07 ^{ab} \pm 3.65	17.50 ^a \pm 3.61	18.98 ^b \pm 3.89
Glucogéno	11.91 \pm 7.33	10.67 \pm 7.53	10.53 \pm 7.85

Valores con letras diferentes indican diferencias entre tratamientos ($p < 0.05$)

Valores sin letras no hay diferencias significativas ($p > 0.05$).

VII.4.1. Hemolinfa

En la Tabla 10, se muestran los promedios por día de los diferentes componentes bioquímicos en la hemolinfa, en los juveniles de camarón blanco *L. vannamei*, expuestos a condiciones oscilantes de temperatura y concentración de oxígeno.

En el tratamiento 1 las proteínas totales y los lípidos totales presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Como se puede observar las proteínas disminuyen en el día 2 para incrementarse significativamente en el día 3. Por el contrario los lípidos totales disminuyen significativamente para el día 3.

En el tratamiento 2, se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en las proteínas totales, los lípidos totales y los triglicéridos entre los días de la fase experimental. Se puede observar que las proteínas y los triglicéridos se incrementaron significativamente para el día 3, en tanto los lípidos decrecieron para el mismo día.

En el tratamiento 3, los lípidos totales, triglicéridos y colesterol presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Sin embargo se puede observar que los carbohidratos tienden a incrementarse al finalizar la fase experimental en el día 3. En los lípidos totales se puede observar que disminuyen significativamente para el día 2 y 3. Los triglicéridos y el colesterol es significativamente menor en el día 2 de la fase experimental.

Tabla 10. Bioquímica de la Hemolinfa (mg/L) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno. (T) Tratamiento; (D) Día de toma de muestras. Los valores son la media \pm desviación estándar, n = 6.

Componentes Bioquímicos	Tratamientos					
	T1		T2		T3	
	D1	D2	D1	D2	D1	D2
<i>Tejido Hemolinfa (mg ml⁻¹)</i>						
Carbohidratos	0.56 \pm 0.14	0.64 \pm 0.25	0.56 \pm 0.13			
Proteínas Totales	100.18 ^{ab} \pm 3.00	95.32 ^a \pm 6.21	107.07 ^b \pm 4.60			
Lípidos Totales	2.84 ^a \pm 0.31	2.61 ^a \pm 0.59	1.79 ^b \pm 0.23			
Lactato	0.18 \pm 0.04	0.17 \pm 0.05	0.13 \pm 0.03			
Glucosa	0.07 \pm 0.01	0.08 \pm 0.05	0.06 \pm 0.01			
Triglicéridos	0.71 \pm 0.10	0.59 \pm 0.13	0.70 \pm 0.10			
Colesterol	0.22 \pm 0.04	0.17 \pm 0.05	0.18 \pm 0.01			
<i>Tejido Hemolinfa (mg ml⁻¹)</i>						
Carbohidratos	0.52 \pm 0.10	0.61 \pm 0.24	0.65 \pm 0.19			
Proteínas Totales	91.31 ^a \pm 10.1	97.61 ^{ab} \pm 4.00	108.1 ^b \pm 2.52			
Lípidos Totales	2.86 ^a \pm 0.60	2.27 ^{ab} \pm 0.52	1.99 ^b \pm 0.37			
Lactato	0.20 \pm 0.07	0.20 \pm 0.10	0.22 \pm 0.08			
Glucosa	0.07 \pm 0.03	0.09 \pm 0.05	0.07 \pm 0.02			
Triglicéridos	0.66 ^{ab} \pm 0.17	0.51 ^a \pm 0.12	0.75 ^b \pm 0.13			
Colesterol	0.24 \pm 0.06	0.19 \pm 0.03	0.23 \pm 0.08			
<i>Tejido Hemolinfa (mg ml⁻¹)</i>						
Carbohidratos	0.61 \pm 0.22	0.70 \pm 0.21	0.79 \pm 0.19			
Proteínas Totales	105.93 \pm 1.71	99.71 \pm 6.69	103.54 \pm 2.76			
Lípidos Totales	3.36 ^a \pm 0.56	1.96 ^b \pm 0.67	2.01 ^b \pm 0.23			
Lactato	0.17 \pm 0.06	0.12 \pm 0.05	0.21 \pm 0.09			
Glucosa	0.08 \pm 0.03	0.09 \pm 0.05	0.10 \pm 0.04			
Triglicéridos	0.77 ^a \pm 0.13	0.46 ^b \pm 0.13	0.74 ^a \pm 0.11			
Colesterol	0.32 ^a \pm 0.07	0.16 ^b \pm 0.05	0.23 ^{ab} \pm 0.04			

Valores con letras diferentes indican diferencias entre días de tratamiento ($p < 0.05$).
Valores sin letras no hay diferencias significativas ($p > 0.05$).

VII.4.2. Hepatopáncreas

En la Tabla 11, se muestran los promedios por día de muestreo de la fase experimental de los componentes bioquímicos, en hepatopáncreas de los juveniles de camarón blanco *L. vannamei*, expuestos a condiciones oscilantes de temperatura y concentración de oxígeno.

La concentración de los carbohidratos en los tres tratamientos, se incremento significativamente ($p < 0.05$) para el día 3, y no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el día 1 y 2.

Las proteínas totales en los tratamientos 2 y 3, se incrementaron significativamente ($p < 0.05$) en el día 3, y no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el día 1 y 2.

La concentración de los lípidos totales fue significativamente menor ($p < 0.05$), en el día 2 en los tratamientos 2 y 3.

La glucosa en el tratamiento 1 y 2, disminuyo significativamente ($p < 0.05$), para el día 2 y se incremento significativamente para el día 3 presentando los valores promedios más elevados. En el tratamiento 3, se puede observar como la concentración de los carbohidratos se incremento significativamente durante los 3 días, cabe señalar que la concentración final fue de 17.41 mg/g el valor más alto de los tratamientos.

Los triglicéridos en el tratamiento 2 y 3, presento un patrón similar al tratamiento 1, al disminuir significativamente ($p < 0.05$), en el día 2, e incrementar la concentración para el día 3.

El colesterol del tratamiento 1 y 2, se incremento significativamente ($p < 0.05$) para el día 3. No hubo diferencias en el tratamiento 3.

La concentración del glucógeno en el tratamiento 1 y 3, se incremento significativamente ($p < 0.05$), en los días 2 y 3, y no hubo diferencias entre esto dos días. En el tratamiento 2 no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los días.

Tabla 11. Bioquímica en el Hepatopáncreas (mg g^{-1}) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno. (T) Tratamiento; (D) Día de toma de muestras. Los valores son la media \pm desviación estándar, $n = 6$.

Componentes Bioquímicos	Tratamientos		
	T1		
	D1	D2	D3
<i>Tejido Hepatopáncreas (mg g^{-1})</i>			
Carbohidratos	51.88 ^a \pm 10.18	53.43 ^a \pm 15.63	69.18 ^b \pm 17.08
Proteínas Totales	174.81 \pm 23.06	173.33 \pm 20.72	193.62 \pm 44.36
Lípidos Totales	260.26 \pm 85.19	138.98 \pm 72.07	201.15 \pm 32.03
Glucosa	10.70 ^a \pm 4.70	7.40 ^b \pm 2.44	12.90 ^c \pm 2.56
Triglicéridos	39.64 ^a \pm 7.95	27.06 ^b \pm 7.63	37.80 ^a \pm 6.64
Colesterol	0.94 ^a \pm 0.27	1.95 ^b \pm 1.81	1.97 ^b \pm 0.47
Glucogéno	18.84 ^a \pm 4.11	28.95 ^b \pm 7.30	26.99 ^b \pm 4.76
T2			
	D1	D2	D3
<i>Tejido Hepatopáncreas (mg g^{-1})</i>			
Carbohidratos	42.74 ^a \pm 11.17	49.21 ^a \pm 17.68	71.21 ^b \pm 16.61
Proteínas Totales	170.47 ^a \pm 17.4	159.07 ^a \pm 23.76	193.6 ^b \pm 47.54
Lípidos Totales	277.85 ^a \pm 98.72	175.87 ^b \pm 73.82	208.89 ^c \pm 72.53
Glucosa	7.79 ^a \pm 3.03	7.00 ^a \pm 2.42	13.55 ^b \pm 3.81
Triglicéridos	45.54 ^a \pm 10.92	34.25 ^b \pm 6.93	47.16 ^a \pm 7.89
Colesterol	0.99 ^a \pm 0.31	2.03 ^{ab} \pm 1.48	1.30 ^b \pm 0.40
Glucogéno	23.70 \pm 5.11	24.74 \pm 7.43	23.91 \pm 5.93
T3			
	D1	D2	D3
<i>Tejido Hepatopáncreas (mg g^{-1})</i>			
Carbohidratos	42.85 ^a \pm 11.17	49.56 ^a \pm 12.35	65.90 ^b \pm 14.52
Proteínas Totales	158.88 ^a \pm 16.49	165.92 ^a \pm 32.13	185.00 ^b \pm 27.27
Lípidos Totales	261.93 ^a \pm 86.89	144.27 ^b \pm 58.15	222.39 ^a \pm 39.37
Glucosa	6.35 ^a \pm 1.50	8.16 ^b \pm 2.62	17.41 ^c \pm 4.86
Triglicéridos	42.17 ^a \pm 9.43	34.89 ^b \pm 7.12	49.68 ^c \pm 7.84
Colesterol	1.22 \pm 0.25	1.27 \pm 0.58	1.41 \pm 0.31
Glucogéno	20.87 ^a \pm 6.07	26.56 ^b \pm 7.10	24.16 ^b \pm 6.42

Valores con letras diferentes indican diferencias entre días de tratamiento ($p < 0.05$).
Valores sin letras no hay diferencias significativas ($p > 0.05$).

VII.4.2.1. Carbohidratos

En la Figura 26 y Tabla 12, se muestra la variación por hora y día de las proteínas en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 25a y Tabla 12), se puede observar que el valor promedio de los carbohidratos al inicio del primer día fue de 49.36 ± 6.13 mg/g, se puede observar un incremento significativo para finalizar el tratamiento a 88.73 ± 9.10 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 25b), el valor promedio de los carbohidratos fue de 54.75 ± 16.03 mg/g al inicio de la fase experimental, posteriormente se observa también un incremento significativo para finalizar la fase experimental a 77.64 ± 6.72 mg/g.

En el tratamiento 3 (Figura 25c), el valor promedio de los carbohidratos en el primer día fue de 40.06 ± 7.57 mg/g, se puede observar un incremento significativo para finalizar el tratamiento a 61.21 ± 4.03 mg/g. Entre el primer y segundo día del tratamiento no se encontraron diferencias ($p > 0.05$), sin embargo el último día es significativamente mayor que los anteriores, ($p < 0.05$).

Nos se observaron diferencias significativas en la correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y los niveles de concentración de los carbohidratos en hepatopáncreas.

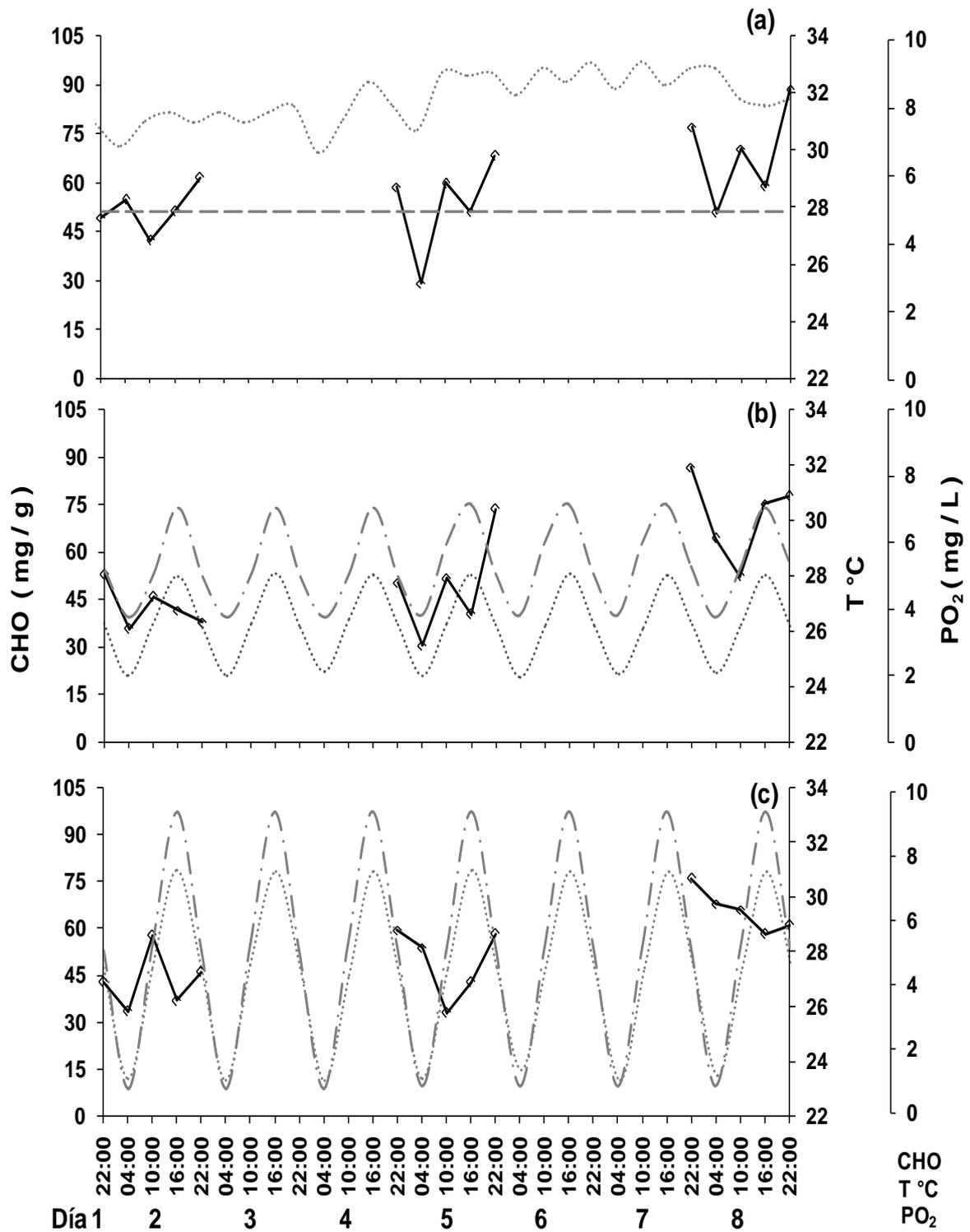


Figura 25. Niveles de carbohidratos (CHO) en hepatopáncreas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

Tabla 12. Bioquímica en el Hepatopáncreas (mg/g) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno. (T) Tratamiento; (D) Día de toma de muestras; (H) Hora; (CHO) Carbohidratos; (PT) Proteínas; (LT) Lípidos Totales; (GLU) Glucosa; (GCG) Glucógeno; (COL) Colesterol; (TG) Triglicéridos. Los valores son la media \pm desviación estándar, n = 6.

T	D	H	CHO	PT	LT	GLU	GCG	COL	TG
1	1	22:00	49.36 ^{bc} \pm 6.13	174.75 ^{ab} \pm 28.74	315.29 ^{de} \pm 29.21	8.89 ^{abc} \pm 2.29	18.71 ^{ab} \pm 4.85	1.09 ^{ab} \pm 0.33	35.68 ^{bcd} \pm 3.92
1	1	04:00	54.84 ^{bcd} \pm 1.02	182.25 ^{ab} \pm 15.48	190.23 ^{cd} \pm 43.48	14.68 ^c \pm 7.39	19.85 ^{abcd} \pm 5.84	0.90 ^{ab} \pm 0.24	42.84 ^{cd} \pm 5.14
1	1	10:00	42.29 ^{ab} \pm 7.01	168.11 ^{ab} \pm 21.71	380.67 ^e \pm 29.42	7.72 ^{abc} \pm 1.02	19.17 ^{abc} \pm 0.87	1.07 ^{ab} \pm 0.22	49.20 ^d \pm 1.30
1	1	16:00	51.39 ^{bcd} \pm 9.07	189.23 ^{ab} \pm 29.53	171.72 ^{cd} \pm 24.01	10.66 ^{bc} \pm 2.83	22.50 ^{bcd} \pm 3.40	0.90 ^{ab} \pm 0.22	38.68 ^{cd} \pm 10.23
1	1	22:00	61.52 ^{bode} \pm 14.79	159.70 ^a \pm 15.63	243.39 ^{cde} \pm 32.29	11.75 ^{bc} \pm 5.69	13.96 ^a \pm 1.55	0.73 ^a \pm 0.27	31.77 ^{abcd} \pm 3.43
1	3	22:00	58.70 ^{bode} \pm 8.52	170.95 ^{ab} \pm 23.20	151.14 ^{bc} \pm 29.72	4.86 ^a \pm 1.01	30.82 ^{de} \pm 3.66	3.32 ^b \pm 2.80	20.32 ^a \pm 2.44
1	3	04:00	29.23 ^a \pm 7.14	175.93 ^{ab} \pm 9.53	63.21 ^a \pm 17.12	8.27 ^{abc} \pm 2.41	20.12 ^{abcd} \pm 3.44	2.68 ^b \pm 2.73	27.95 ^{abc} \pm 5.61
1	3	10:00	59.95 ^{bode} \pm 7.78	195.86 ^{ab} \pm 11.09	161.03 ^{bc} \pm 90.66	7.23 ^{abc} \pm 1.81	29.04 ^{bode} \pm 4.96	1.38 ^{ab} \pm 0.28	28.56 ^{abc} \pm 3.91
1	3	16:00	51.08 ^{bod} \pm 11.23	157.09 ^{ab} \pm 20.37	93.09 ^{ab} \pm 43.76	6.05 ^{ab} \pm 0.34	27.68 ^{bode} \pm 7.49	1.24 ^{ab} \pm 0.38	23.18 ^{ab} \pm 8.64
1	3	22:00	68.20 ^{cde} \pm 8.08	166.83 ^{ab} \pm 21.23	226.43 ^{cde} \pm 9.12	10.44 ^{bc} \pm 1.75	37.07 ^e \pm 5.74	1.12 ^{ab} \pm 0.21	35.30 ^{bcd} \pm 8.11
1	7	22:00	77.09 ^{de} \pm 8.38	208.24 ^{ab} \pm 22.78	169.46 ^{cd} \pm 21.02	13.08 ^c \pm 3.40	27.72 ^{bode} \pm 2.96	2.31 ^b \pm 0.62	32.73 ^{abcd} \pm 9.01
1	7	04:00	50.86 ^{bod} \pm 6.89	157.97 ^a \pm 36.34	230.54 ^{cde} \pm 16.92	13.46 ^c \pm 1.45	25.03 ^{bode} \pm 2.41	1.48 ^{ab} \pm 0.19	42.63 ^{cd} \pm 7.05
1	7	10:00	70.38 ^{cde} \pm 19.78	236.05 ^b \pm 26.21	181.78 ^{cd} \pm 28.66	12.17 ^{bc} \pm 2.47	30.83 ^{cde} \pm 4.53	1.89 ^{ab} \pm 0.37	37.67 ^{cd} \pm 2.52
1	7	16:00	58.86 ^{bode} \pm 8.45	213.73 ^a \pm 37.48	197.75 ^{cde} \pm 19.75	12.59 ^{bc} \pm 4.31	26.75 ^{bode} \pm 5.33	2.39 ^b \pm 0.21	41.72 ^{cd} \pm 4.24
1	7	22:00	88.73 ^e \pm 9.10	152.13 ^a \pm 36.33	226.24 ^{cde} \pm 26.71	13.36 ^c \pm 1.27	24.64 ^{bode} \pm 6.85	1.81 ^{ab} \pm 0.18	34.23 ^{bcd} \pm 4.64
2	1	22:00	52.75 ^{abcde} \pm 16.03	155.15 ^a \pm 18.44	325.48 ^e \pm 61.34	7.02 ^{abcd} \pm 0.44	22.20 ^{ab} \pm 7.10	0.83 ^a \pm 0.20	36.35 ^{abc} \pm 9.84
2	1	04:00	35.65 ^{ab} \pm 10.69	176.12 ^{abc} \pm 13.23	143.51 ^{bc} \pm 18.74	6.72 ^{abc} \pm 0.94	22.36 ^{ab} \pm 1.48	0.82 ^a \pm 0.10	55.47 ^c \pm 12.34
2	1	10:00	45.92 ^{abcd} \pm 10.31	179.65 ^{abc} \pm 18.92	347.46 ^e \pm 71.34	13.33 ^{ef} \pm 0.83	23.41 ^{ab} \pm 5.53	1.35 ^{ab} \pm 0.20	44.14 ^{abc} \pm 11.99
2	1	16:00	41.56 ^{abc} \pm 5.65	164.08 ^{ab} \pm 19.83	237.66 ^{cde} \pm 103.23	6.60 ^{abc} \pm 1.50	30.16 ^b \pm 1.34	1.21 ^{ab} \pm 0.32	46.95 ^{bc} \pm 2.03
2	1	22:00	37.85 ^{abc} \pm 5.70	177.37 ^{abc} \pm 8.03	335.14 ^e \pm 42.27	5.28 ^a \pm 0.89	20.39 ^b \pm 2.14	0.73 ^a \pm 0.05	44.77 ^{abc} \pm 10.38
2	3	22:00	50.23 ^{abcde} \pm 9.12	143.40 ^a \pm 6.23	238.72 ^{cde} \pm 21.85	6.76 ^{abc} \pm 0.91	31.11 ^b \pm 5.83	3.02 ^b \pm 0.50	40.19 ^{abc} \pm 4.60
2	3	04:00	30.41 ^a \pm 8.95	152.28 ^a \pm 16.84	62.24 ^a \pm 31.54	4.72 ^a \pm 0.77	16.44 ^a \pm 5.93	2.98 ^{ab} \pm 2.73	29.40 ^a \pm 7.90
2	3	10:00	51.51 ^{abcde} \pm 16.25	188.46 ^{abc} \pm 16.37	219.22 ^{cde} \pm 53.26	10.37 ^{cde} \pm 3.00	24.92 ^{ab} \pm 6.16	1.32 ^{ab} \pm 0.41	33.27 ^{ab} \pm 7.94
2	3	16:00	40.41 ^{abc} \pm 9.37	136.26 ^a \pm 13.94	157.69 ^{cd} \pm 60.38	7.12 ^{abcd} \pm 0.72	21.89 ^{ab} \pm 5.77	2.04 ^{ab} \pm 0.85	35.96 ^{abc} \pm 3.73
2	3	22:00	73.49 ^{de} \pm 9.71	174.95 ^{abc} \pm 14.80	201.51 ^{cde} \pm 15.79	6.04 ^{ab} \pm 1.68	29.33 ^{ab} \pm 4.92	0.80 ^a \pm 0.16	32.42 ^{ab} \pm 7.47
2	7	22:00	86.64 ^e \pm 17.14	154.27 ^a \pm 2.29	218.54 ^{cde} \pm 5.24	12.86 ^{ef} \pm 0.73	26.45 ^{ab} \pm 7.80	1.28 ^{ab} \pm 0.39	49.65 ^{bc} \pm 2.23
2	7	04:00	64.22 ^{cde} \pm 19.18	228.24 ^{bc} \pm 32.80	238.83 ^{cde} \pm 20.19	11.19 ^{def} \pm 2.02	22.74 ^{ab} \pm 3.37	1.04 ^a \pm 0.58	35.23 ^{abc} \pm 3.84
2	7	10:00	52.40 ^{bode} \pm 6.65	167.54 ^a \pm 61.67	281.31 ^d \pm 15.85	17.51 ^f \pm 2.61	18.58 ^{ab} \pm 3.74	1.48 ^{ab} \pm 0.36	53.04 ^c \pm 7.69
2	7	16:00	75.13 ^{de} \pm 8.17	234.16 ^c \pm 47.63	78.90 ^{ab} \pm 17.76	9.64 ^{bode} \pm 3.72	24.21 ^{ab} \pm 8.10	1.32 ^{ab} \pm 0.41	45.38 ^{abc} \pm 3.56
2	7	22:00	77.64 ^{de} \pm 6.72	183.54 ^{abc} \pm 16.37	226.89 ^{cde} \pm 32.26	16.55 ^f \pm 2.30	27.58 ^{ab} \pm 2.07	1.39 ^{ab} \pm 0.30	52.50 ^c \pm 4.03
3	1	22:00	40.06 ^{abc} \pm 7.57	160.31 ^{ab} \pm 14.60	295.07 ^c \pm 57.08	5.48 ^a \pm 0.89	27.84 ^{de} \pm 4.80	1.00 ^a \pm 0.09	34.02 ^{abc} \pm 2.92
3	1	04:00	33.47 ^a \pm 1.91	139.04 ^a \pm 11.96	309.99 ^c \pm 50.51	6.37 ^a \pm 0.98	16.18 ^{ab} \pm 2.28	1.20 ^a \pm 0.31	39.55 ^{abcde} \pm 4.90
3	1	10:00	57.73 ^{bode} \pm 11.91	160.17 ^{ab} \pm 15.26	265.10 ^c \pm 122.77	7.93 ^{ab} \pm 2.65	23.82 ^{abcde} \pm 5.85	1.44 ^a \pm 0.22	38.08 ^{abcd} \pm 6.44
3	1	16:00	36.98 ^{ab} \pm 2.70	170.28 ^{ab} \pm 11.52	250.65 ^c \pm 121.45	6.35 ^a \pm 0.72	21.30 ^{abcde} \pm 0.66	1.39 ^a \pm 0.16	56.50 ^{de} \pm 2.72
3	1	22:00	46.05 ^{abcd} \pm 9.86	164.62 ^{ab} \pm 15.90	188.84 ^{bc} \pm 18.24	5.63 ^a \pm 0.11	15.23 ^a \pm 4.69	1.08 ^a \pm 0.14	42.72 ^{abcde} \pm 9.35
3	3	22:00	59.49 ^{bode} \pm 7.84	160.02 ^{ab} \pm 30.72	180.55 ^{bc} \pm 16.17	6.17 ^a \pm 1.60	33.54 ^e \pm 0.88	0.91 ^a \pm 0.44	30.23 ^a \pm 3.70
3	3	04:00	53.88 ^{bode} \pm 6.45	191.85 ^{ab} \pm 34.27	92.43 ^a \pm 37.87	7.50 ^{ab} \pm 1.88	22.59 ^{abcde} \pm 1.52	1.51 ^a \pm 1.09	32.33 ^{ab} \pm 7.97
3	3	10:00	33.14 ^a \pm 7.36	153.17 ^a \pm 37.07	116.44 ^{ab} \pm 29.98	7.83 ^{ab} \pm 1.94	17.74 ^{abcd} \pm 4.32	1.16 ^a \pm 0.36	37.17 ^{abc} \pm 4.82
3	3	16:00	42.90 ^{abcd} \pm 4.72	144.11 ^a \pm 12.20	106.20 ^{ab} \pm 31.31	8.94 ^{abc} \pm 2.08	26.72 ^{cde} \pm 5.35	1.47 ^a \pm 0.39	41.48 ^{abcde} \pm 10.57
3	3	22:00	58.40 ^{bode} \pm 10.38	180.44 ^{ab} \pm 28.69	225.72 ^c \pm 26.37	10.35 ^{abc} \pm 4.00	32.24 ^e \pm 6.03	1.31 ^a \pm 0.44	33.24 ^{abc} \pm 1.74
3	7	22:00	76.08 ^e \pm 20.03	164.63 ^{ab} \pm 3.64	176.49 ^{bc} \pm 31.39	20.46 ^d \pm 2.79	32.77 ^e \pm 5.23	1.18 ^a \pm 0.21	47.26 ^{bode} \pm 7.29
3	7	04:00	67.91 ^{de} \pm 6.38	174.79 ^{ab} \pm 26.00	241.58 ^c \pm 30.30	20.82 ^d \pm 6.01	23.70 ^{bode} \pm 3.54	1.68 ^a \pm 0.22	49.59 ^{cde} \pm 7.42
3	7	10:00	66.01 ^{cde} \pm 21.25	211.79 ^b \pm 24.34	223.20 ^c \pm 21.94	11.86 ^{bcd} \pm 3.65	17.26 ^{abc} \pm 4.69	1.50 ^a \pm 0.11	43.61 ^{abcde} \pm 6.93
3	7	16:00	58.27 ^{bode} \pm 13.24	185.22 ^{ab} \pm 40.35	206.91 ^c \pm 37.10	14.35 ^{cd} \pm 1.09	21.57 ^{abcde} \pm 4.41	1.44 ^a \pm 0.45	58.61 ^e \pm 6.03
3	7	22:00	61.21 ^{cde} \pm 4.03	188.55 ^{ab} \pm 11.61	263.77 ^c \pm 12.44	19.58 ^d \pm 1.76	25.48 ^{bode} \pm 2.34	1.26 ^a \pm 0.27	49.34 ^{cde} \pm 5.77

Letras diferentes indican diferencias entre días y horas en cada tratamiento ($p < 0.05$).

VII.4.2.2. Proteínas Totales

En la Figura 26 y Tabla 12, se muestra la variación por hora y día de las proteínas en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 26a) el valor promedio de las proteínas en el primer día fue de 174.75 ± 28.74 mg/g, se puede observar que las proteínas disminuyen al final de la fase experimental a 152.13 ± 36.33 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 26b), el valor promedio de las proteínas fue de 155.15 ± 18.44 mg/g al inicio de la fase experimental, se puede observar que las proteínas se incrementan significativamente para finalizar la fase experimental con un valor promedio de 183.54 ± 16.37 mg/g.

En el tratamiento 3 (Figura 26c), el valor promedio de las proteínas en el primer día fue de 160.31 ± 14.60 mg/g, presentando una tendencia al incremento para finalizar en 188.55 ± 11.61 mg/g.

Nos se observaron diferencias significativas en la correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y los niveles de concentración de las proteínas en hepatopáncreas.

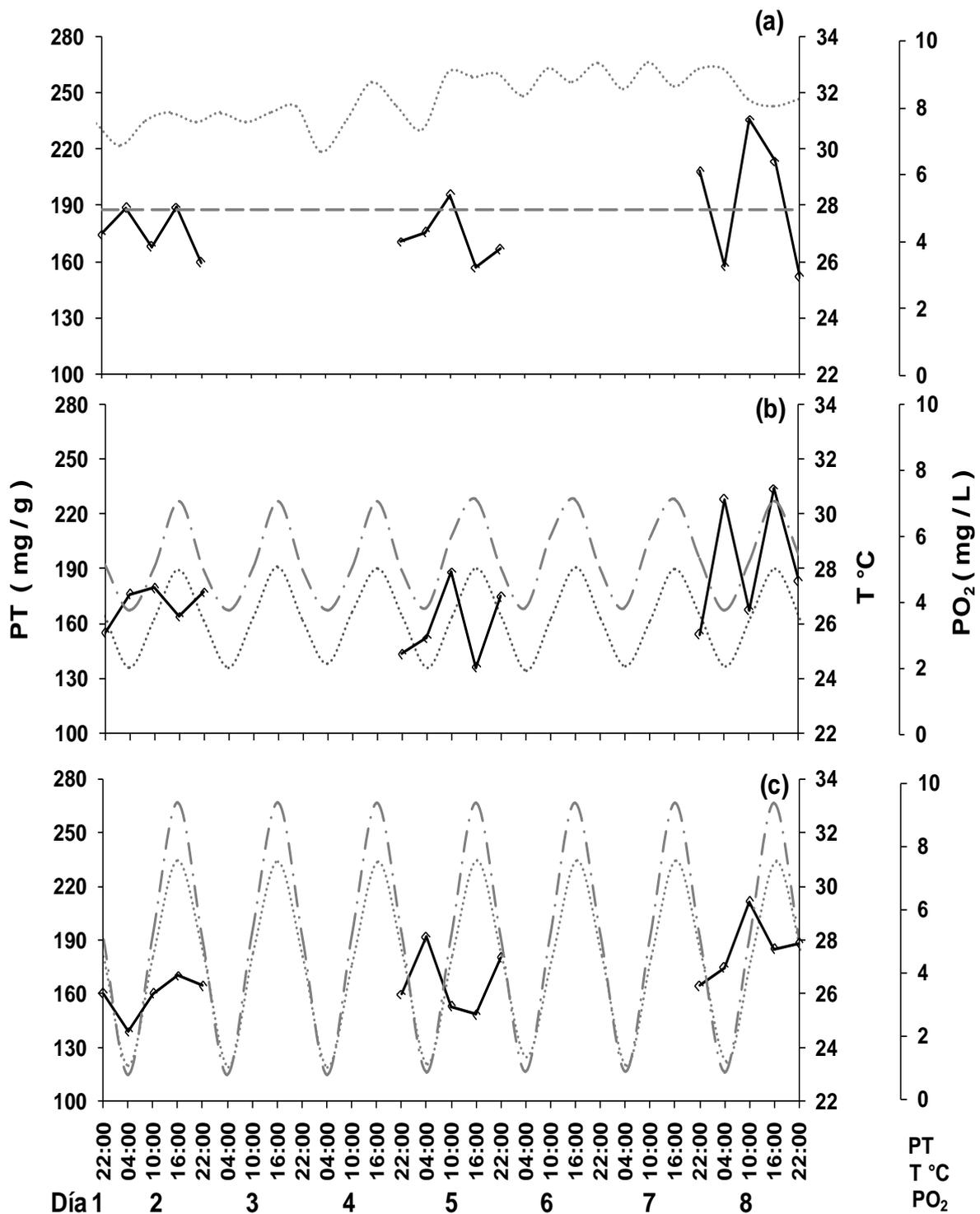


Figura 26. Niveles de proteínas (PT) en hepatopáncreas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.2.3. Lípidos Totales

En la Figura 27 y Tabla 12, se muestra la variación por hora y día de los lípidos en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 27a) el valor promedio de los lípidos al inicio del primer día fue de 315.29 ± 29.21 mg/g, se puede observar que los niveles disminuyen hacia finalizar la fase experimental, registrando un valor promedio de 226.24 ± 26.71 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 27b), el valor promedio de los lípidos fue de 325.48 ± 61.34 mg/g al inicio de la fase experimental, se puede observar como los niveles en la concentración de los lípidos van decreciendo hasta obtener un valor promedio de 226.89 ± 32.26 mg/g en el último día.

En el tratamiento 3 (Figura 27c), los niveles en la concentración de lípidos en hepatopáncreas al inicio del primer día presentaron valores promedios altos de 295.07 ± 57.08 mg/g, para observar posteriormente una disminución significativa en el quinto día a 92.43 ± 37.87 mg/g, para finalizar la fase experimental los niveles se incrementan a 263.77 ± 12.44 mg/g en el último día.

La correlación entre la concentración de oxígeno del agua y los lípidos en hepatopáncreas fue significativa para el tratamiento 1 de -0.4, sin embargo los otros dos tratamientos no hubo correlaciones significativas.

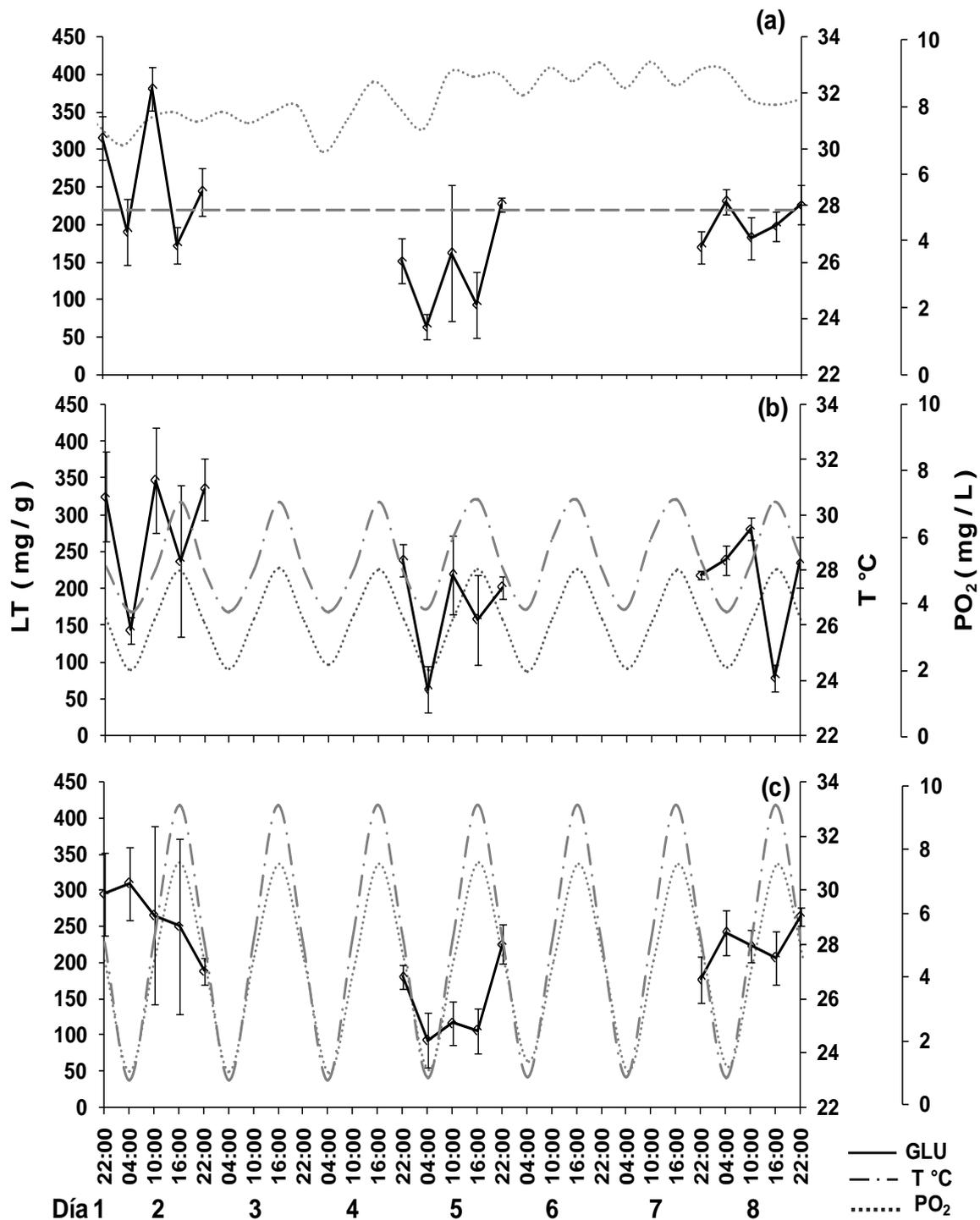


Figura 27. Niveles de lípidos (LT) en hepatopáncreas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T °C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.2.4. Glucosa

En la Figura 28 y Tabla 12, se muestra la variación por hora y día de la glucosa en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 35a) el valor promedio de la glucosa en el primer día fue de 8.89 ± 2.29 mg/g, se puede observar un decremento durante el quinto día a 4.86 ± 1.01 mg/g, para finalizar el tratamiento con incremento significativo de 13.36 ± 1.27 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 28b), el valor promedio de la glucosa fue de 7.02 ± 0.44 mg/g al inicio de la fase experimental, para finalizar la fase experimental se incrementa el nivel promedio significativamente a 16.55 ± 2.30 mg/g en el último día.

En el tratamiento 3 (Figura 28c), los niveles en la concentración de la glucosa en el primer día presentaron valores promedios significativamente bajos de 5.48 ± 0.89 mg/g, se observa que la glucosa se incrementa significativamente al finalizar el tratamiento a 19.58 ± 1.76 mg/g.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y los niveles de concentración de la glucosa en hepatopáncreas no fueron significativas en los tratamientos.

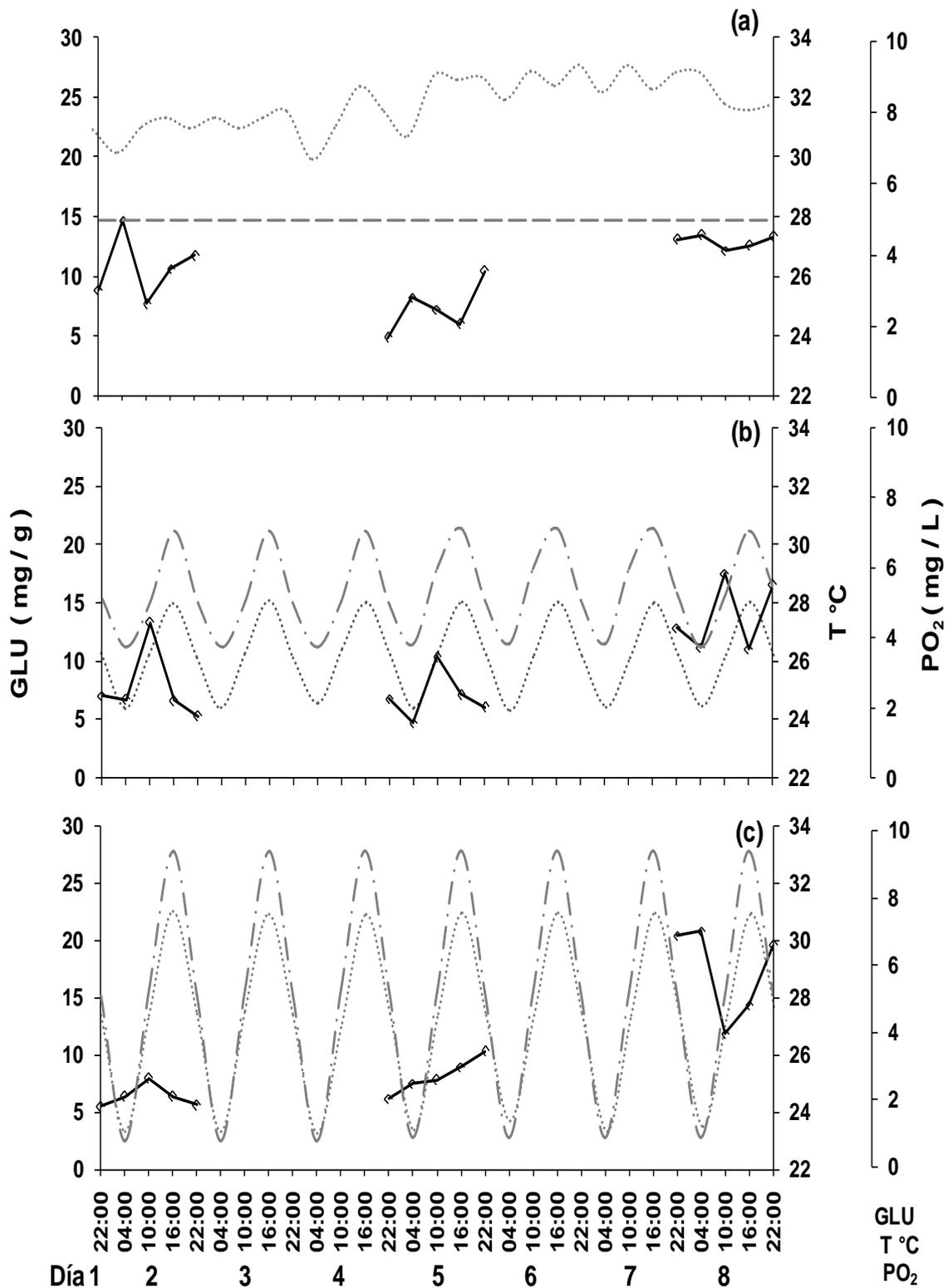


Figura 28. Niveles de glucosa (GLU) en hepatopáncreas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.2.5. Glucógeno

En la Figura 29 y Tabla 12, se muestra la variación por hora y día del glucógeno en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 36a) el glucógeno inicia significativamente muy bajo con un valor promedio de 18.71 ± 4.85 mg/g, se observa un incremento significativo durante el quinto día a 37.07 ± 5.74 mg/g, para finalizar el tratamiento con 24.64 ± 6.85 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 29b), el valor promedio glucógeno fue de 22.20 ± 7.10 mg/g al inicio de la fase experimental, para finalizar la fase experimental se obtiene un valor promedio de 27.58 ± 2.07 mg/g en el último día.

En el tratamiento 3 (Figura 29c), los niveles en la concentración glucógeno en el primer día presentaron valores promedios de 27.84 ± 4.80 mg/g, se puede observar que las variaciones siguen el patrón de la oscilación del oxígeno y la temperatura, para finalizar la fase experimental se obtiene un valor promedio de 25.48 ± 2.34 mg/g en el último día de la fase experimental.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y la concentración de glucógeno en hepatopáncreas no fueron significativas en los tratamientos.

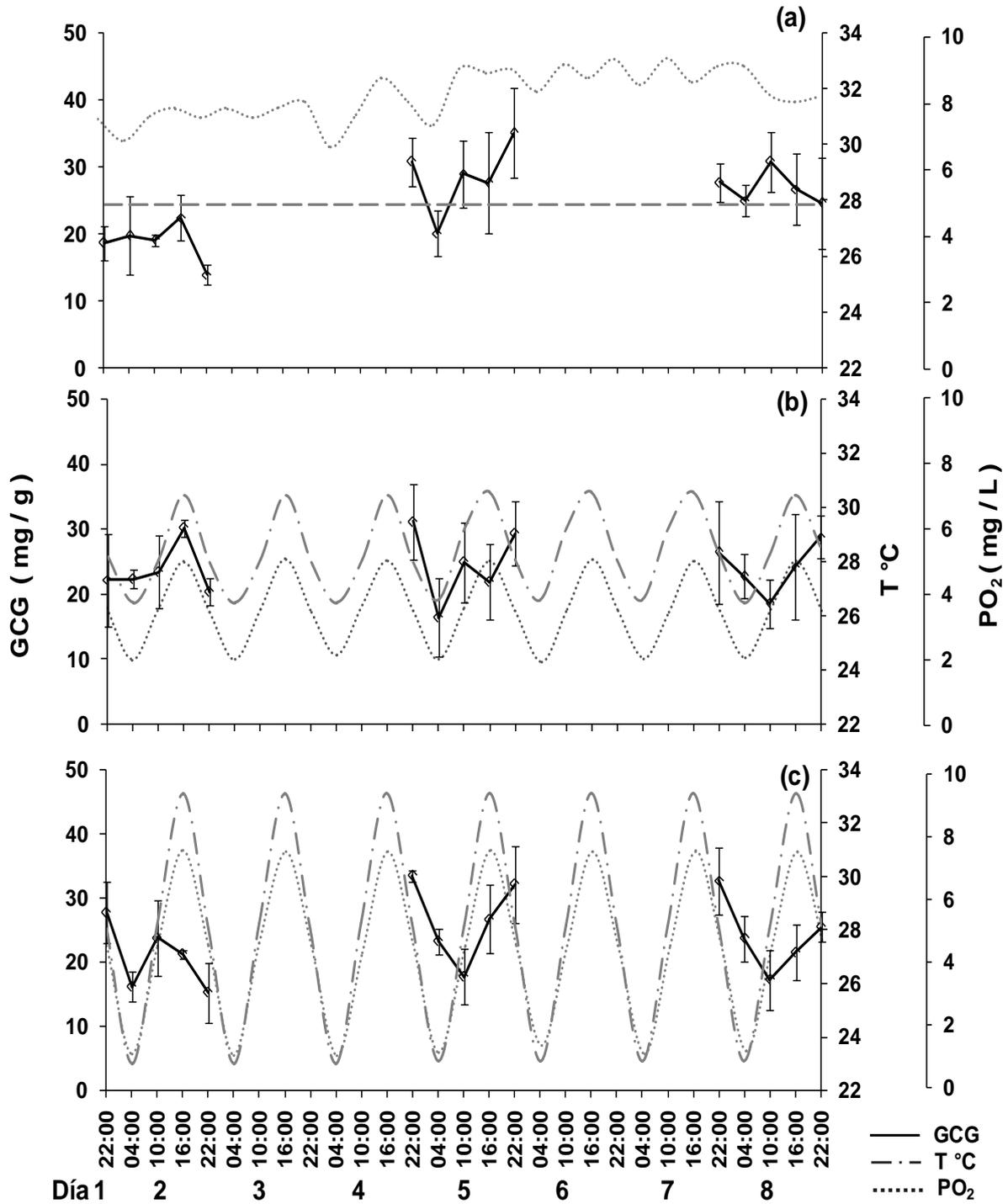


Figura 29. Niveles de glucógeno (GCG) en hepatopáncreas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.2.6. Colesterol

En la Figura 30 y Tabla 12, se muestra la variación por hora y día del colesterol en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 37a) el valor promedio en el primer día fue de 1.09 ± 0.33 mg/g, se puede observar un incremento para finalizar el tratamiento de 1.81 ± 0.18 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 30b), el valor promedio del colesterol fue de 0.83 ± 0.20 mg/g al inicio de la fase experimental, posteriormente se observa también un incremento significativo de 3.02 ± 0.50 mg/g en el quinto días, para finalizar la fase experimental se obtiene un valor promedio de 1.39 ± 0.30 mg/g en el último día.

En el tratamiento 3 (Figura 30c), los niveles en la concentración del colesterol en el primer día presentaron valores promedios de 1.20 ± 0.31 mg/g, se observa que no hay grandes variaciones en los niveles del colesterol en hepatopáncreas durante el transcurso del tratamiento, para finalizar se obtiene un valor promedio de 1.26 ± 0.27 mg/g.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y la concentración del colesterol en hepatopáncreas no fueron significativas en los tratamientos.

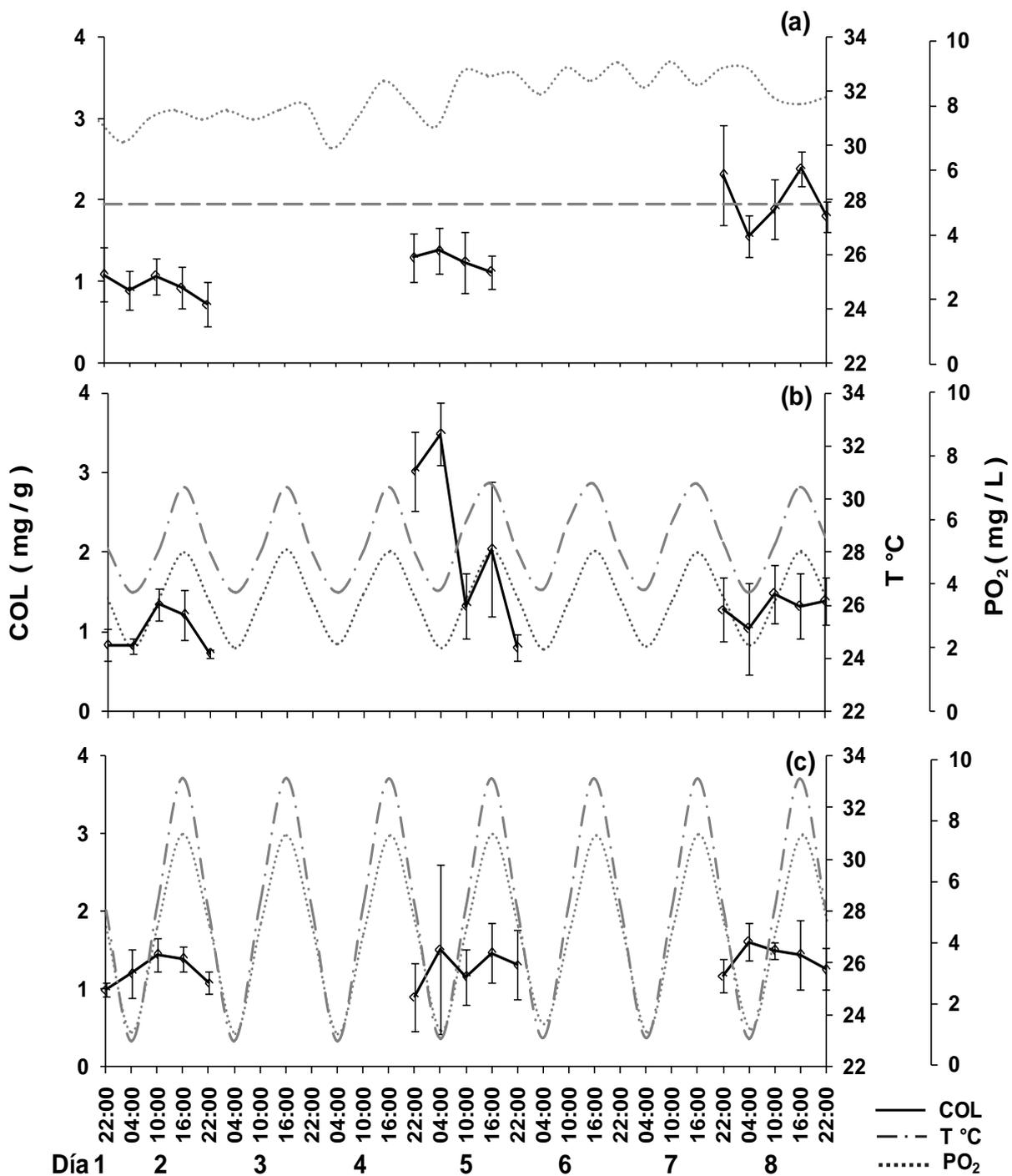


Figura 30. Niveles de colesterol (COL) en hepatopáncreas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/g); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.2.7. Triglicéridos

En la Figura 31 y Tabla 12, se muestra la variación por hora y día de triglicéridos en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 38a) el valor promedio en el primer día a las fue de 35.68 ± 3.92 mg/g, se puede observar un decremento significativo durante en el quinto día un valor de 20.32 ± 2.44 mg/g, para incrementarse al final del tratamiento con 34.23 ± 4.64 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 31b), el valor promedio de triglicéridos fue de 36.35 ± 9.84 mg/g al inicio de la fase experimental, posteriormente se observa también una decremento significativo de 29.40 ± 7.90 mg/g en el quinto días, para finalizar la fase experimental se incrementa significativamente el valor promedio a 52.50 ± 4.03 mg/g.

En el tratamiento 3 (Figura 31c), los niveles en la concentración de triglicéridos en hepatopáncreas en el primer día presentaron valores promedios de 34.02 ± 2.92 mg/g, observándose una tendencia a incrementarse los valores al final de la fase experimental a 49.34 ± 0.0 mg/g.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y la concentración de los triglicéridos encontrados en hepatopáncreas fue significativa en el tratamiento 3 con valor de 0.31, sin embargo los otros dos tratamientos no fueron significativos.

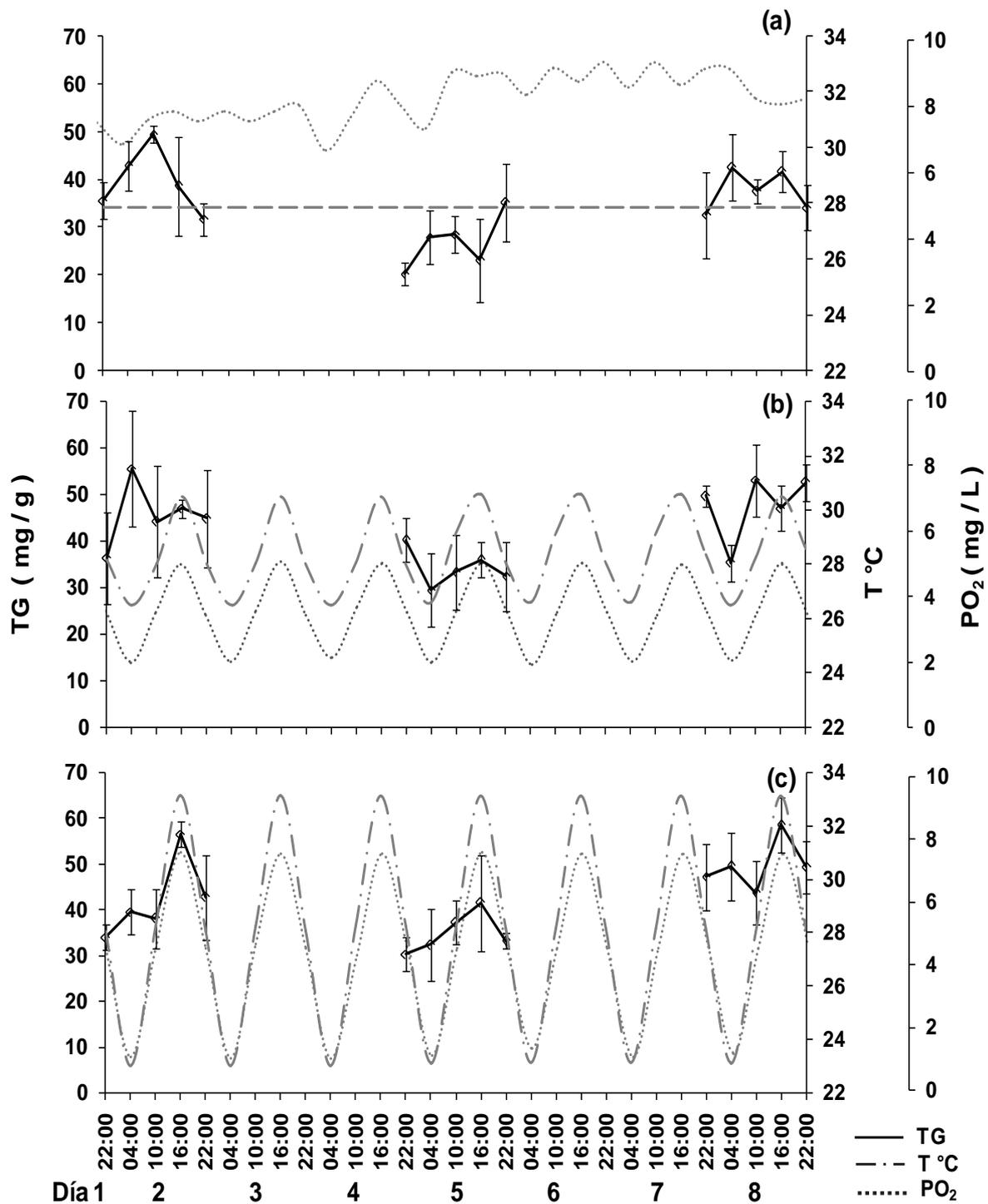


Figura 31. Niveles de triglicéridos (TG) en hepatopáncreas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.3. Músculo

En la Tabla 13, se muestran los promedios por día de muestreo de la fase experimental de los componentes bioquímicos, en el músculo de los juveniles de camarón blanco *L. vannamei*, expuestos a condiciones oscilantes de temperatura y concentración de oxígeno.

La concentración de los carbohidratos, presento diferencias significativas ($p < 0.05$), entre los días en los tratamientos. En el tratamiento 1 y 3, la mayor concentración se presento en el día 2 y en el tratamiento 2 fue en el día 3.

Las proteínas totales, en los tratamientos 1 y 2, se incrementaron significativamente ($p < 0.05$) en el día 3, y no hubo diferencias ($p > 0.05$) entre el día 1 y 2. En el tratamiento 3 fueron diferentes las concentraciones en los tres días.

La concentración de los lípidos totales en los tres tratamientos fue significativamente menor ($p < 0.05$), en el día 2, pero las concentraciones se incrementaron para el día 3 no siendo diferentes significativamente ($p > 0.05$) al día 1.

El lactato en el músculo en los tres tratamientos se incremento significativamente en el día 2, disminuyendo la concentración para el día 3 y fue diferente significativamente ($p > 0.05$) al día 1.

La concentración de la glucosa y los triglicéridos en el día 3, se incrementaron significativamente ($p < 0.05$), en los tres tratamientos.

El colesterol y la concentración del glucógeno presento diferencias significativas ($p < 0.05$), en el tratamiento 3. El colesterol se incremento significativamente en el día 2 y el glucógeno disminuyo significativamente para el mismo día.

Tabla 13. Bioquímica en el Músculo (mg g^{-1}) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno. (T) Tratamiento; (D) Día de toma de muestras. Los valores son la media \pm desviación estándar, $n = 6$.

Componentes Bioquímicos	Tratamientos		
	T1		
	D1	D2	D3
<i>Tejido Músculo (mg g^{-1})</i>			
Carbohidratos	53.51 ^a \pm 11.16	107.41 ^b \pm 18.89	94.91 ^c \pm 14.24
Proteínas Totales	844.00 ^a \pm 105.97	793.27 ^a \pm 78.24	738.01 ^b \pm 132.53
Lípidos Totales	50.68 ^a \pm 10.92	35.45 ^b \pm 16.41	46.99 ^c \pm 26.26
Lactato	4.39 ^a \pm 0.64	6.16 ^b \pm 1.47	4.32 ^a \pm 0.95
Glucosa	29.47 ^a \pm 6.32	28.78 ^a \pm 6.79	35.14 ^b \pm 4.29
Triglicéridos	16.59 ^a \pm 2.88	16.49 ^a \pm 2.38	14.32 ^b \pm 1.79
Colesterol	18.39 \pm 5.18	18.83 \pm 2.44	17.11 \pm 2.39
Glucógeno	14.48 ^a \pm 7.15	9.79 ^b \pm 9.82	11.47 ^a \pm 4.23
T2			
<i>Tejido Músculo (mg g^{-1})</i>			
Carbohidratos	63.69 ^a \pm 15.09	90.91 ^b \pm 12.74	107.29 ^c \pm 13.46
Proteínas Totales	754.92 ^a \pm 205.6	684.05 ^a \pm 98.19	802.8 ^b \pm 108.17
Lípidos Totales	51.09 ^a \pm 10.51	32.08 ^b \pm 14.99	43.83 ^a \pm 18.95
Lactato	4.28 ^a \pm 0.73	6.92 ^b \pm 0.81	4.19 ^a \pm 0.64
Glucosa	24.82 ^a \pm 5.13	24.98 ^a \pm 3.49	35.32 ^b \pm 5.04
Triglicéridos	15.94 ^a \pm 2.02	15.08 ^a \pm 2.09	13.56 ^b \pm 2.77
Colesterol	17.19 \pm 4.61	18.33 \pm 3.82	16.92 \pm 1.79
Glucógeno	10.81 \pm 5.61	10.70 \pm 6.11	11.28 \pm 10.03
T3			
<i>Tejido Músculo (mg g^{-1})</i>			
Carbohidratos	68.40 ^a \pm 14.80	100.23 ^b \pm 15.39	99.20 ^b \pm 9.00
Proteínas Totales	794.65 \pm 165.28	771.49 \pm 120.78	758.72 \pm 142.47
Lípidos Totales	51.58 ^a \pm 18.04	30.59 ^b \pm 17.58	50.31 ^a \pm 28.92
Lactato	4.25 ^a \pm 1.06	6.26 ^b \pm 1.09	4.14 ^a \pm 0.74
Glucosa	22.27 ^a \pm 4.81	27.59 ^b \pm 4.06	35.80 ^c \pm 4.43
Triglicéridos	15.80 ^a \pm 4.12	16.16 ^a \pm 2.19	12.62 ^b \pm 2.17
Colesterol	18.25 ^a \pm 3.38	22.44 ^b \pm 3.26	16.20 ^c \pm 1.73
Glucógeno	12.02 ^a \pm 7.88	8.15 ^b \pm 7.33	10.70 ^{ab} \pm 8.10

Valores con letras diferentes indican diferencias entre días de tratamiento ($p < 0.05$).
Valores sin letras no hay diferencias significativas ($p > 0.05$).

VII.4.3.1. Carbohidratos

En la Figura 32 y Tabla 14, se muestra la variación por hora y día de las proteínas en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 32a) el valor promedio de los carbohidratos al inicio de la fase experimental fue de 64.08 ± 10.49 mg/g, se puede observar un incremento significativo en el quinto día a 141.64 ± 13.01 mg/g, para finalizar el tratamiento con un incremento significativo de 94.03 ± 8.72 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 32b), el valor promedio de los carbohidratos fue de 57.46 ± 3.39 mg/g al inicio de la fase experimental, posteriormente se observa un incremento significativo en el quinto día a 107.82 ± 14.70 mg/g, para finalizar la fase experimental con una concentración de 127.7 ± 6.72 mg/g significativamente mayor que al inicio del experimento.

En el tratamiento 3 (Figura 32c), el valor promedio de los carbohidratos en el primer día fue de 90.40 ± 9.27 mg/g, se puede observar un incremento significativo para finalizar el tratamiento a 102.55 ± 8.16 mg/g.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y la concentración de los carbohidratos en el músculo fueron significativas ($p < 0.05$) en el tratamiento 1 con valor de 0.5, sin embargo los otros dos tratamientos no fueron significativas sus correlaciones.

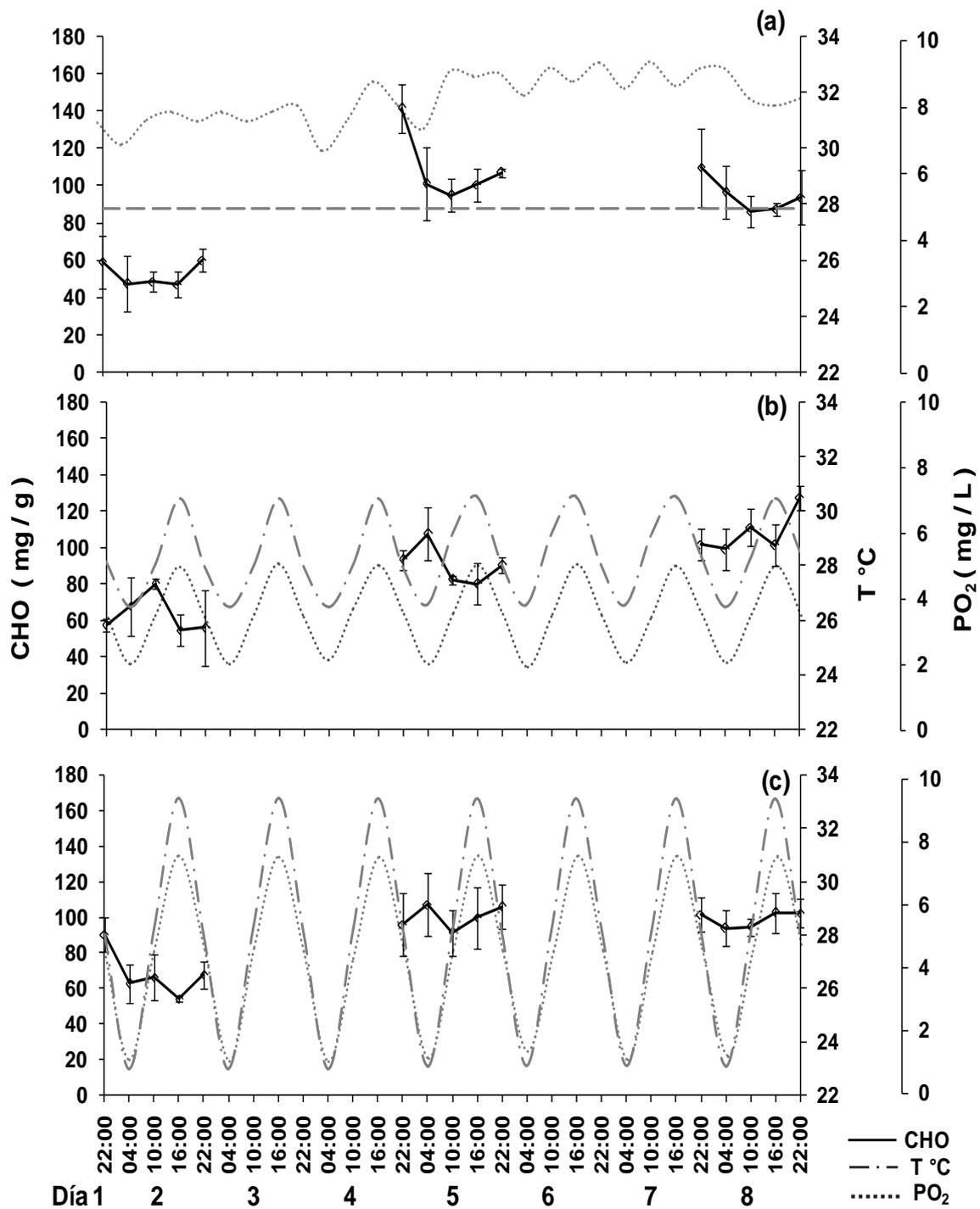


Figura 32. Niveles de carbohidratos (CHO) en músculo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Los valores son la media ± desviación estándar, n = 6.

Tabla 14. Bioquímica del Músculo (mg/g) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* sometidos a oscilación de la temperatura y oxígeno. (T) Tratamiento; (D) Día de toma de muestras; (H) Hora; (CHO) Carbohidratos; (PT) Proteínas; (LT) Lípidos Totales; (LAC) Lactato; (GLU) Glucosa; (TG) Triglicéridos; (COL) Colesterol. Los valores son la media ± desviación estándar, n = 6.

T	D	H	CHO	PT	LT	GLU	GCG	COL	TG	LAC
1	1	22:00	64.08 ^{abc} ± 10.49	701.19 ^{abc} ± 108.01	57.05 ^{ef} ± 11.65	23.88 ^a ± 3.19	6.89 ^{bcd} ± 1.47	15.33 ^{abc} ± 2.82	14.88 ^{abcd} ± 2.27	4.28 ^{ab} ± 1.06
1	1	04:00	47.66 ^a ± 14.99	813.97 ^{bode} ± 38.60	54.21 ^{ef} ± 4.08	29.35 ^{abc} ± 3.20	10.94 ^{bode} ± 1.89	11.68 ^a ± 2.29	14.71 ^{abcd} ± 1.86	4.58 ^{ab} ± 0.42
1	1	10:00	48.68 ^a ± 5.57	950.22 ^e ± 14.11	55.38 ^{ef} ± 6.29	36.04 ^{bc} ± 3.05	18.10 ^{de} ± 3.58	25.41 ^d ± 1.49	19.33 ^e ± 1.50	4.49 ^{ab} ± 0.55
1	1	16:00	47.04 ^a ± 6.82	937.77 ^{de} ± 31.42	52.75 ^{def} ± 1.57	24.67 ^{ab} ± 1.83	16.22 ^{de} ± 3.58	19.01 ^{bcd} ± 2.59	19.05 ^{de} ± 3.35	3.82 ^{ab} ± 0.42
1	1	22:00	60.08 ^{ab} ± 6.08	816.87 ^{bode} ± 25.16	34.03 ^{bode} ± 9.21	33.38 ^{abc} ± 8.36	17.48 ^{de} ± 7.55	20.54 ^{cd} ± 1.68	14.95 ^{abcde} ± 0.55	4.79 ^{abcd} ± 0.23
1	2	22:00	141.64 ^e ± 13.01	837.27 ^{bode} ± 42.03	17.67 ^a ± 3.61	30.71 ^{abc} ± 10.73	26.76 ^e ± 9.98	19.82 ^{bcd} ± 1.33	16.73 ^{bode} ± 2.57	4.46 ^{ab} ± 0.78
1	2	04:00	101.14 ^{de} ± 19.62	754.14 ^{abcde} ± 84.56	50.53 ^{def} ± 5.36	27.03 ^{abc} ± 1.67	13.93 ^{cde} ± 3.00	16.94 ^{bc} ± 3.25	13.37 ^{ab} ± 1.40	5.44 ^{abcd} ± 1.10
1	2	10:00	95.05 ^{de} ± 8.70	808.40 ^{bode} ± 54.72	23.19 ^{ab} ± 4.51	26.48 ^{ab} ± 4.70	1.65 ^a ± 0.27	18.01 ^{bc} ± 2.52	18.42 ^{cde} ± 1.36	7.66 ^{cd} ± 0.93
1	2	16:00	100.68 ^{de} ± 8.65	727.76 ^{abcd} ± 108.35	54.67 ^{ef} ± 8.39	23.36 ^a ± 1.56	4.09 ^{ab} ± 1.79	20.80 ^{cd} ± 2.24	18.34 ^{cde} ± 1.02	6.01 ^{bcd} ± 0.13
1	2	22:00	107.09 ^{de} ± 2.00	838.77 ^{bode} ± 41.34	31.20 ^{abcd} ± 11.46	36.31 ^{bc} ± 4.28	5.31 ^b ± 3.28	18.60 ^{bcd} ± 1.37	15.61 ^{abcde} ± 0.85	7.62 ^c ± 0.94
1	3	22:00	109.92 ^{de} ± 21.04	879.09 ^{cde} ± 38.50	49.16 ^{cde} ± 14.90	40.26 ^{abc} ± 3.67	14.69 ^{cde} ± 0.96	14.62 ^{ab} ± 0.42	12.72 ^a ± 0.63	3.49 ^a ± 0.96
1	3	04:00	96.70 ^{de} ± 14.27	827.81 ^{bode} ± 51.68	28.79 ^{abc} ± 5.92	34.37 ^{abc} ± 4.16	8.82 ^{bcd} ± 1.21	16.51 ^{bc} ± 2.19	14.32 ^{abc} ± 1.12	5.10 ^{ab} ± 0.57
1	3	10:00	86.10 ^{bcd} ± 8.51	699.88 ^{abc} ± 143.84	18.47 ^a ± 2.66	36.37 ^{bc} ± 3.38	14.59 ^{cde} ± 1.32	18.72 ^{bcd} ± 2.67	13.21 ^{ab} ± 1.40	4.72 ^{abd} ± 0.47
1	3	16:00	87.80 ^{cd} ± 3.50	602.32 ^a ± 50.10	84.73 ^f ± 7.58	33.79 ^{abc} ± 1.69	12.97 ^{cde} ± 5.65	17.40 ^{bc} ± 2.76	17.04 ^{bode} ± 0.96	4.12 ^{ab} ± 0.42
1	3	22:00	94.03 ^d ± 8.72	680.97 ^{ab} ± 125.58	53.79 ^{cdef} ± 23.48	30.91 ^c ± 2.73	6.30 ^{bc} ± 1.52	18.32 ^{bcd} ± 1.43	14.30 ^{abc} ± 0.90	4.16 ^{ab} ± 1.42
2	1	22:00	57.46 ^{abc} ± 3.39	397.80 ^a ± 75.11	53.30 ^{cd} ± 5.70	23.81 ^{ab} ± 5.09	11.88 ^{abcde} ± 1.41	11.64 ^a ± 0.78	13.90 ^{abcd} ± 2.03	4.19 ^a ± 0.17
2	1	04:00	67.94 ^{abcd} ± 16.16	793.97 ^{bcd} ± 74.10	47.58 ^{cd} ± 9.00	19.37 ^a ± 3.95	15.44 ^{bode} ± 9.20	12.83 ^{ab} ± 2.40	14.68 ^{bcd} ± 2.06	4.05 ^a ± 0.62
2	1	10:00	80.13 ^{bode} ± 2.61	815.15 ^{bcd} ± 22.25	50.54 ^{cd} ± 8.22	27.97 ^{bc} ± 3.87	8.88 ^{abcde} ± 4.79	20.90 ^d ± 2.01	17.61 ^d ± 1.12	4.23 ^a ± 0.16
2	1	16:00	54.61 ^{ab} ± 8.60	817.49 ^{bcd} ± 41.96	56.63 ^{cd} ± 23.62	26.08 ^{abc} ± 6.59	4.65 ^{ab} ± 0.55	21.06 ^d ± 1.72	16.25 ^{bcd} ± 1.06	5.42 ^{ab} ± 1.18
2	1	22:00	56.05 ^a ± 21.01	965.82 ^d ± 24.99	48.76 ^{cd} ± 6.97	27.20 ^{abc} ± 2.99	11.68 ^{abcde} ± 2.19	20.48 ^d ± 0.91	17.31 ^{cd} ± 0.33	3.82 ^a ± 0.42
2	2	22:00	93.47 ^{def} ± 5.39	608.29 ^b ± 56.52	37.27 ^{abcd} ± 21.27	28.77 ^{bc} ± 2.13	17.47 ^{de} ± 4.48	21.77 ^d ± 1.79	16.49 ^{bcd} ± 0.68	7.07 ^b ± 1.12
2	2	04:00	107.82 ^{ef} ± 14.70	696.89 ^{bc} ± 82.72	46.11 ^{bcd} ± 11.06	27.31 ^{abc} ± 1.47	6.77 ^{abcd} ± 0.72	14.35 ^{abc} ± 3.65	14.41 ^{abcd} ± 2.26	7.22 ^b ± 0.35
2	2	10:00	82.49 ^{def} ± 2.23	647.12 ^b ± 53.60	21.54 ^{ab} ± 5.52	23.25 ^{ab} ± 3.86	4.49 ^a ± 0.27	16.40 ^{abcd} ± 3.80	15.73 ^{bcd} ± 2.89	6.44 ^b ± 0.81
2	2	16:00	80.30 ^{bode} ± 11.16	746.17 ^{bcd} ± 135.10	19.33 ^a ± 1.43	21.51 ^{ab} ± 0.80	15.58 ^{cde} ± 0.00	18.70 ^{cd} ± 2.69	14.53 ^{abcd} ± 2.51	7.21 ^b ± 0.79
2	2	22:00	90.49 [±] ± 4.37	721.78 ^{bcd} ± 114.73	36.17 ^{abcd} ± 11.38	24.06 ^{ab} ± 2.67	7.40 ^{abcd} ± 5.47	20.41 ^d ± 2.54	14.25 ^{abcd} ± 1.53	6.65 ^b ± 0.94
2	3	22:00	101.94 ^{ef} ± 8.69	933.81 ^{cd} ± 56.46	48.61 ^{cd} ± 13.67	35.55 ^c ± 3.92	6.69 ^{abcd} ± 1.57	15.91 ^{abcd} ± 0.46	12.79 ^{abcd} ± 1.29	4.13 ^a ± 0.59
2	3	04:00	99.28 ^{ef} ± 11.70	765.59 ^{bcd} ± 82.54	30.69 ^{abcd} ± 1.63	37.37 ^c ± 2.56	7.09 ^{abc} ± 4.37	16.75 ^{bcd} ± 2.40	14.59 ^{bcd} ± 0.49	4.25 ^a ± 0.74
2	3	10:00	111.31 ^{ef} ± 10.01	772.06 ^{bcd} ± 136.20	31.50 ^{abc} ± 15.69	36.72 ^c ± 4.90	5.47 ^{ab} ± 2.30	17.03 ^d ± 1.98	10.65 ^a ± 0.92	4.23 ^a ± 0.30
2	3	16:00	101.27 ^{ef} ± 11.43	743.19 ^{bcd} ± 57.16	41.82 ^{abcd} ± 19.56	36.99 ^c ± 3.99	25.43 ^e ± 14.50	18.93 ^{cd} ± 1.03	17.04 ^{bcd} ± 3.68	3.90 ^a ± 0.62
2	3	22:00	127.77 ^f ± 6.72	798.44 ^{bcd} ± 107.08	66.54 ^d ± 17.28	29.95 ^{bc} ± 6.95	11.89 ^{abcde} ± 1.83	15.99 ^{abcd} ± 1.22	12.72 ^{bc} ± 1.23	4.43 ^a ± 1.02
3	1	22:00	90.40 ^{bcd} ± 9.72	653.52 ^{abc} ± 154.34	33.73 ^{bode} ± 7.86	25.03 ^{abcd} ± 3.97	7.81 ^{abcde} ± 2.84	18.30 ^{abcd} ± 2.45	16.51 ^{cde} ± 1.04	5.64 ^{bc} ± 0.24
3	1	04:00	62.95 ^a ± 10.57	616.49 ^{ab} ± 133.18	58.26 ^{def} ± 9.74	18.69 ^a ± 2.20	20.05 ^{ab} ± 13.89	15.54 ^{ab} ± 3.56	12.26 ^{abc} ± 0.86	3.47 ^c ± 0.74
3	1	10:00	66.35 ^{ab} ± 12.86	887.61 ^{def} ± 44.72	40.81 ^{cdef} ± 11.58	22.57 ^{abc} ± 4.60	6.48 ^{abcde} ± 4.26	18.01 ^{abcd} ± 2.69	20.59 ^e ± 6.95	3.56 ^a ± 0.59
3	1	16:00	54.41 ^a ± 1.68	928.96 ^f ± 90.22	46.64 ^{defg} ± 5.61	20.87 ^{ab} ± 6.29	12.13 ^{bode} ± 4.10	17.80 ^{abc} ± 4.47	13.94 ^{bcd} ± 1.93	4.93 ^{abc} ± 0.67
3	1	22:00	67.90 ^{abc} ± 7.79	886.68 ^{def} ± 74.59	78.48 ^{fg} ± 10.15	24.22 ^{abc} ± 5.51	12.25 ^{cde} ± 1.59	21.60 ^{cde} ± 1.19	15.69 ^{cde} ± 1.09	3.63 ^a ± 0.73
3	2	22:00	96.18 ^d ± 17.63	651.60 ^{abc} ± 96.09	54.12 ^{def} ± 19.44	24.20 ^{abc} ± 2.61	21.56 ^e ± 0.72	24.60 ^{de} ± 1.98	18.90 ^{de} ± 2.69	6.43 ^c ± 0.51
3	2	04:00	107.42 ^d ± 17.94	895.51 ^{ef} ± 61.83	20.71 ^{abc} ± 7.06	30.00 ^{cde} ± 3.98	3.15 ^e ± 0.72	22.41 ^{cde} ± 1.14	15.73 ^{cde} ± 0.66	5.27 ^{abc} ± 0.70
3	2	10:00	91.42 ^{bcd} ± 13.01	819.85 ^{bcddef} ± 94.40	16.84 ^a ± 3.76	24.61 ^{abc} ± 5.34	9.21 ^{bode} ± 3.02	20.21 ^{bode} ± 1.90	13.85 ^{abcd} ± 1.29	6.42 ^c ± 0.73
3	2	16:00	99.95 ^d ± 17.36	827.95 ^{cdef} ± 66.20	22.92 ^{abc} ± 5.51	29.08 ^{bode} ± 1.62	4.09 ^{abcd} ± 1.79	26.12 ^e ± 2.40	16.77 ^{cde} ± 0.36	6.59 ^c ± 1.57
3	2	22:00	106.17 ^d ± 12.50	662.55 ^{abcd} ± 56.35	38.38 ^{bode} ± 14.35	30.06 ^{cde} ± 2.10	2.36 ^a ± 0.82	18.84 ^{abcd} ± 2.15	15.53 ^{bode} ± 1.63	6.60 ^c ± 1.44
3	3	22:00	101.66 ^d ± 9.39	842.25 ^{cdef} ± 72.40	23.90 ^{abcd} ± 1.88	30.05 ^{cde} ± 1.95	3.95 ^{abcd} ± 0.84	17.92 ^{abcd} ± 0.42	13.37 ^{abc} ± 1.16	4.57 ^{abc} ± 0.99
3	3	04:00	94.00 ^{cd} ± 10.17	948.27 ^f ± 32.12	47.80 ^{defg} ± 17.72	38.84 ^e ± 6.05	10.13 ^{abcde} ± 8.48	16.59 ^{abc} ± 1.30	13.67 ^{abcd} ± 0.59	3.67 ^a ± 0.66
3	3	10:00	94.79 ^d ± 4.99	567.47 ^a ± 65.39	65.72 ^{def} ± 20.77	36.90 ^e ± 3.73	19.05 ^e ± 11.19	14.46 ^a ± 2.00	9.96 ^a ± 1.58	3.75 ^{ab} ± 0.17
3	3	16:00	102.97 ^d ± 11.23	671.01 ^{abcde} ± 35.69	19.83 ^{ab} ± 4.72	35.50 ^{de} ± 1.57	14.69 ^{de} ± 2.95	15.46 ^{ab} ± 0.86	11.34 ^{ab} ± 2.16	4.71 ^{abc} ± 0.60
3	3	22:00	102.55 ^d ± 8.16	764.59 ^{bcddef} ± 21.01	87.72 ^g ± 10.98	37.74 ^e ± 2.04	5.67 ^{abcde} ± 0.57	16.55 ^{abc} ± 1.81	14.75 ^{bode} ± 1.07	4.00 ^{ab} ± 0.67

Letras diferentes indican diferencias entre días y horas en cada tratamiento ($p < 0.05$).

VII.4.3.2. Proteínas Totales

En la Figura 33 y Tabla 14, se muestra la variación por hora y día de las proteínas en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 33a) el valor promedio de las proteínas en el primer día fue 701.19 ± 108.01 mg/g, se puede observar que las proteínas disminuyen al final de la fase experimental a 608.97 ± 125.58 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 33b), el valor promedio de las proteínas fue de 397.80 ± 75.11 mg/g al inicio de la fase experimental, se puede observar que las proteínas se incrementan significativamente durante el primer día, para finalizar la fase experimental con un valor promedio de 798.44 ± 107.08 mg/g.

En el tratamiento 3 (Figura 33c), el valor promedio de las proteínas en el primer día fue de 653.52 ± 154.34 mg/g, presentando al final una concentración de 764.59 ± 21.01 mg/g.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y niveles de concentración de las proteínas en el músculo no fueron significativas en los tratamientos.

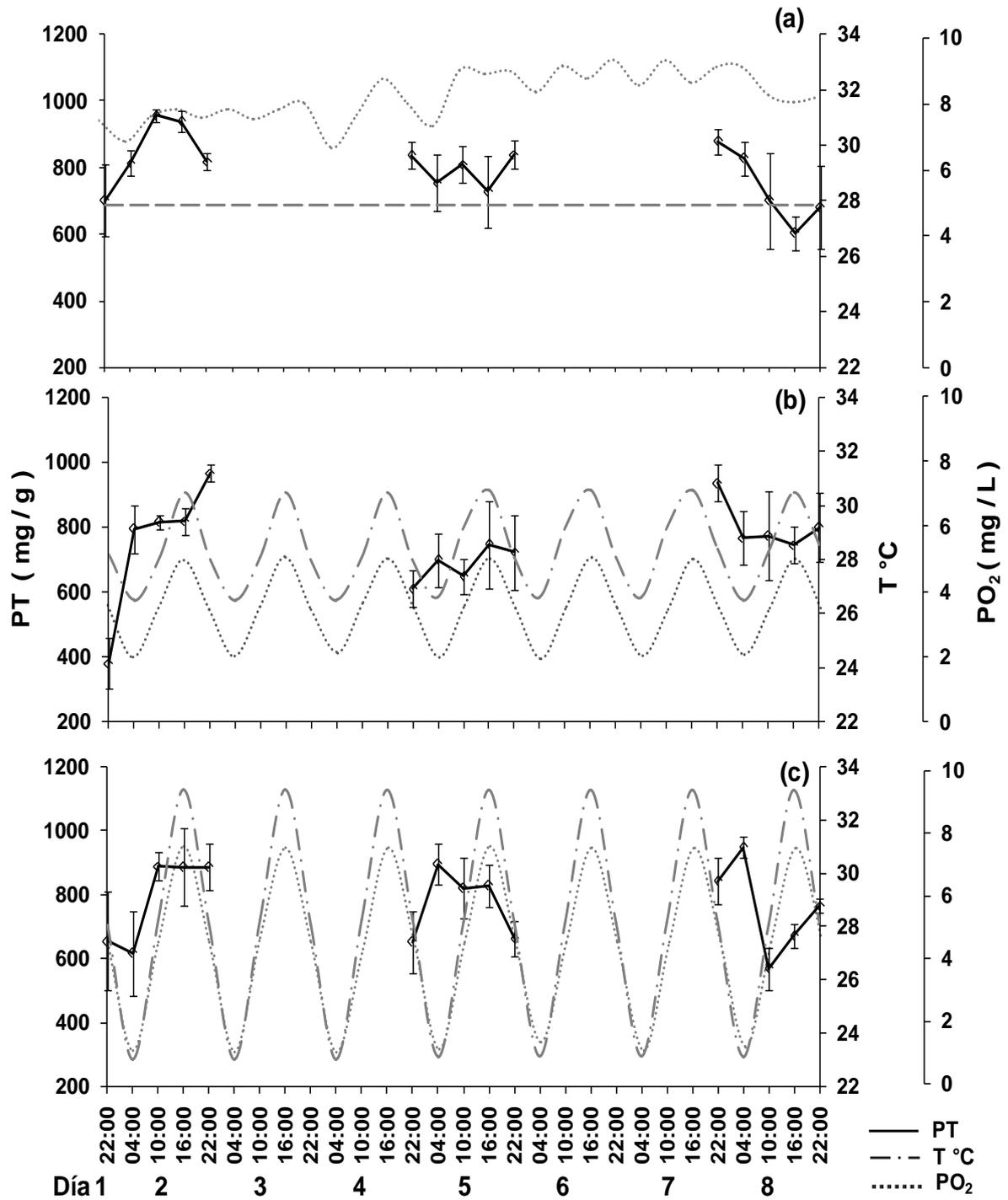


Figura 33. Niveles de proteínas (PT) en músculo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.3.3. Lípidos Totales

En la Figura 34 y Tabla 14, se muestra la variación por hora y día de los lípidos en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 34a) el valor promedio de los lípidos en el primer día fue de 57.05 ± 11.65 mg/g, se puede observar que se presentan un incremento significativo hacia finalizar la fase experimental, registrando un valor promedio de 84.73 ± 7.58 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 34b), el valor promedio de los lípidos fue de 53.3 ± 5.7 mg/g al inicio de la fase experimental, se puede observar como los niveles en la concentración de los lípidos decrecen hasta obtener un valor mínimo promedio de 19.33 ± 1.43 mg/g en el quinto día, para finalizar en el último día de la fase experimental con un incremento significativo de 66.54 ± 17.28 mg/g.

En el tratamiento 3 (Figura 34c), los niveles en la concentración de lípidos en el músculo inicio con un nivel promedio de concentración de 33.73 ± 7.86 mg/g, para observar posteriormente una disminución significativa en el quinto día a 16.84 ± 3.76 mg/g, para finalizar la fase experimental los niveles se incrementaron significativamente a 87.72 ± 10.98 mg/g en el último día.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y la concentración de los lípidos encontrados en el músculo no fueron significativas en los tratamientos.

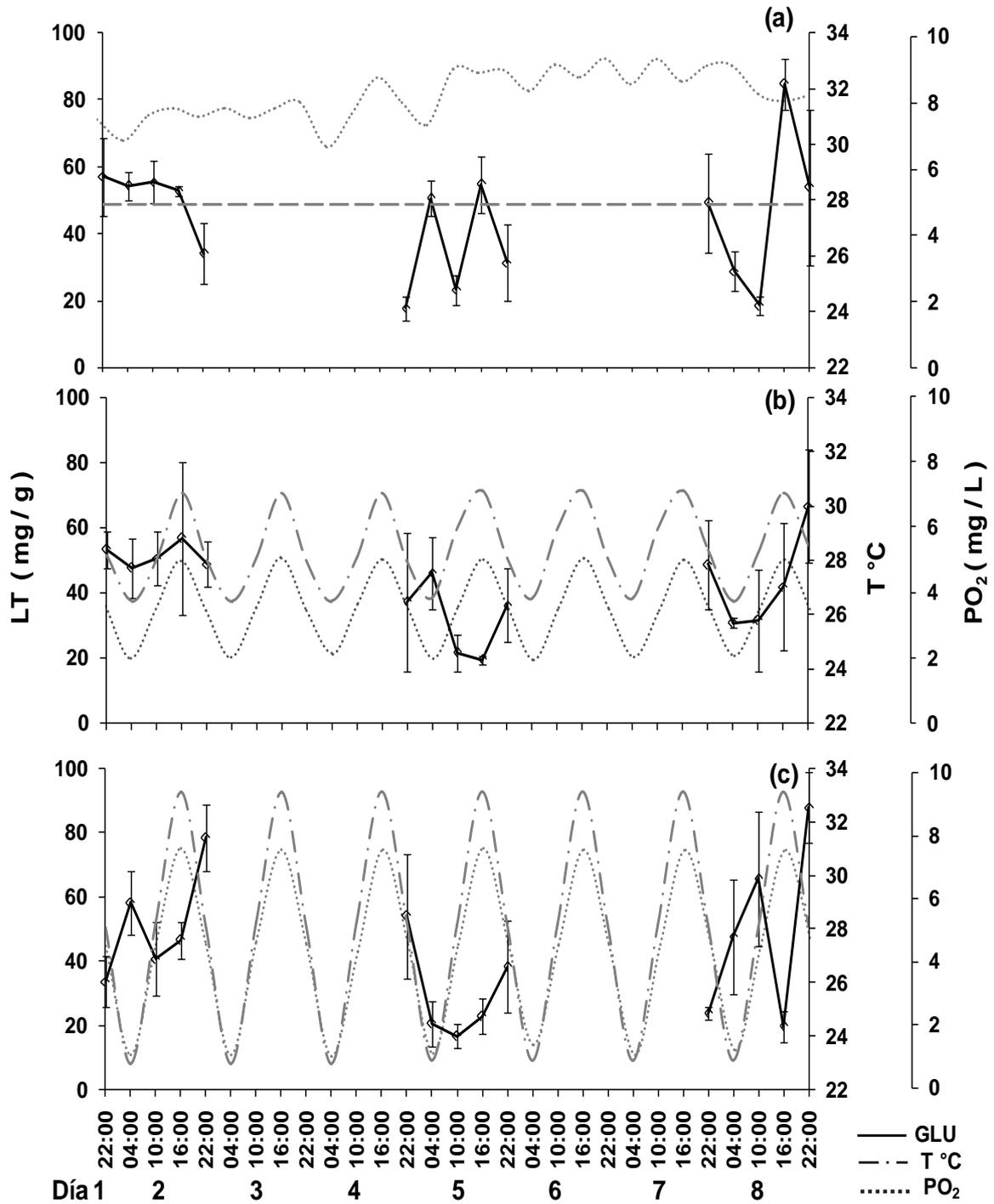


Figura 34. Niveles de lípidos (LT) en músculo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.3.4. Glucosa

En la Figura 35 y Tabla 14, se muestra la variación por hora y día de la glucosa en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 35a) el valor promedio de la glucosa en el primer día fue de 23.88 ± 3.19 mg/g, se puede observar un decremento significativo durante el quinto día a 23.86 ± 1.56 mg/g, para finalizar el tratamiento con incremento significativo de 30.91 ± 2.73 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 35b), el valor promedio de la glucosa fue de 23.81 ± 5.09 mg/g al inicio de la fase experimental, para finalizar la fase experimental se incrementa el nivel promedio significativamente a 37.37 ± 2.56 mg/g en el último día.

En el tratamiento 3 (Figura 35c), los niveles en la concentración de la glucosa en el primer día fue de 25.03 ± 3.97 mg/g, se observa que la glucosa se incrementa significativamente durante los siguientes días para finalizar el tratamiento con un incremento significativo de 37.74 ± 2.04 mg/g.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y los niveles de concentración de la glucosa en el músculo no fueron significativas en los tratamientos.

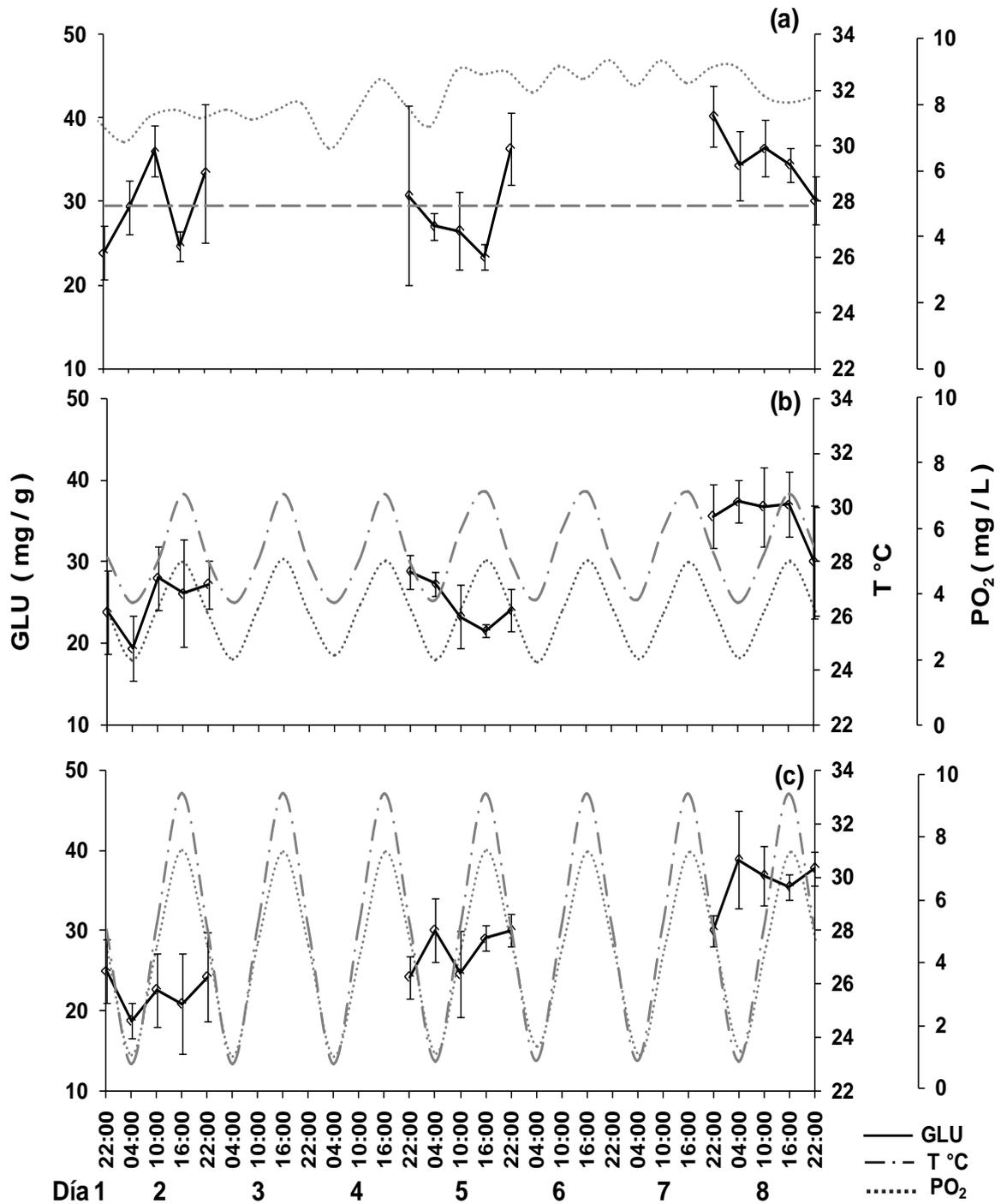


Figura 35. Niveles de glucosa (GLU) en músculo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.3.5. Glucógeno

En la Figura 36 y Tabla 14, se muestra la variación por hora y día del glucógeno en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 36a) el glucógeno inicia con un valor promedio de 6.86 ± 1.47 mg/g, se observa un decremento significativo durante el quinto día a 1.65 ± 0.27 mg/g, para finalizar el tratamiento con 6.30 ± 1.52 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 36b), el valor promedio glucógeno fue de 11.88 ± 1.41 mg/g al inicio de la fase experimental, se observa un decremento significativo durante el quinto día a 4.49 ± 0.27 mg/g, para finalizar la fase experimental se obtiene un valor promedio de 11.86 ± 1.83 mg/g en el último día.

En el tratamiento 3 (Figura 36c), los niveles en la concentración glucógeno en el primer día presentaron valores promedios de 7.81 ± 2.84 mg/g, se observa un decremento significativo durante el quinto día de 2.36 ± 0.82 mg/g, para finalizar la fase experimental se obtiene un valor promedio de 5.67 ± 0.57 mg/g en el último día.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y la concentración del glucógeno encontrados en la músculo fueron significativas ($p < 0.05$) en el tratamiento 1 con valor de 0.5, sin embargo los otros dos tratamientos no fueron significativas sus correlaciones.

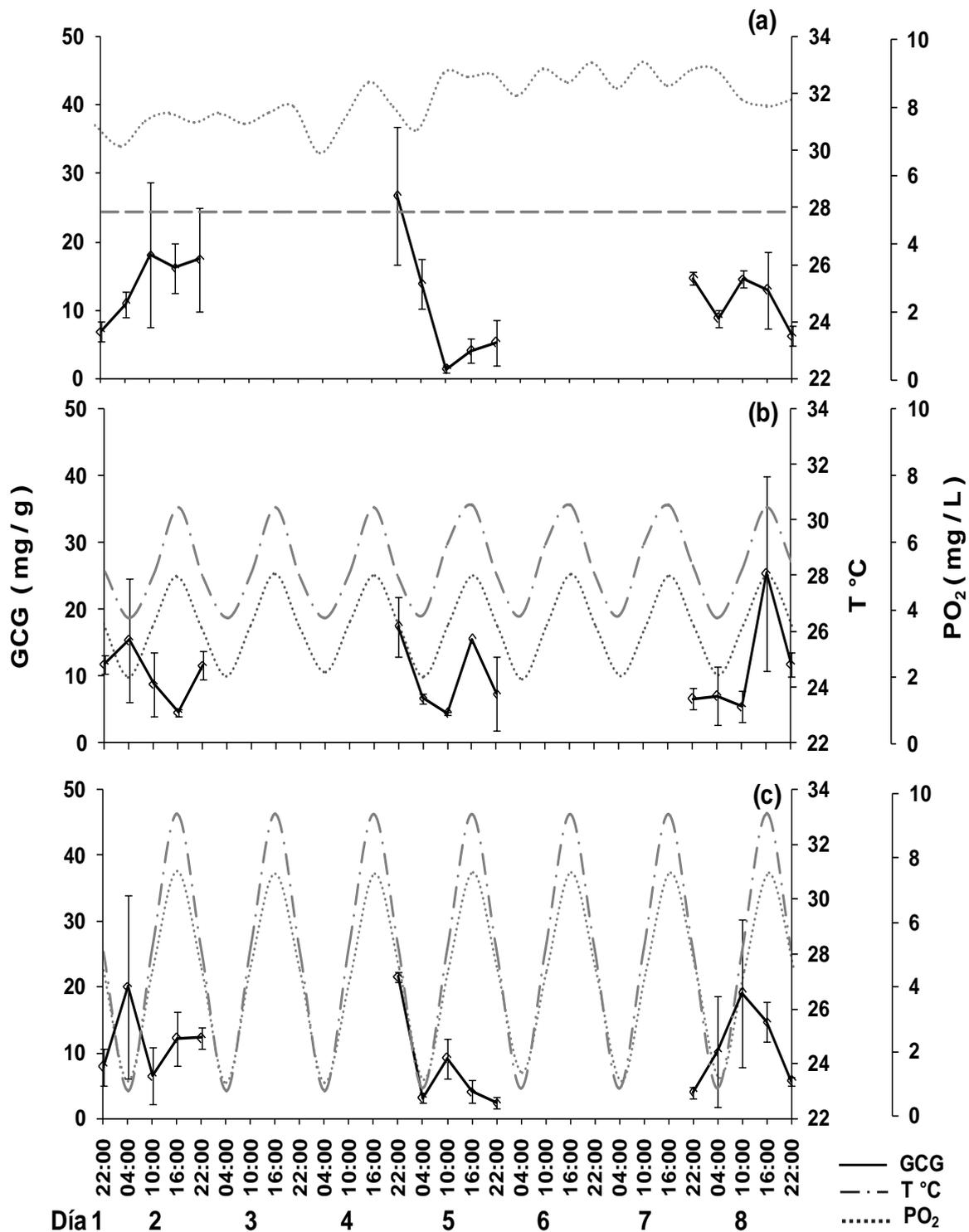


Figura 36. Niveles de glucógeno (GCG) en músculo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.3.6. Colesterol

En la Figura 37 y Tabla 14, se muestra la variación por hora y día del colesterol en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 44a) el valor promedio en el primer día fue de 15.33 ± 2.82 mg/g, se puede observar un incremento para finalizar el tratamiento de 18.32 ± 1.43 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 37b), el valor promedio del colesterol fue de 11.64 ± 0.78 mg/g al inicio de la fase experimental, se observa cómo se incrementa significativamente la concentración del colesterol durante el primer día hasta 21.90 ± 1.72 mg/g, para disminuir en los siguientes días y finalizar con un valor promedio de 15.99 ± 1.22 mg/g en el último día.

En el tratamiento 3 (Figura 37c), los niveles en la concentración del colesterol en el primer día presentaron valores promedios de 18.30 ± 2.45 mg/g, se observa que hay un incremento significativo en el quinto día alcanzado una concentración máxima de 26.12 ± 2.40 mg/g, para disminuir posteriormente y finalizar con una concentración de $1.6.55 \pm 1.81$ mg/g similar a la concentración inicial del tratamiento.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua con los niveles de concentración del colesterol encontrados en la músculo obtuvo una correlación positiva significativas ($p < 0.05$) en el tratamiento 2 con valor de 0.4, sin embargo los otros dos tratamientos no fueron significativas sus correlaciones.

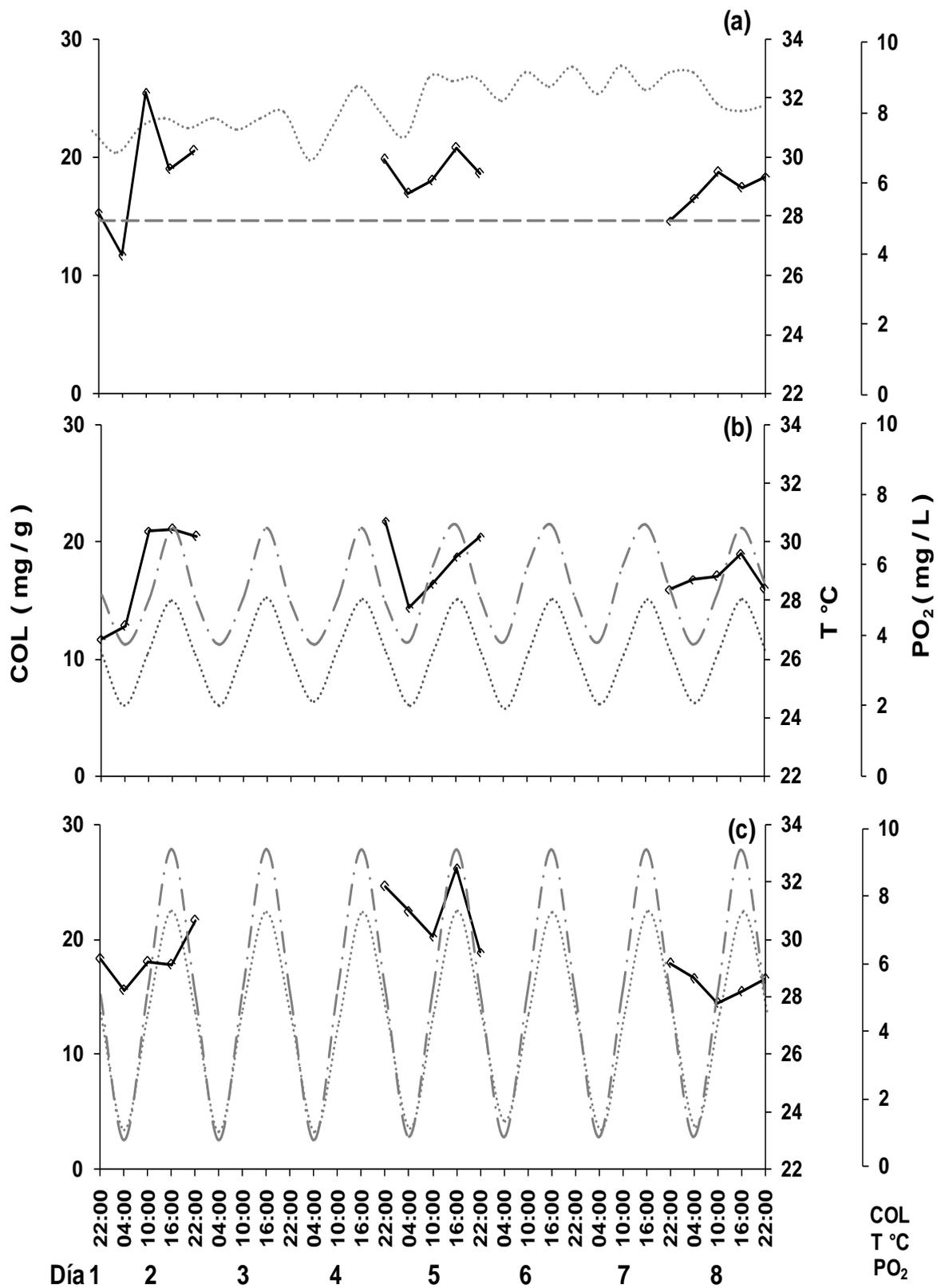


Figura 37. Niveles de colesterol (COL) en músculo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.3.7. Triglicéridos

En la Figura 38 y Tabla 14, se muestra la variación por hora y día de triglicéridos en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 38a) el valor promedio en el primer día a las fue de 14.88 ± 2.27 mg/g, se puede observar un decremento significativo en la concentración al inicio del último día de 12.72 ± 0.63 mg/g, para incrementarse al final del tratamiento con 14.30 ± 0.90 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 38b), el valor promedio de triglicéridos fue de 13.90 ± 2.03 mg/g al inicio de la fase experimental, para finalizar la fase experimental el valor promedio es 12.72 ± 1.23 mg/g.

En el tratamiento 3 (Figura 38c), los niveles en la concentración de triglicéridos en el músculo en el primer día presentaron valores promedios de 16.51 ± 1.04 mg/g, observándose un incremento significativo durante el primer día de 20.59 ± 6.95 , para después decrecer y finalizar con un valor de 14.75 ± 1.07 mg/g.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y los niveles de concentración de los triglicéridos encontrados en el músculo no fueron significativas en los tratamientos.

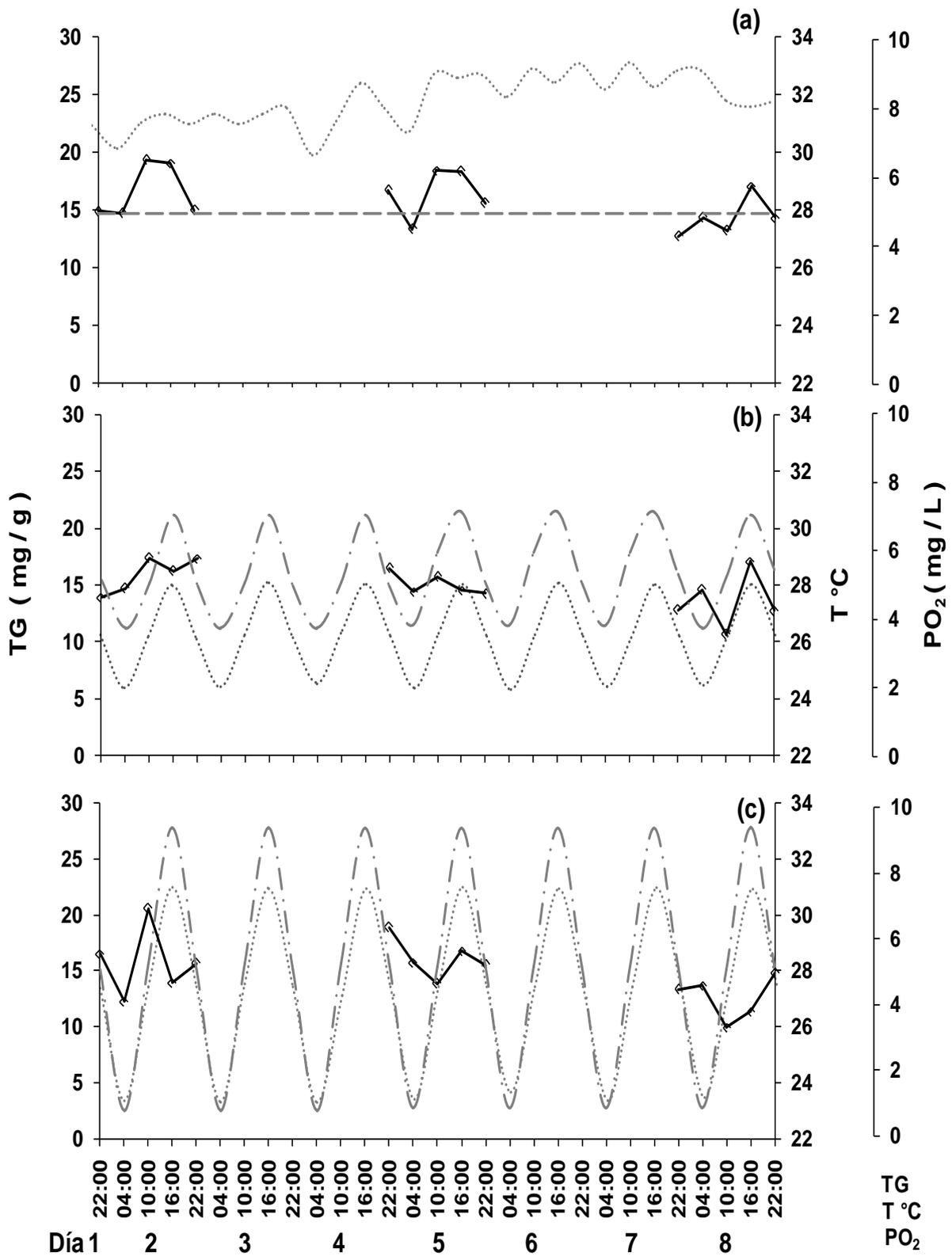


Figura 38. Niveles de triglicéridos (TG) en músculo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T °C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

VII.4.3.8. Lactato

En la Figura 39 y Tabla 14, se muestra la variación por hora y día de lactato en los tratamientos. En el tratamiento 1 (Figura 39a) el valor promedio en el primer día fue de 4.28 ± 1.06 mg/g, se puede observar incremento significativo en el quinto día de 7.62 ± 0.92 mg/g para regresar a su nivel al final de la fase experimental con una concentración de 4.16 ± 1.42 mg/g.

En el tratamiento 2 (Figura 39b), el valor promedio de lactato fue de 4.19 ± 0.17 mg/g al inicio de la fase experimental, se puede observar incremento significativo durante todo el quinto día obteniendo una concentración máxima de 7.22 ± 0.35 mg/g para retornar a los niveles al final de la fase experimental con una concentración de 4.43 ± 1.02 mg/g.

En el tratamiento 3 (Figura 39c), los niveles en la concentración de lactato del músculo en el primer día presentaron valores promedios de 5.64 ± 0.24 mg/g, se puede observar incremento significativo durante todo el quinto día obteniendo una concentración máxima de 6.60 ± 1.44 mg/g, para disminuir los niveles al final de la fase experimental a 4.00 ± 0.67 mg/g.

La correlación entre la concentración de oxígeno en el agua y la concentración del lactato en el músculo fueron significativas ($p < 0.05$) de 0.4 en el tratamiento 1 y de 0.3 para el tratamiento 3.

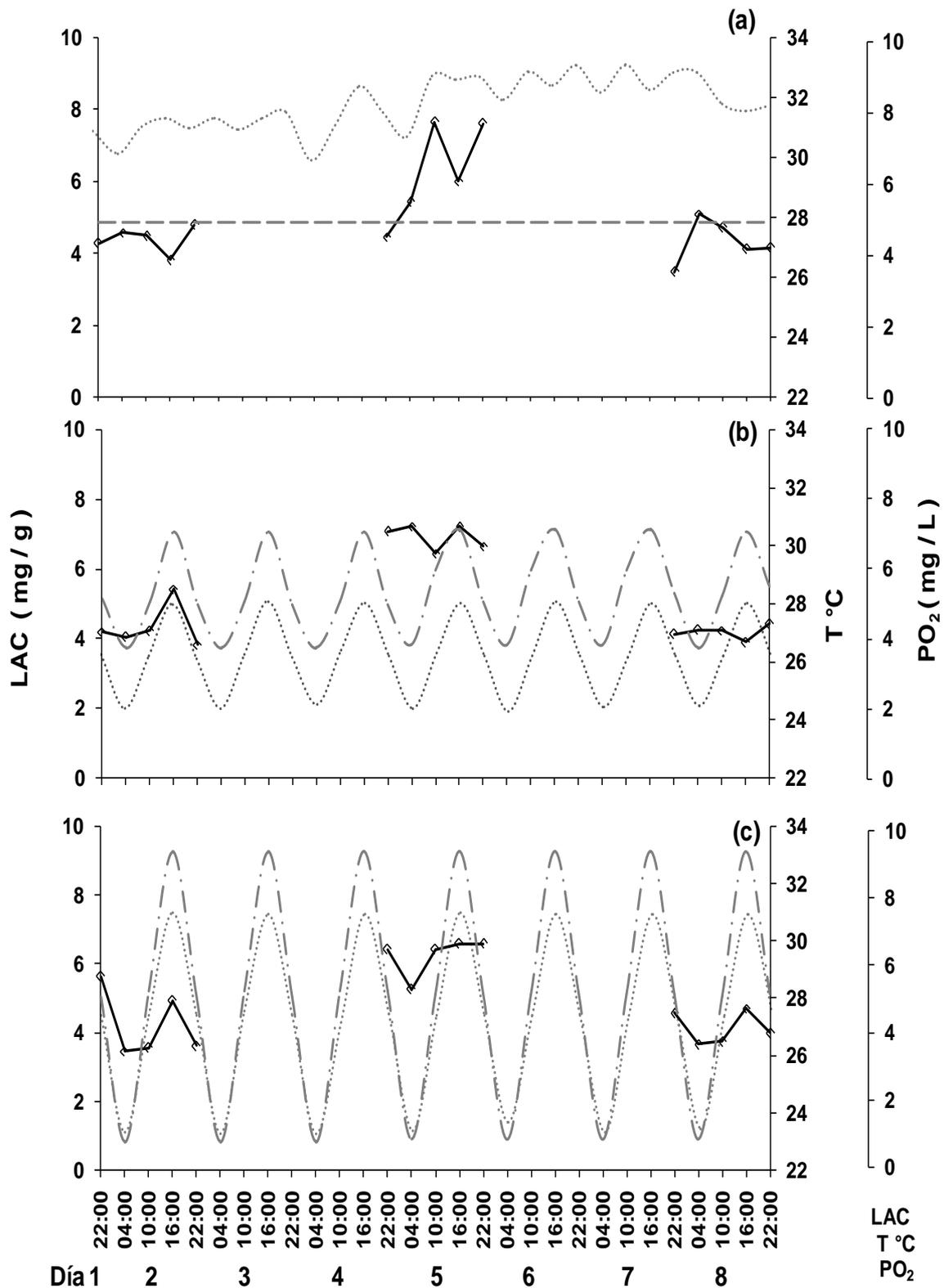


Figura 39. Niveles de lactato (LAC) en músculo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura ($T^{\circ}\text{C}$) y oxígeno (PO_2). (a) Tratamiento 1, control (28°C y $8 \pm 0.7 \text{mg/L}$); (b) Tratamiento 2, ($26\text{-}30^{\circ}\text{C}$ y $3\text{-}5 \text{mg/L}$); (c) Tratamiento 3, ($23\text{-}33^{\circ}\text{C}$ y $1\text{-}7.5 \text{mg/L}$). Media \pm desviación estándar, $n = 6$.

VII.7. Inmunológicos

VII.7.1. Peroxidación de Lípidos

No se presento evidencias de Peroxidación de lípidos en los hemocitos analizados en los tratamientos 1 y 3.

VII.7.2. Proteínas

La concentración de las proteínas en los hemocitos (Figura 47), presento un patrón similar en los dos tratamientos. En el tratamiento 3 la concentración de proteínas en los hemocitos es mayor al inicio con 9.9 ± 0.44 mg/ml pero en las siguientes horas son significativamente menor que en el tratamiento 1, sin embargo al final los niveles son similares en ambos tratamientos.

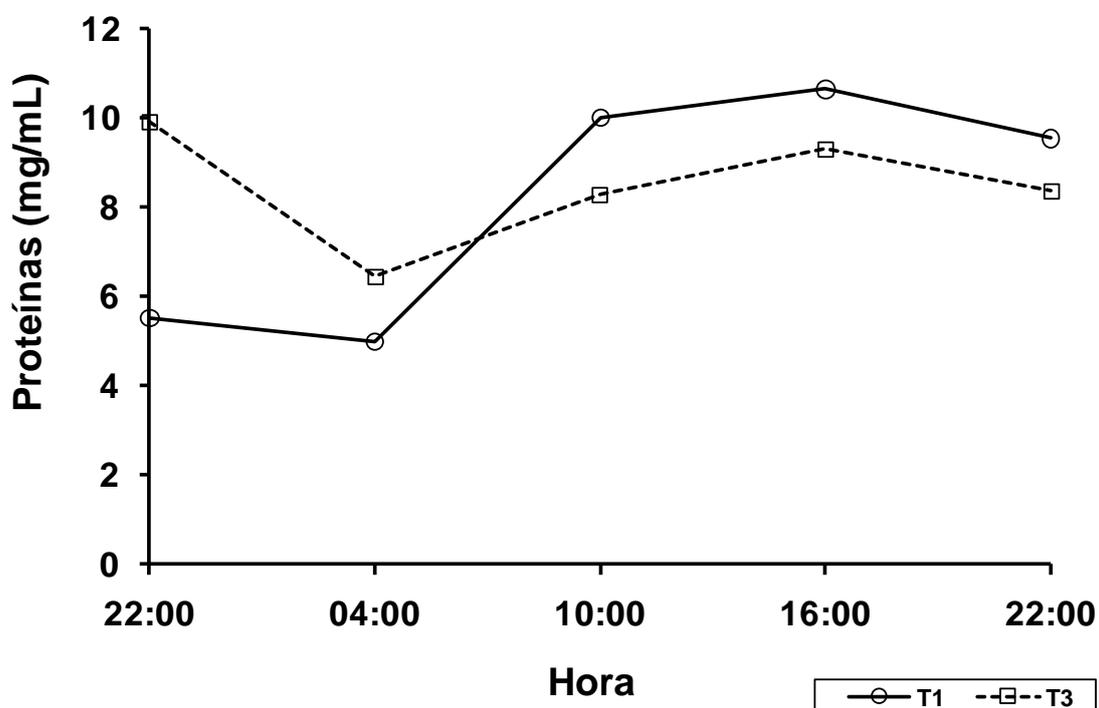


Figura 40. Niveles de proteínas en hemocitos del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en los tratamientos donde oscilaron la temperatura ($T^{\circ}C$) y oxígeno (PO_2). (Línea continua) Tratamiento 1, control ($28^{\circ}C$ y 8 ± 0.7 mg/L; (Línea discontinua) Tratamiento 3, ($23-33^{\circ}C$ y $1-7.5$ mg/L).

VII.7.3. Catalasa

La concentración de la catalasa en los hemocitos (Figura 48), presentan un patrón similar en los dos tratamientos. En el tratamiento 1 la concentración es mayor al inicio con 181.88 ± 0.024 UCAT/mg en comparación con los 101.46 ± 0.01 UCAT/mg, pero en las siguientes horas son significativamente menor que en el tratamiento 3.

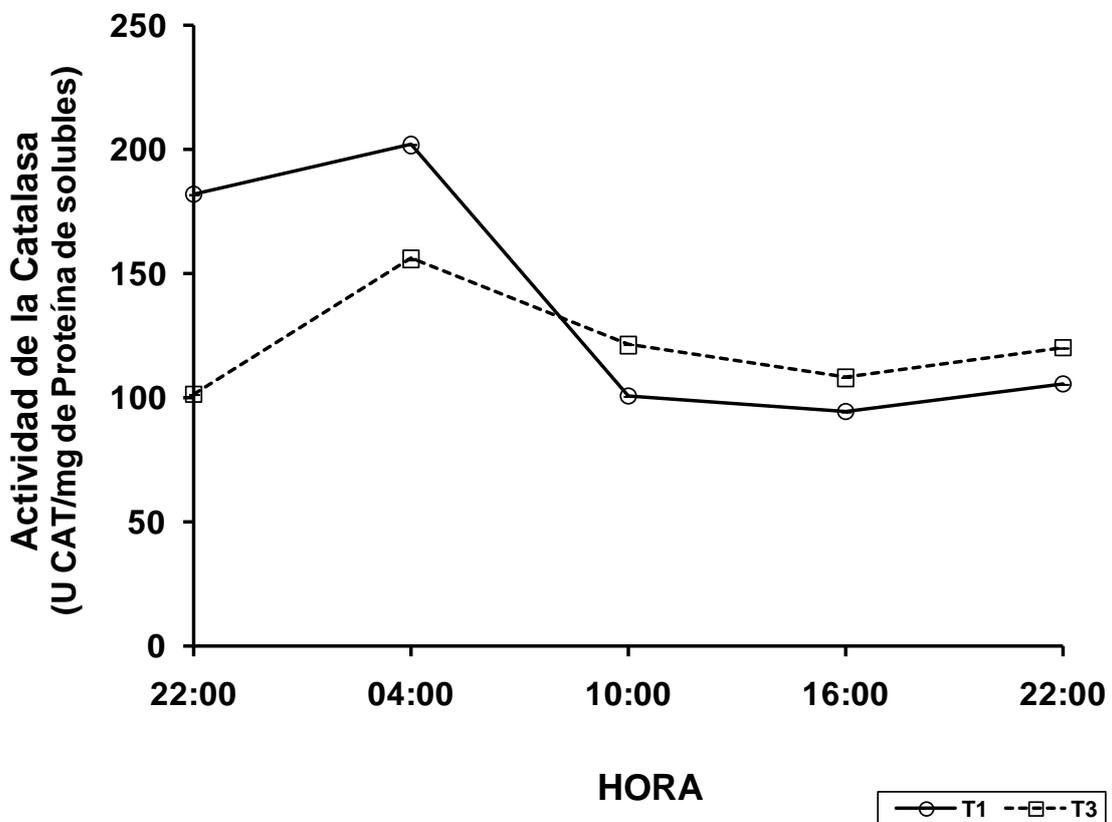


Figura 41. Niveles de catalasa en hemocitos del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en los tratamientos donde oscilaron la temperatura ($T^{\circ}\text{C}$) y oxígeno (PO_2). (Línea continua) Tratamiento 1, control (28°C y $8 \pm 0.7 \text{mg/L}$); (Línea discontinua) Tratamiento 3, ($23\text{-}33^{\circ}\text{C}$ y $1\text{-}7.5 \text{mg/L}$).

VII.7.4. Glutación Transferasa (GST)

No se presento evidencias de Glutación Transferasa en los hemocitos analizados en los tratamientos 1 y 3.

VII.7.5. Superóxido Dismutasa (SOD)

La concentración del Superóxido Dismutasa en los hemocitos (Figura 55), presentan un patrón similar en los dos tratamientos. En el tratamiento 3 la concentración es mayor al inicio con 31.1 U SOD/mg en comparación con los 23.3 U SOD/mg, pero para finalizar se disminuye la concentración del SOD en el tratamiento 3 a 15.8 U SOD/mg en comparación con los 26.5 U SOD/mg del tratamiento 1.

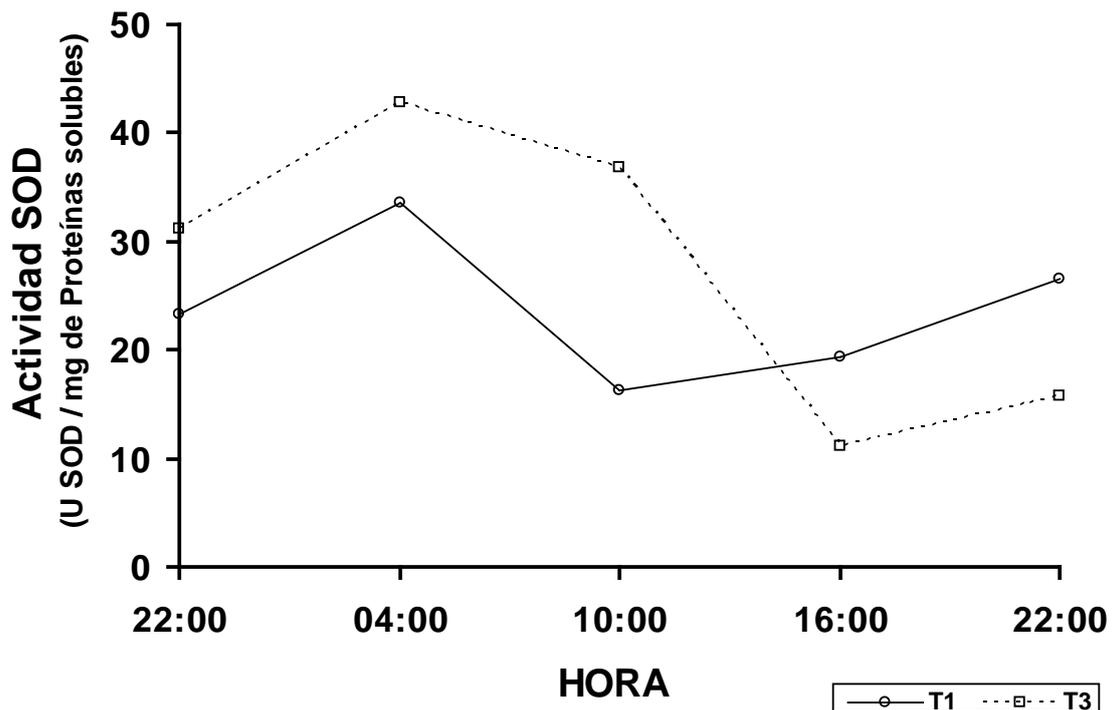


Figura 42. Niveles de superóxido dismutasa (SOD) en hemocitos del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en los tratamientos donde oscilaron la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (Línea continua) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L; (Línea discontinua) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L).

VII. Discusiones

VII.1. Tasas Fisiológicas

En el presente estudio, la tasa de ingestión, la eficiencia de absorción y la tasa de absorción en los juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, expuestos a las oscilaciones de temperatura y concentración de oxígeno en el agua no se vieron afectadas durante los días en que duró la fase experimental de tratamientos, a pesar de que en el tratamiento 3, las concentraciones de oxígeno fueron muy bajas (1 mg L^{-1}) durante las primeras horas de la madrugada. Los organismos, tuvieron la capacidad de acondicionarse al medio modulando su ingesta, absorción y asimilación.

La concentración del oxígeno disuelto, es un factor limitante ya que las reacciones bioquímicas del organismo están controlados por el nivel de oxígeno disponible, que es esencial para el metabolismo aeróbico (Neill, 1989). Así como, la temperatura es el factor ambiental más importante en la vida de cualquier organismo, los ajustes bioquímicos o fisiológicos que ocurran en cualquier adaptación, dependerán de reacciones metabólicas que involucren enzimas dependientes que permitan su desarrollo (Alpuche, *et al.* 2005).

El consumo de oxígeno en los juveniles del camarón en el presente estudio, presentaron un patrón similar a las variaciones de temperatura y concentración de oxígeno disuelto de los tratamientos realizados. En el tratamiento 2, se observó un incremento abrupto en el consumo de oxígeno por los camarones durante el segundo día. Este mismo patrón continúa hasta el cuarto día, después presenta una tendencia a la estabilización, al parecer el organismo se adapta fisiológicamente a estas condiciones, reduciendo y estabilizando gradualmente su metabolismo.

En el tratamiento 3, el consumo de oxígeno fue el doble que en el anterior en el segundo día. Este incremento en el consumo de oxígeno de los organismos se puede deber a una respuesta para compensar la deuda de oxígeno que se presentó horas antes, periodo de menor concentración de oxígeno disuelto, esto es similar a lo reportado por Herreid (1980). En

comparación con el tratamiento 1 en el cual los camarones continúan con el mismo patrón de consumo de oxígeno durante todo el experimento, mientras que en el tratamiento 3, la concentración del oxígeno en el agua fue extremadamente crítica llegando a condiciones de hipoxia, aunado a las temperaturas bajas (23°C), por lo cual los organismos redujeron su metabolismo y por ende el consumo de oxígeno, con la finalidad de mantener las funciones básicas y asegurar su sobrevivencia. Se han encontrado trabajos de los efectos a bajas concentraciones de oxígeno sobre camarones, donde se ha reportado rangos letales entre 0.2 a 1.0 mg L⁻¹ para diferentes especies como *Penaeus japonicus*, *P. schmitti*, *P. monodon* y *P. vannamei* (Egusa, 1961; Mackay, 1974; Liao y Huang, 1975; Hopkins *et al.*, 1991). En otros trabajos se reportan niveles sub-letales en la concentración de oxígeno los cuales pueden afectar de forma negativa el crecimiento, alimentación, frecuencia de muda y metabolismo (Seidman y Lawrence, 1985; Clark, 1986; Chang y Ouyang, 1988; Racotta *et al.*, 2002). Estos trabajos contrastan en el presente estudio porque las condiciones experimentales reportados fueron constantes. A pesar de que en este estudio la concentración de oxígeno disuelto en el agua presentó niveles letales (tratamiento 3), no se presentó mortalidad en los organismos y se observó un aumento en la biomasa.

Los estudios, donde se han evaluado la tasa de ingestión, eficiencia de absorción y tasa de absorción, comprende la respuesta ante diferentes dietas experimentales (Rosas, *et al.*, 1998; Sánchez, *et al.*, 2001; Rosas, *et al.*, 2001; Rosas, *et al.*, 2002; Pascual, *et al.*, 2004), bajo condiciones ambientales controladas por lo tanto los resultados obtenidos en este trabajo no pueden ser comparados con estos trabajos.

Las investigaciones que se han realizado sobre la concentración de oxígeno se han llevado a cabo en concentraciones de oxígeno disuelto y temperaturas fijas. El único estudio del que se tiene conocimiento sobre el efecto de la oscilación de oxígeno disuelto sobre la tasa respiratoria rutinaria del camarón blanco a diferentes temperaturas estables, es el de Puente-Carreón (datos no publicados). Encontró que la tasa de consumo de oxígeno sigue en general el patrón de oscilación de oxígeno disuelto, obteniéndose

menores tasas a temperaturas más bajas. Este mismo comportamiento se encontró en el presente trabajo. No se han reportado trabajos de la respuesta fisiológica del camarón en condiciones oscilantes de estos parámetros simultáneamente en 24 h y por siete días de duración, este trabajo es pionero en juveniles de camarón blanco *L. vannamei*.

VII.2. Relación O:N

En este estudio los resultados obtenidos de la relación O:N mostraron que el sustrato energético utilizado en los tres tratamientos y durante la mayor parte de la fase experimental fueron las proteínas, ya que los valores de O:N se mantuvieron entre 3 y 16, que coincide con lo reportados por Regnault (1979 y 1981, citado por Rosas, *et al.* 1999), los cuales concluyeron que en camarones peneidos, las proteínas son utilizadas como la principal fuente de energía. Sin embargo, son pocos los estudios donde reportan la relación del O:N, estos trabajos se enfocan principalmente a la nutrición, en donde determinan el nivel de proteínas de dietas experimentales para determinar el mejor requerimiento energético y nutricional en las postlarvas de diferentes especies de peneidos, *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* y *P. notialis* (Rosas, *et al.*, 1996a; Rosas, *et al.*, 1999; Rosas, *et al.*, 1996b; Rosas, *et al.*, 2001). En este trabajo la cantidad de proteína en la dieta fue adecuado, de tal manera que los organismos no cambiaron la relación O:N en los tres tratamientos.

VII.3. Balance Energético

El balance energético cuantifica los intercambios y transformaciones de energía entre los camarones y el ambiente (Rosas, *et al.* 2003). Los resultados del balance energético obtenidos en este estudio, durante la oscilación de la temperatura y del oxígeno disuelto, mostraron que no fueron diferentes entre los tratamientos. En general, la energía disponible para el crecimiento fue positiva en los tratamientos, traduciéndose en un incremento en la biomasa de los camarones. Los juveniles del camarón al inicio de la fase experimental presentaron una biomasa húmeda promedio en el tratamiento 1 de 3.04 ± 0.3 g, en el tratamiento 2 de 3.06 ± 0.2 g y el tratamiento 3 de 3.33 ± 0.03 g, al final de la fase experimental los organismos aumentaron su peso inicial en $8.54 \pm 0.66\%$, $10.03 \pm 3.08\%$ y $9.02 \pm 2.29\%$ respectivamente. Estos valores no

fueron significativamente diferentes. Sicard (2006), trabajo con bivalvos, encontró que los organismos sometidos a temperaturas variables oscilantes, incrementaron su biomasa en comparación a los sometidos a temperaturas estables. En nuestro trabajo, aunque la energía disponible para el crecimiento no presentaron diferencias significativas entre los tres tratamientos, se pudo observar en el tratamiento 2, que el balance energético fue de 205 J/g/h, reflejándose en un mayor incremento promedio en biomasa, donde las oscilaciones del oxígeno disuelto y la temperatura no fueron tan drásticas como las del tratamiento 3 donde la energía disponible fue menor que en la anterior (165 J/g/h) así como un menor incremento en la biomasa, sin embargo, por el corto tiempo en que fue realizado nuestro experimento no se alcanzó a observar si esta tendencia se prolongaría y así encontrar diferencias entre los tratamientos. Las respuestas fisiológicas de los camarones en este trabajo, nos muestran la gran capacidad que estos organismos tienen para regular eficientemente su metabolismo en condiciones ambientales adversas, canalizando la energía disponible para satisfacer otras demandas, de acuerdo a las variaciones en los parámetros y también utilizar energía para la producción de tejido. Rosas, *et al.*, (2001), encontraron que *L. vannamei*, tiene una alta capacidad para utilizar la relación proteína/energía en la dieta para su crecimiento, y mencionan que puede ser debido a su baja necesidad de energía. Este trabajo se realizó en postlarvas y en condiciones estables sin variaciones en la temperatura y oxígeno. Por lo que es difícil de comparar debido a que en este trabajo se realizó con organismos juveniles y de mayor peso, dado que su metabolismo y fisiología es diferente a los de las postlarvas, las cuales tienen un mayor metabolismo, debido a que en esta fase, el crecimiento es más acelerado y por lo cual el requerimiento energético es para la producción de nuevo tejido.

De igual forma en los diferentes estudios que se han realizado con respecto al balance energético la gran mayoría los han llevado a cabo para determinar la dieta adecuada para el cultivo de las diferentes especies de peneidos (*L. setiferus*, *L. vannamei* y *L. stylirostris*) en estadios tempranos de larvas y postlarvas (Kurmaly *et al.* 1989a y b; Rosas, 1996; Rosas, *et al.*, 1998b; Rosas, *et al.*, 2001; Rosas, *et al.*, 2003a,b; Brito, *et al.*, 2004; Pascual,

et al., 2004; Rosas, *et al.*, 2004; Saoud y Anderson, 2004; Rosas, *et al.*,) y son escasos los estudios realizados en juveniles (Rosas, *et al.* 1998; Pascual, *et al.* 2004). Después de la revisión de diferentes trabajos, no se han realizado trabajos como el presentado en este documento en juveniles de camarón blanco, esto se puede deber a la falta del equipo adecuado como es el SITMA que se encuentra en el laboratorio Ecofisiología de organismos marinos del CIBNOR, con el cual se llevo a cabo las oscilaciones de la temperatura. Además, se realizaron unas modificaciones al sistema para inyectar el nitrógeno gaseoso y poder conjuntar así, las oscilaciones en la concentración de oxígeno disuelto, en los tres tratamientos al mismo tiempo y realizarlo las 24h durante 8 días, lo que permitió conocer las respuestas fisiológicas y metabólicas de los camarones sometidos a condiciones semejantes a las que se encuentran en los estanques de cultivo en el Noroeste de nuestro país.

VII.4. Composición Bioquímica

VII.4.1. Carbohidratos

Los carbohidratos son una fuente de energía inmediata para los camarones y estos son tomados de la dieta. Como se puede ver en este trabajo, en los tres tratamientos las variaciones en las concentraciones de los carbohidratos en hepatopáncreas y en la hemolinfa presentaron un incremento cuando fueron alimentados y disminuyeron a las 6 h (ver anexo I) posteriores del suministro del alimento, patrones similares lo reportan para juveniles de *L. vannamei*, *L. setiferus* y *L. stylirostris* (Cousin, 1995; Rosas, *et al.*, 2000; Rosas, *et al.*, 2001; Rosas, *et al.*, 2002; Sánchez-Paz, *et al.*, 2007). Este patrón entre los carbohidratos del hepatopáncreas y la hemolinfa, se debe a que el hepatopáncreas es el órgano donde se lleva a cabo la degradación bioquímica, absorción y almacenamiento de los nutrientes contenidos en el alimento y de ahí son transferidos al torrente sanguíneo manifestándose así, en la hemolinfa.

Los niveles de los carbohidratos en la hemolinfa, son más elevados en el tratamiento 3. Sin embargo, en hepatopáncreas los valores encontrados fueron en forma inversa, ya que encontramos el menor valor en el tratamiento 3, lo cual puede explicar, que existe una trasferencia de los carbohidratos a la hemolinfa para los organismos mantenidos en este tratamiento. Los autores

Mercier, *et al.* (2006), reportaron en su trabajo las respuestas metabólicas de juveniles de camarón blanco *L. vannamei*, estos autores reportaron los niveles de carbohidratos en hepatopáncreas de $91.3 \pm 10.0 \text{ mg g}^{-1}$ para el grupo control y de $56.3 \pm 4.9 \text{ mg g}^{-1}$ para el grupo organismos sujetos a estrés por manipulación. Los niveles de carbohidratos encontrados en este trabajo son similares al grupo sometidos a estrés, en los tres tratamientos (Tabla 9). Esto nos puede indicar, que posiblemente los camarones presentaron estrés, debido al manejo en los muestreos, dado que requirieron de un mayor aporte de energía producida por los carbohidratos destinada a los músculos para moverse más rápido y no ser capturados, reflejándose así, en un incremento en los niveles de la concentración de los carbohidratos en la hemolinfa y la posible disminución en hepatopáncreas. Además, se observó que al finalizar la fase experimental, los niveles de los carbohidratos en el músculo se incrementaron en el tratamiento 3, posiblemente este incremento se debe a que los organismos, requieren mayor energía para regular su metabolismo para las condiciones ambientales extremas a las que fueron expuestos en comparación con los otros dos tratamientos.

VII.4.2. Glucosa

La glucosa es el mayor componente de circulación de los carbohidratos en los crustáceos, pero su concentración varía notablemente entre especies (Chang y O'Connor, 1983). Las variaciones observadas en la concentración de la glucosa en la hemolinfa de los camarones expuestos a las oscilaciones en la concentración del oxígeno disuelto y de la temperatura, reflejaron mayor variación en el día 5 (ver Anexo IV), obteniendo los valores más altos. Estos valores son similares a los reportados por Mercier, *et al.*, (2006), para la misma especie sometidos a estrés crónico. Se sabe que se incrementan los niveles en la concentración de la glucosa en la hemolinfa en los camarones que son sometidos a estrés (Racotta y Palacios, 1998). Sin embargo, al finalizar la fase experimental de nuestro trabajo se observó que los niveles en la concentración de la glucosa en la hemolinfa disminuyeron, esto puede dar un indicio que los organismos compensaron su metabolismo para regular su respuesta fisiológica a las condiciones ambientales a las que fueron expuestos. Esto se ve reflejado en los niveles en la concentración promedio de glucosa en la hemolinfa entre

los tratamientos (ver Tabla 9), los valores son similares a los reportados por Mercier, *et al.*, (2006), que reportaron para *L. vannamei*, un valor de $0.085 \pm 0.0.6 \text{ mg ml}^{-1}$ para la población de camarones que no fueron sometidos a estrés y mantenidos en condiciones estables. Por otro lado en hepatopáncreas, los niveles en la concentración de la glucosa se incrementaron significativamente en el tratamiento 3 y se observó una disminución en los niveles de la glucosa en el músculo en el tratamiento 2 y 3. El aumento en los niveles de la concentración de la glucosa en hepatopáncreas fue reportado por Rosas, *et al.* (2000) en *L. stylirostris*, Cousin (1995) en *L.vannamei* y *L. stylirostris*, y Rosas, *et al.* (1995b, 1996) en *L.setiferus*. La disminución en los niveles en la concentración de la glucosa en el músculo puede ser debido a la necesidad de utilizar energía inmediata para poder mantenerse a las condiciones oscilantes en la concentración de oxígeno y de temperatura a las cuales estuvieron sometidos los organismos.

VII.4.3. Glucógeno

En los crustáceos decápodos el glucógeno es la molécula de almacenamiento de los carbohidratos, y en hepatopáncreas es donde se acumula principalmente (Gibson, 1979; Loret, 1993). De acuerdo con numerosos autores el glucógeno en crustáceos es el precursor para la síntesis de quitina (Abdel-Rahman, 1979; Cuzon, *et al.*, 2000; Loret, 1993; Osmondi y Stark, 1996; Rosas, *et al.*, 1995; Sánchez, A., 1991). En nuestro trabajo no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de este componente bioquímico en hepatopáncreas y músculo, lo que refleja que los organismos no utilizaron la energía de reserva durante la fase experimental, debido a que se encontraban en fase de intermuda.

VII.4.4. Lactato

El lactato es el producto final de la glucólisis después de la reducción del piruvato por el NADH, (Hochachka, P.W., 1970). Los resultados que se obtuvieron en las concentraciones de lactato en la hemolinfa fueron muy variables en el tratamiento 2 y 3 durante los horas por días de la fase experimental (ver Anexo VII), alcanzando niveles de 0.3 mg ml^{-1} para el quinto día en el tratamiento 2 y en el último día para el tratamiento 3, lo que indica que

los organismos se encontraban estresados, en contraste con los del tratamiento 1. Estos valores son similares a los reportan Racotta y Palacios, (1998), para camarones sometidos a estrés. Sin embargo, entre tratamientos los valores promedios obtenidos en la concentración del lactato en la hemolinfa no fueron diferentes significativamente y los valores resultantes son similares ($0.11 \pm 0.10 \text{ mg ml}^{-1}$) a los reportados por Rosas *et al.* (2002) que proponen como referencia para un buen estado nutricional de juveniles de camarón blanco *L. vannamei*. Con base a lo anterior podemos sugerir los camarones sometidos a las oscilaciones en la concentración de oxígeno y temperatura se encuentran dentro de los valores normales para la concentración del lactato en la hemolinfa.

En varias especies de crustáceos el lactato se incrementa en el músculo en situaciones de trabajo (Henry, *et al.*, 1994). La producción de energía anaeróbica para la actividad muscular alta se caracteriza por una acumulación en los niveles en la concentración de lactato en el músculo y su liberación a la hemolinfa (Aparicio-Simón, *et al.*, 2009). Como se pudo observar en el presente trabajo, en el quinto día de la fase experimental, los niveles del lactato se incrementaron en los organismos, y en el último día regresaron a los niveles iniciales. En músculo las concentraciones del lactato entre los tratamientos no fueron diferentes significativamente, este mismo patrón lo reportaron Aparicio-Simón, *et al.* (2009), para la misma especie expuesta a un estrés agudo por manejo. En su trabajo hace mención de tres rutas de eliminación del exceso de lactato en el músculo a través de la hemolinfa, son: la excreción, la oxidación completa, y la conversión de nuevo a sustratos anaeróbicos, mediante la gluconeogénesis (Ellington, 1983). Con base a lo anterior, se pudo observar que los juveniles de camarón blanco *L. vannamei*, utilizaron alguna de las tres rutas con éxito ya que no se acumuló el lactato en el músculo.

VII.4.5. Proteínas

Las variaciones en la concentración de las proteínas en la hemolinfa mostraron diferencias significativas entre los días de cada tratamiento. Las proteínas son nutrientes esenciales para los camarones dado que son básicas para el crecimiento (Andrew *et al.*, 1972, Djangmah 1970) y para la

gluconeogénesis (Rosas *et al.*, 2001, Rosas *et al.*, 2002) y el sistema inmune (Pascual, *et al.*, 2002; Sánchez, *et al.*, 2001). Los valores promedios de la concentración de las proteínas en la hemolinfa que se encontraron en el presente trabajo en los tres tratamientos (ver Tabla 9), son similares a los reportados por Racotta y Palacios, (1998) de 100 mg ml^{-1} ; Rosas, *et al.*, (2002), de $93 \pm 17 \text{ mg ml}^{-1}$ y Mercier, *et al.*, (2006) $90.8 \pm 5.5 \text{ mg ml}^{-1}$, para juveniles de camarón *L. vannamei*, alimentados con dietas convencionales con 35% de proteína y mantenidos en tanques experimentales en el laboratorio. Los datos reportados por estos autores sugieren que pueden ser utilizados como buenos indicadores del estado fisiológico general de los camarones incluyendo el nutricional y el de salud (Rosas, *et al.*, 2002). Considerando que en el presente trabajo se observaron fluctuaciones del contenido de proteínas, es difícil de establecer un patrón de respuesta a lo largo del experimento, por lo que basándonos en esto, se puede decir, que los organismos que estuvieron sometidos a las condiciones de oscilaciones, regularon su metabolismo y mantuvieron condiciones fisiológicas semejantes a los organismos del tratamiento 1.

En contraste, se observó un decremento de los niveles de proteína en hepatopáncreas y en el músculo. Este patrón se ha reportado para los mismo tejidos en juveniles de 10 g en *L. vannamei*, sometidos a estrés por manejo continuo (Mercier, *et al.*, 2006). Esta disminución en la concentración de las proteínas fue más evidente en el tratamiento 3. La habilidad de los camarones para utilizar las proteínas como fuente de energía está estrechamente relacionada con la actividad enzimática del hepatopáncreas (Quetin, *et al.*, 1980; Dall y Smith, 1986; Lovett y Felder, 1990). Las necesidades energéticas de los camarones sometidos a las condiciones extremas, pudieron ser suministradas a través de las proteínas de estos tejidos, por tal razón las concentraciones fueron menores.

VII.4.6. Lípidos

Los camarones son organismos con un contenido bajo de lípidos, representando menos del 2% de su peso corporal, los fosfolípidos constituyen más del 50% de los lípidos totales y son principalmente constituyentes de

membranas celulares (Gong, *et al.*, 2004). En el presente estudio las variaciones en la concentración de los lípidos en la hemolinfa y en el músculo no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos. En contraste con los lípidos del hepatopáncreas que se incrementaron significativamente en el tratamiento 2 y 3. Mercier, *et al.*, (2006), reportaron que los lípidos totales para el grupo control fue de $198 \pm 36.7 \text{ mg g}^{-1}$ para *L. vannamei*, siendo este valor semejante al que encontramos en los organismos en el tratamiento 1 en condiciones estables. Estos autores reportaron que los valores se incrementaron ($348 \pm 49.0 \text{ mg g}^{-1}$) en el grupo de organismos que fueron sometidos a estrés, este mismo comportamiento se presentó en los camarones del tratamiento 2 y 3. Estos autores explican que puede ser debido a una disrupción en el metabolismo lipídico de este órgano ocasionado por el estrés. Gong, *et al.*, (2003) reportaron para la misma especie, un comportamiento similar además de que observaron una disminución de los lípidos totales en el músculo, indicaron que los fosfolípidos facilitan la utilización de lípidos en músculo y su almacenamiento en hepatopáncreas. Es de suma importancia para los camarones mantener una provisión suficiente de energía en hepatopáncreas, que son expuestos a condiciones extremas como son la hipoxia, el estrés térmico, mudas frecuentes, etc., cuando la ingestión normal del alimento puede ser interrumpida (Gong, *et al.*, 2004). Con base a lo anterior y a las condiciones a las que estuvieron expuestos los juveniles del camarón blanco en el presente trabajo, esta puede ser la explicación para el incremento de los lípidos totales en los tratamientos 2 y 3.

VII.4.7. Triglicéridos

Los triglicéridos o grasas neutras, predominan en el hepatopáncreas y en el ovario, son indispensables para proveer de energía al camarón (Bray *et al.* 1990). Los triglicéridos, contienen más energía que los carbohidratos y las proteínas (Newsholme y Leecha, 1983). Los niveles en la concentración de los triglicéridos en la hemolinfa no presentaron diferencias significativas, en contraste, en hepatopáncreas los triglicéridos se incrementaron significativamente en el tratamiento 2 y 3, sin embargo en el músculo los niveles disminuyeron significativamente en el tratamiento 3. Lo que sugiere que los triglicéridos son utilizados como fuente de energía, en donde la

variación ambiental fue más crítica y la temperatura más elevada (33°C), como se sabe, el metabolismo se incrementa y se utiliza más energía, por lo tanto el aumento de triglicéridos en el hepatopáncreas favoreció su almacenamiento.

VII.4.8. Colesterol

El colesterol como los fosfolípidos forman parte de la estructura de membranas celulares, en el transporte de lípidos mediante lipoproteínas y, en el caso del colesterol, este es precursor de la vitamina D y de hormonas esteroidales, necesarias para la reproducción (Teshima, 1982; Cahu y Quazuguel, 1989). En el presente trabajo se observó que los niveles en la concentración del colesterol en la hemolinfa fue mayor en el tratamiento 2 y 3. Los valores obtenidos son más altos que los reportados para los camarones del grupo de camarones sometidos a estrés por manejo dado por los autores Mercier, *et al.* (2006). En el músculo en el tratamiento 2 es significativamente menor que el tratamiento 3. No se encontraron referencias que reporten valores comparables para los niveles en la concentración del colesterol en estos tejidos.

VII.5. Inmunológicos

La superóxido dismutasa es la primera defensa antioxidante en respuesta a estrés (Fridovich, 1995, dentro de Campa, 2002). La enzima catalasa sirve de protección a la células contra los efectos tóxicos del peróxido de oxígeno, ya que cataliza la descomposición de ésta molécula a O₂ molecular y agua, sin producir radicales libres (Aebi, 1984). En nuestro trabajo se puede observar que en el tratamiento 3 comparado con el tratamiento 1, que los niveles en la concentración de las proteínas en la hemolinfa disminuyeron en las primeras horas del día (4:00 h), y los niveles de superóxido dismutasa y la catalasa se incrementaron. Lo anterior se puede deber, a que los juveniles de camarón blanco pudieron utilizar las proteínas como sustrato energético, durante las horas más estresantes por las condiciones ambientales. Sin embargo, la mayor actividad enzimática de superóxido dismutasa y en menor grado la catalasa, se presentaron en el tratamiento 3, donde los parámetros ambientales son los más variables (PO₂ 1mg/L y T 23 °C) durante las primeras

horas del día y los organismos estuvieron expuestos a estas condiciones estresantes. La actividad de ambas enzimas disminuyó y se mantuvo con niveles de actividad menor al finalizar la fase experimental (2:00 del día 8). Mercier, *et al.* (2006), reportaron para la misma especie, en su trabajo que los organismos sometidos a estrés crónicos no presentaron cambio significativo en la actividad de la superóxido dismutasa en hepatopáncreas y, la producción de anión superóxido en hemolinfa, indicaron que el balance oxidante-antioxidante en los camarones no fue alterado significativamente a pesar del estrés aplicado. Lui y Chen (2004) reportaron un decremento de la actividad de esta enzima después de la exposición de *L. vannamei* a concentraciones altas de amonio. En el presente trabajo, no se observó un efecto de las oscilaciones en la concentración del oxígeno disuelto y la temperatura sobre la actividad enzimáticas de la superóxido dismutasa y catalasa en los hemocitos, lo que indica que el balance antioxidante en los camarones no fue alterado a pesar de las condiciones ambientales a las que fueron expuestos.

VIII. Conclusiones

1. En este trabajo la tasa de ingestión, la eficiencia de absorción y la tasa de absorción en los juveniles de camarón blanco *Litopenaues vannamei*, sometidos a oscilaciones en la temperatura y concentración de oxígeno no fueron afectadas durante la fase experimental.
1. La tasa respiratoria que presentaron los organismos siguió el patrón de comportamiento de la temperatura y concentración de oxígeno durante los días de experimentación.
2. La relación de O:N obtenida en este trabajo, demostró que los juveniles del camarón usan las proteínas como fuente principal de energía metabólica.
3. El balance energético de los juveniles del camarón blanco, fue positivo incrementando la biomasa en los tres tratamientos. Como se demostró en uno de ellos sugiriendo que las condiciones de oscilantes de temperatura y concentración de oxígeno, favorece la ganancia en peso en periodos cortos como los de este trabajo.
4. Los juveniles de camarón blanco. *L. vannamei* sometido a condiciones oscilantes de oxígeno disuelto y temperatura durante 7 días, compensaron su metabolismo y fisiología.

Bibliografía

- Abdel-Rahmman, S., Kanazawa, H., Teshima, S. 1979. Effects of dietary carbohydrate on the growth and the level of the hepatopancreatic glycogen and serum glucose of prawn. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* 45:1491-1494.
- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. En: Packer L. (ed). *Methods in Enzymology* vol. 105: Oxygen radicals in biological systems. Academic Press Inc. Orlando, Florida. p121-126.
- Alcaraz, G., Espinoza, V., Vanegas, C. 1999. Acute effect of ammonia and nitrite on respiration of *Penaeus setiferus* postlarvae under different oxygen levels. *J. World Aquacult. Soc.* 30 (1):98-106.
- Al-Mohana, S.Y., Nott, J.A. 1987. R cell and the digestive cycle in *Penaeus semisulcatus* (crustacean, Decapoda). *Mar. Biol.* 95:129-137.
- Alpuche, J., Pereyra, A., Agundis, A. 2005. Respuestas bioquímicas de camarones marinos a factores ambientales. *Rev. Electrónica de Veterinaria REDVER-ISSN1695-7504*. Vol. VI. No. 5. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505.html>
- Allan, E.L., Froneman, P.W., Hodgson, A.N. 2006. Effects of temperature and salinity on the standard metabolic rate (SMR) of the caridean shrimp *Palaemon peringueyi*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 33:103-108.
- Allan, G.L., Maguire, G.B. 1991. Lethal concentrations of low dissolved oxygen and effects of short-term oxygen stress on subsequent growth of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 94:27-37.
- Allan, G.L., Maguire, G.B., Hopkins, S.J. 1990. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. *Aquaculture*, Amsterdam 91:265-280.
- Akiyama, D.M., Dominy, W.G., Lawrence, A.L. 1992. Penaeid shrimp nutrition. In: *Marine shrimp culture principles and practices*. A.W. Fast and L.J. Lester. (eds.) E. Sc. Publis. V.W. Amsterdam, The Netherlands. 535-568.
- Adrews, J.W., Sick, L.V., 1972. The influence of dietary proteins and energy levels on growth and survival of penaeid shrimp. *Aquaculture*, 1:341-347.
- Aparicio-Simón, B., Piñón, M., Racotta, R., Racotta, I.S. 2009. Neuroendocrine and metabolic responses of Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*, exposed to acute handling stress. *Aquaculture*. Doi:10.1016/j.aquaculture.2009.10.016. Doc. en prensa.

- BANCOMEXT. 1999. Camarón Mexicano. Resuelva problemas de cultivo. México. 103.
- Bachère, E., Destoumieux, D., Bulet, P. 2000. Penaeidins, antimicrobial peptides of shrimp: comparison with other effectors of innate immunity. *Aquaculture* 191:71-88.
- Báez-Dueñas, M.C., López-Elías J.A., Bringas-Alvarado L. y Galaviz-Moreno. 1993. Nutrición en Camaronicultura. Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. Ed. AGT Editor, S.A.
- Barnes H, Blackstock J. 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigations of the sulphophosphovanillin method for total lipids. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 12: 103-118.
- Benton, A.H., Werner, W.E. 1983. *Manual of Field Biology and Ecology*, 6ta ed. Macmillan Pub. Co., New York, 174 p.
- Blaxter, K.L. 1989. *Energy metabolism in animals and man*. Cambridge University Press, New York USA. 336 p.
- Bower, E.C., Bidwell. 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish. Res. Board Can.* 35:1012-1016.
- Boyd, C. C. y Watten, B. J. 1989. Aeration systems in aquaculture. *Revista de Acuicultura Científica*. 1(3): 425-472.
- Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Bioch.* 72: 284-256.
- Bray, W.A., Lawrence, A.L., Lester, L.J. 1990. Reproduction of eyestalk-ablated *Penaeus stylirostris* fed various level of total dietary lipids. *J. World Aquacult. Soc.* 21:41-52.
- Brito, R., Chimal, M.E., Gelabert, R., Gaxiola, G., Rosas, C. 2004. Effect of artificial and natural diets on energy allocation in *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) and *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) early postlarvae. *Aquaculture* 237:517-535.
- Broom, J.C. 1971. Shrimp culture. In: *Proceeding of the first annual workshop of the World maricul. Soc.* 1: 63-68.
- Cahu, C., Quazuguel, P. 1989. Lipid metabolism of *Penaeus vannamei* broodstock: influence of dietary lipids. *Aquaculture Europe*. 10:45-46.
- Campa-Córdova, A. I. 2002. Determinación de moléculas que intervienen en el sistema inmune del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en respuesta

al uso de inmuoestimulantes. Tesis de Doctorado, CIBNOR. La Paz, B.C.S. México 45 p.

- Campa-Córdova, A.I., Hernández-Saavedra, N.Y., Aguirre-Guzmán, G., Ascencio, F. 2005. Respuesta inmunomoduladora de la superóxido dismutasa en juveniles de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) expuestos a inmunoestimulantes. Cien. Mar. 31(4):661-669.
- Chang, W.Y.B., Ouyang H. 1988. Dynamics of dissolved oxygen and vertical circulation in ponds. Aquaculture 74:263-276.
- Chang, E., O'Connor, J. 1983. Metabolism and transport of carbohydrates and lipids. In: Bliss, D.E. (Ed.), The Biology of Crustacea, vol. 5. Academic Press, New York, pp. 263–287.
- Charmantier, G., Soyes, C., Aquacop. 1994. Effect of moult stage and hipoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. J. Exp. Mar. Ecol. 178:223-246.
- Chen, J.C., Cheng, S.Y. 1993a. Hemolymph PCO₂ Hemocyanin, protein levels and excretion of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. Aquatic. Tox. 27:281-292.
- Chen, J.C., Cheng, S.Y. 1993b. Hemolymph osmolality, acid-base balance and shift of ammoniotica tu ureotelic excretory pattern of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. Comp. Bioch. Physiol. 106c(3):33-737.
- Chen, J.C., Cheng, S.Y. 1995. Hemolymph oxygen content, oxyhemocyanin, protein levels and ammonia excretion in the shrimp *Penaeus monodon* exposed to ambient nitrite. J. Comp. Physiol. B. 164:530-535.
- Chen, J.C., Chen, C T., Cheng, S.Y. 1994a. Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid level in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed at different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. Mar. Ecol. Prog. Ser. 110:85-94.
- Chen, J.C., Cheng, S.Y., Chen, C.T. 1994b. Changes of hemocyanin, protein and free aminoacid level in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. Comp. Bioch. And Physiol. 109A(2):339-347.
- Chen, J.C., Kou, Y.Z. 1992. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus japonicus* juvenile. Aquaculture 104:249-260.
- Chen, J.C., Kou, Y.Z. 1993. Accumulation of ammonia in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. Aquaculture 109:177-185.
- Chen, J.C., Lai, S.H. 1992. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus japonicus* adolescent exposed to ambient ammonia. Comp. Bioch. And Phys. 102c(1):129-133.

- Chen, J.C., Lai, S.H. 1993. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 165:161-170.
- Chen, J.C., Lin, J.N. 1992a. Lethal effects of ammonia on *Penaeus chinensis* Osbeck juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Biol. Ecol.* 156:139-148.
- Chen, J.C., Lin, J.N. 1992b. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* juveniles exposed to ambient ammonia at different salinity levels. *Comp. Bioch. And Phys.* 102c(2):287-291.
- Chen, J.C., Lin, C.Y. 1995. Responses of oxygen consumption, ammonia-N excretion and urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels. *Aquaculture*, 136:243-255.
- Chen, J.C., Liu, P.C., Lei, S.C. 1990a. Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus penicillatus* juveniles. *Bull. Inst. Zool. Acad. Sin.* 30:73-80.
- Chen, J.C., Nan, F.H. 1993. Effects of ammonia on oxygen consumption and ammonia-n excretion of *Penaeus chinensis* after prooqed exposure to ammonia. *Bull. Environ. Cont. and Tox.* 51:12-129
- Chen, J.C., Nan, F.H., Cheng, S.Y., Sheen, S.S. 1993. Effects of ambient ammonia on ammonia-N and protein concentrations in hemolymph and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 98:203-208.
- Chen, J.C., Ting, Y.Y., Lin, J.N., Lin, M.N. 1990b. Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus chinensis* juveniles. *Mar. Bil.* 107:427-431.
- Chow, S., Browdy, C. L., Sandifer, P. A. 1993. Timing of ovulation in the Atlantic white shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) (Decapoda, Penaeidae). *Crustaceana.*64:242-248.
- Clark, J. V. 1986. inhibition of moulting in *Penaeus semisulcatus* (De Hann) by long-term hypoxia. *Aquaculture* 52: 253-254.
- Comoglio, L. Gaxiola., G. Roque, A. Cuzon., G. Amin., O. 2004. The effect of starvation on refeeding, digestive enzyme activity, oxygen consumption, and ammonia excretion in juvenile white shrimp *Litopenaus vannamei*. *Journal of Shellfish Research (J. Shellfish Res.)*. 23 (1): 243-249.
- Cousin, M. 1995. Contribution à l'étude de l'utilisation des elucides et du rapport proteine/énergie chez *P. vannamei* et *P. stylirostris*. These INA/PG. Paris. 201 p.

- Cuzon, G., Rosas, C., Gaxiola, G., Taboada, G., Van Wormhoudt, A., 2000. Utilization of carbohydrates by shrimp. In: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A., Civera-Cerecedo, R. (Eds.), *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Mérida, Yucatán.
- Dall, W., Smith, D.M. 1986. Oxygen consumption and ammonia excretion in fed and starved tiger prawns, *Penaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture* 55:23-33.
- Davies, P.S. 1966. Physiological ecology of *Patella* I. The effect of body size and temperature on metabolic rate. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 46:647-658.
- D'Abramo, L.R. 1997. Triacylglycerols and Fatty Acids. In: *Advances in World Aquaculture, Vol. 6. Crustacean Nutrition*. Editors: D'Abramo, L. R., Conklin, L. R., Akiyama, D. M., (Eds.) World Aquaculture Society. 587 p.
- D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. 1995. New developments in the understanding of the nutrition of penaeid and caridena species of shrimps. *En Proceedings of the Special Session on Shrimp. Aquaculture 95*. World. Aquacult. Soc. Baton Rouge, Louisiana. USA. 95-107.
- De la Rosa-Vélez, J. 2001. Virus de la mancha blanca (WSSV) y cabeza amarilla (YHV), dos amenazas potenciales a los cultivos camaronícolas en México. *Panorama Acuicola* 6:18-19.
- Destoumieux, D., Muñoz, M., Cosseau, C., Rodríguez, J., Bulet, P., Comps, M., Bahcère, E. 2000. Penaidins, antimicrobial peptides with chitin-binding activity, are produced and stored in shrimp granulocytes and released after microbial Challenge. *J. Cell. Science*. 113:341-469.
- Díaz, F., Espina, S., Rosas, C., Sánchez, A., Venegas, C., Díaz-Iglesias, E. 1989. Ritmo respiratorio y amplitud metabólica del camarón café *Penaeus aztecus* con ablación de los pedúnculos oculares. *Rev. Invs. Mar.* X:27-39.
- Djangmanha, 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. Physiology*. 32:709-731.
- Edwards, R.C.C. 1977. Field experiment on growth and mortality of *Penaeus vannamei* in a Mexican coastal lagoon complex. *Estuarine Coastal Marine Science*. 5: 107-121.
- Egusa, S. 1961. Studies on the respiration of the "Kuruma" prawn, *Penaeus japonicus* Bate. II Preliminary experiments on its oxygen consumption. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 27:650-659.
- Ellington, W.R. 1983. The recovery from anaerobic metabolism in invertebrates. *J. Exp. Zool.* 228:431-444.

- Elliott, J. M., Davison, W. 1975. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. *Oecologia*. 19: 195-200.
- Fandrey, J. 1995. Hypoxia-inducible gene expression. *Respiration Physiology* 101: 1-10.
- Fry, F. E. 1947. Effects of the environment on animal activity. Univ. Toronto Studies, Biol. Ser. 55, Ontario Fish. Res. Lab. Publ. 68:1-68.
- Garrido, P.A., Teijón, R.J.M., Blanco, G.D., Villaverde, G.C., Mendoza, O.C., Ramírez, R.J., 2005. Fundamentos de Bioquímica Metabólica. E. Alfaomega. México. 384.
- Gallardo, P.P., Pedroza, R., Brito, A., Cuzon, G., Gaxiola, G. 2004. Uso de alimentos artificiales con hidrolizados proteicos de origen marino en la larvicultura de camarones Peneidos: Efecto sobre la respuesta nutricional y balance energético. Avances en nutrición acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Son. Méx. p145-167.
- Gellissen, G., Hennecke., Spindler, K.D. 1991. The site of synthesis of hemocyanin in the crayfish *Astacus leptodactylus*. *Experientia*. 47:5-24.
- Gerhardt, H.V. 1980. Nitrogen excretion by juvenile prawn *Penaeus indicus* Milne Edwards at various temperatures. *S. Afr. J. Sci.* 76:39-40.
- Gibson, R., Barker, P.L., 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 17:285-346.
- Gong, H., Jiang, D.H., Lawrence, A., González-Félix, M., Pérez-Velázquez, M. 2004. Nuevos Avances en el estudio de fosfolípidos nutricionales para camarón. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M. G., Villarreal, D., Scholz, U., González, M. Avances en nutrición acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Nov. 2004. Hermosillo, Son. Méx. p329-343.
- Gong, H., Lawrence, A., Jiang, D.H., Gatlin III, D.M. 2003. Effect of dietary phospholipid on the choline requirement of *Litopenaeus vannamei* juveniles. *J. World Aquac. S.* 34(3):289-299.
- Guzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C., Guillaume, J. 2004. Nutrition of *Liopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture* 235:513-551.
- Haijuan, M., Weiling, Z., Ying, C. 2004. Effect of water temperature on the instantaneous rate of oxygen consumption of *Litopenaeus vannamei* and the dissolved oxygen level. *J. Shan. Fish. Univ.* 13(1): 52-55.

- Hall, M.R., Van Ham, E.H. 1998. The effects of different types of stress on blood glucose in the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. J. World Aquacul. Soc. 29:290-299.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 2000. Free radicals, in Biology and Medicine. Oxford Science Publ. Third Edition. London. 936 p.
- Henry, R.P., Booth, C.E., Lallier, F.H., Walsh, P.J., 1994. Post-exercise lactate production y metabolism in three species of aquatic and terrestrial decapod crustaceans. J. Exp. Biol. 186:215-234.
- Hernández-López L., y Vargas-Albores F. 2003. A microplate technique to quantify nutrients (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ and PO_4^{3-}) in seawater. Aquaculture Research. 34: 1201-1204.
- Hernández, H.R. 1998. Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de amonio sobre el metabolismo del camarón blanco (*penaeus vannamei*), en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. UABCS. 65p.
- Hernández, R.M., Bückle, R.L.F., Palacios, E., Barón, S.B. 2006. Preferential behavior of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) by progressive temperature-salinity simultaneous interaction. J. Therm. Biol. 31:565-572.
- Hernández, R.M. Díaz, H.F. 1995. Interacción de la temperatura y la salinidad sobre la excreción de amonio y osmorregulación en *Penaeus aztecus* (Crustácea, Penaeidae). Criba. J. Sci. 31:284-288.
- Herreid, C.F. 1980. Hypoxia in invertebrates. Comp. Biochem. Physiol. 67(A):311 – 320.
- Hochachka, P.W., Buck, L.T., Doll, C.J., Land, S.C. 1996. Unifying theory of hypoxia tolerance: molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack. Procedures of the National Academy of Science Biocheistry. 93:1915.1920.
- Hochachka, P.W., 1970. The organization and control of metabolism in the crustacean gill. Comp. Biochem. Physiol. 33:529– 548
- Hose, J., Martin, G., Nguyen, V., Lucas, J., Rsentin, T. 1987. Cytochemical feature of shrimp hemocytes. Biol. Bull. 173:178-184.
- Huggins, A.K., 1966. Intermediary metabolism in *Carcinus maenas*. Comp. Biochem. Physiol. 18:283– 290.
- Hose, J., Martin, G. 1989. Defense function of granulocytes in the ridgeback prawn *Sicyonia ingentis*. J. Invertebr. Pathol. 53:335-346.
- Hopkins, J.S., Stokes, A.D., Browdy, C.L., Sandifer, P.A. 1991. The relationships between feeding rate paddle-wheel aeration rate and

- expected dawn dissolved oxygen in intensive shrimp ponds. *Aquaculture Engineering*. 10: 281-290.
- Ivelew, V. S. 1939. Transformation of energy by aquatic animals. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol. Hydrogr.* 38: 449-458.
- Jiang, D.H., Lawrence, A.L. Neill, W.H., Gong, H. 2000. Effects of temperature and salinity on nitrogen excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 253:193-209.
- Jiang, G., Yu, R., Zhou, M. 2004. Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *Penaeus japonicus* to virulence of white sports syndrome virus. *Aquaculture* 241:61-75.
- Jiang, J.S., Zhan, W.B., Wang, S.B., Jiang, X. 2006. Development of primary shrimp hemocyte cultures of *Penaeus chinensis* to study white sport syndrome virus (WSSV) infection. *Aquaculture* 253:114-119.
- Kanazawa, A. 1985. Nutrition of penaeid prawn and shrimp. En: *Proceedings of the First International conference on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimps*. Y. Taki, J. H. Primavera y J. Al. Llobera, (eds). *Aquaculture Depto. Southeast Asian Fisheries Development Center*. Iloilo. Philippines. 123-240.
- Kinne, O. 1964. Non genetic adaptation to temperature and salinity. *Helgolander wiss meeresunters*, 9:433-458. Citado por Porchas C. Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora, Depto. de Ciencias Químicas. 1996. 65pp.
- Kinne, O. 1970. *Marine Ecology, Vol. I. Environmental Factors*. John Wiley and Sons. New York. 681 p.
- Kumaly, K., Yule, A.B., Jones, D.A., 1989a. Effects of body size and temperature on the metabolic rate of *Penaeus monodon* (Fabricius). *Marine Biology* 103:25-30.
- Kumaly, K., Yule, A.B., Jones, D. A., 1989b. An energy budget for the larvae of *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture* 81:13-25.
- Kuo, C.M., Hsu, C.R., Lin, C.Y. 1995. Hyperglycaemic effects of fopamine in tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 135:161-172.
- Lawrence, A.L., John, M. Griffin, W. 1983. *Shrimp Mariculture: The State of the Art*. Texas A & M, Sea Grant Program. 12 p.
- Lee, D.O.C., Wickins, J.F. 1992. *Crustacean Farming*. Halsted Press, Wiley. New York 392 p.
- Lehninger, A.L. 1989. *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular*. 2ª edición. Omega. Barcelona España. 117 p.

- Lemos, D., Phan, V.N. 2001. Energy partitioning into growth, respiration, excretion and exuvia during larval development of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Aquaculture* 199:131-134.
- Li, E., Chen, L., Zeng, C., Chen, X., Yu, N., Lai, A., Qin, J. G. 2007. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture* 265: 385-390.
- Li, S., Xiaotao, L., Zhuojia, L., Zhongneng, X. 2006. Feeding effects on metabolism of white Pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of tropical oceanography*. 25: 44-48.
- Liao, I.C., Huang, H.J. 1975. Studies on the respiration of economic prawns in Taiwan. Oxygen consumption and lethal dissolved oxygen, of egg up to young prawn of *Penaeus monodon* Fabricus. *J. Fish. Soc. Taiwan*. 4:33-50.
- Lignot, J.H., Spanings-Pierrot, C., Charmantier, G. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture*, 1991:209-245.
- Lim, C., Akiyama, D.M. 1995. Nutrients requirements of penaeid shrimp. In: *Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture*, C.e. Lim y d. J. Sessa. Ed. AOAC Press. Champaign, Ill. 60 – 73.
- Livingstone, D.R. 1985. Biochemical measurements. In: Bayne, B. L (Ed.), *The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals*. Praeger, New York. 81-132.
- Logan, D. I., Epifanio, C. E. 1978. A laboratory energy balance for the larvae and juveniles of the American lobster *Hamarus americanus*. *Mar. Biol.* 47: 381-389.
- Loret, S. 1990. Evaluation de l'importance relative des hemocytes et des cellules de la glande digestive d'un crustacé décapode, dans la mise en réserve et la libération du glucose. *Namur, Fr.* 124 p.
- Lorenzon, S. 2005. Hyperglycemic stress response in Crustacea. *ISJ* 2:132-145.
- Lovett, D.L., Felder D.L. 1990. Ontogenetic changes in the digestive activity of larval and postlarval white shrimps *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull.* 178: 144-159.
- Lucas, A. 1993. *Bioénergétique Des Animaux Aquatiques*. Masson, Paris. Pp 1-176.

- Lucien-Brun, H. 1989. Guía para la producción de camarón en el Ecuador. 1a. Edición. 58 pp.
- Mackay, R.K. 1974. A note on minimal levels of oxygen required to maintain life in *Penaeus schmitti* Proc. World maric. Soc. 5:451-452.
- Madenjian, C. M., Rogers, G. L., Fast, A. W. 1987. Predicting night-time dissolved oxygen loss in prawn ponds of Hawaii: Part I. Evaluation of traditional methods. Aquaculture Engineering 6: 191-208.
- Martínez-Córdoba, L. R., Porchas-cornejo, M.A., Villareal-Colmenares H., y Calderón-Pérez J.A. 1998. Winter culture of yellowleg shrimp *Penaeus californiensis* in aerated ponds with low water exchange. Journal of the World Aquaculture Society. 29(1):120-124.
- Martínez, C.L.R. 1999. Cultivo de camarones peneidos: Principios y prácticas. Edit. Editor. 283 p.
- Martin, G., Brabes, B. 1985. fine structure and classification of shrimph haemocytes. J. Morphol. 185:339-318.
- Martínez-Palacios, C.A., Ross, G.L., Jiménez, V.L. 1996. The effect of temperature and body weight on the oxygen consumption of *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. J. Aquacult. Trop., 11:59-65.
- Martínez, E., Aguila, M., Trejo, L., Hernández, L., Diaz-Iglesia E., Soto, L.A., Sanchez, A., Rosas, C. 1998. Lethal low dissolved oxygen concentration for postlarvae and early juvenile *Penaeus setiferus* at different salinities and pH. J. Worl Aquacult. Soc. 29(2):221-229.
- Millamena, O.M., Pascual, F.P. 1990. Tissue lipid content and fatty acid composition of *Penaeus monodon* Fabricius broodstock form the wild. J. World Aquacult. Soc. 21:116-121.
- Mattson, M.P., Spaziani, E. 1985. Stress reduces hemolymph ecdysteroid levels in the crab: mediation by the eyestalks. J. Exp. Zool. 234:319-323.
- Mercier, L. 2007. Influencia de los ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) sobre el sistema de defensa y la susceptibilidad al estrés en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Doctorado. CIBNOR. Méx. 240p.
- Mercier, L., Palacios, E., Campa-Córdova, A., Tovar-Ramírez, D., Hernández-Herrera, R., Racotta, I. 2006. Metabolic, and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to a repeated handling stress. Aquaculture, 258: 633-640.
- Millamena, O.M., Pradera, R., Catacutan, M.R. 1993. Tissue lipid content and fatty acid compositor during ovarian maturation of ablated *Penaeus monodon*. Isr. J. Aquacult-Bamid. 45:120-125.

- Misamore, M.J. 1996. Mating behavior in the white shrimps *Penaeus setiferus* and *P. vannamei*: A generalized model for mating in *Penaeus*. J. Crust. Biol. 16:61-70.
- Montaño-Pérez, K., Reyes-Izquierdo, T., Vargas-albores, F. 1999. El proceso de coagulación en camarones peneidos. Ciencias, 50:23-28.
- Morán, M.L. 2000. Niveles de ácido láctico en hemolinfa y músculo de camarón café, *Penaeus californiensis* (Holmes, 1900), en diferentes grados de hipoxia, alcalosis e hiperamonia. Tesis de Licenciatura. U.A.B.C.S. La Paz, B.C.S. México. 94 p.
- Newsholme, F.A., Leech, A.R. 1983. Bioquímica medica. Interamericana, México. 804 p.
- Ocampo, V.L. 1994. Evaluación del efecto de la temperatura y del peso en el consumo de oxígeno del camarón café *Penaeus californiensis* (Colmes, 1900) (Decapoda: Penaeidae). Tesis de Maestría. CICIMAR, IPN. La Paz, B.C.S. México. 66 p.
- Ocampo, V.L. 1998. Efecto del oxígeno disuelto y de la temperatura en el crecimiento, metabolismo respiratorio y energética de juveniles de camarón café, *Penaeus californiensis*. Tesis Doctoral. CIBNOR. 74 p.
- Ocampo, L., y Ezquerro, J. M. 2002. Digestive protease activity in juvenile *Farfantepenaeus californiensis* as a function of dissolved oxygen and temperature. Aquacult. Res. 33(13): 1073-1080.
- Pascual, P.F., Coloso, R.M., Tamse, C.T. 1983. Survival and some histological changes in *Penaeus monodon*, fabricius juveniles fed various carbohydrates, Aquaculture 31:169-180.
- Pascual, P.F., Zenteno, E., Cuzon, G., Sánchez, A., Gaxiola, G., Tobaada, G., Suárez, J., Maldonado, T., Carlos Rosas. 2004. *Litopenaeus vannamei*, juveniles energetic balance and immunological response to dietary proteína. Aquaculture 236:431-450.
- Pascual, P.F., Zenteno, E., Cuzon, G., Suárez, J., Sánchez, A., Gaxiola, G., Tobaada, G., Suárez, J., Maldonado, T., Carlos Rosas. 2004. *Litopenaeus vannamei*, juveniles energetic balance and immunological response to dietary proteína. Aquaculture 239:375-395.
- Paterson, B.D., 1993. The rise in inosine monophosphate and L-lactate concentrations in muscle of live penaeid prawns (*Penaeus japonicus*, *Penaeus monodon*) stressed by storage out of water. Comp. biochem. Physiol. 106(B):395-400.
- Pérez-Rostro, C.I., Racotta, I.S., Ibarra A.M., 2004. Decreased genetic variation in metabolic variables of *Litopenaeus vannamei* shrimp after exposure to acute hypoxia. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 302:189-200.

- Pillai, B.R., y Diwan, A.D. 2002. Effect of acute salinity stress on oxygen consumption and ammonia excretion rates of the marine shrimp *Metapenaeus monoceros*. J. Crust. Biol. 22(1): 45-52
- Primavera, J.H. 1985. A review of maturation and reproduction in closed thelicum penaeids. En: Proc.of the First Intl. Conf. on the Culture of Penaeid Prawn/Shrimps. Taki, Y.P. *et al.* (Eds). Aquaculture Departamente SEAFDEC. Iloilo, Philippines, 47-64.
- Prosser, L. 1978. Comparative Animal Physiology. 3a ed. Edit. Saunders Collage Publishing. 966.
- Quetin, L.B., Ross R.M., Uchio K. 1980. Metabolic characteristics of midwater zooplankton: ammonia excretion, O: N ratios; and the effect of starvation. Mar. Biol. 59: 201-209.
- Racotta, I.S., Palacios, E. 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. J. World Aquac. Soc. 29(3):351-356.
- Racotta, I.S., Hernández-Herrera, R. 2000. Metabolic responses of White shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. Comp. Biochem. Physiol. 125 A:437-443.
- Racotta, I. S., Palacios, E., Méndez, L. 2002. Metabolic responses to short and long term exposure to hypoxia in with shrimp (*Penaeus vannamei*). Marine and Freshwater Behavior and Physiology 35: 269-275.
- Randall, D., Burggren, W., French, K. 1998. Fisiología Animal. 4ª ed. Mc Graw Hill-Interamericana. 795 p.
- Re, A.D., Díaz, F. Sierra, E., Gómez-Jiménez, S. 2004. Consumo de oxígeno, excreción de amonio y capacidad osmorreguladora de *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) expuesto a diferentes combinaciones de temperatura y salinidad. Cien. Mar. 30(3):443-453.
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacean. Biol. Rev. 62:1-24.
- Rendon, L., Balcázar, J.L. 2003. Inmunología de camarones: Conceptos básicos y recientes avances. Rev. Aqua TIC 19:27-33. <http://www.reivistaaquatic.com>.
- Roe J. H. 1955. The determination of sugar in blood and spinal fluid with atone reagent. J. Biol. Chem. 212: 335-343.
- Rodier, J. 1981. Análisis de las aguas. Aguas naturales, aguas residuales y agua de mar. Omega, Barcelona, pp. 134 -138.

- Rosas, C. 1996a. Bioenergética de camarones peneidos: una forma de comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en la nutrición. Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Avances en Nutrición Acuícola III. 91-97.
- Rosas, C. Brito, R. Sánchez, A. Gaxiola, G. 2003a. Bioenergética de crustáceos decápodos con énfasis en camarones peneidos. I JORNADAS IBEROAMERICANAS DE NUTRICIÓN EL ACUICULTURA. Centro de Formación de la Cooperación Española en Cartagena de Indias. Colombia, 7 a 11 de julio del 2003. 30 p.
- Rosas, C., Bolongaro-Crvenna, A., Sánchez, a., Gaxiola, G., Soto, L., Escobar, E. 1995a. Role of the digestive gland in the enrgetic metabolismo of *Penaeus setiferus*. Biol. Bull. 189:168-174.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Brito, R., Chimal, M. E., Van, W. A., 2000. El metabolismo de los carbohidratos de *Litopenaeus setiferus*, *L. vannamei* y *L. stylirostris*. V Simp. Intr. Nutric. Acuic. 19-22 Nov. 2000, Mérida, Yuc. Méx.
- Rosas, C., Cuzon, G. Taboada, C. Pascual, G. Gaxiola y A. Van Wormhoudt 2001. Effect of dietary protein and energy levels (P/E) on growth, oxygen consumption, hemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* and *L. setiferus* juveniles (Crustacea, Decapoda; Penaeidae). Aquaculture Research 32: 1-20.
- Rosas, C., Gaxiola, G., Sánchez, A. 1998a. El metabolismo del nitrógeno y su relación con los requerimientos nutricionales de los camarones peneidos. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. La Paz, Baja California Sur, México. 15– 8 Noviembre 1998. Tomo I.pp.1-21.
- Rosas, C., Martinez, E., Gaxiola, G., Diaz, E., Brito, R., Soto, L.1998b. Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. Mar Ecol. Prog. Ser. 174:67–75.
- Rosas, C., Martinez, E., Gaxiola, G., Brito, R., Sánchez, A., Soto, L.A. 1999. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 234(1): 41-57.
- Rosas, C., Ocampo, L., Gaxiola, G., Sánchez, A., Soto, L.1999. Effect of salinity on survival, growth and oxygen consumption of postlarvae (PL10-PL21) of *Penaeus setiferus*. J. Crust. Biol. 19:67-75.
- Rosas, C., Sánchez, A., Díaz, E., Soto, L.A., Gaxiola, G., Brito. R., Baes. M., Pedroza, R. 1995b. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum*, and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effect of protein level on substrate metabolism. Aquatic Living Resources 18(1):161-169.

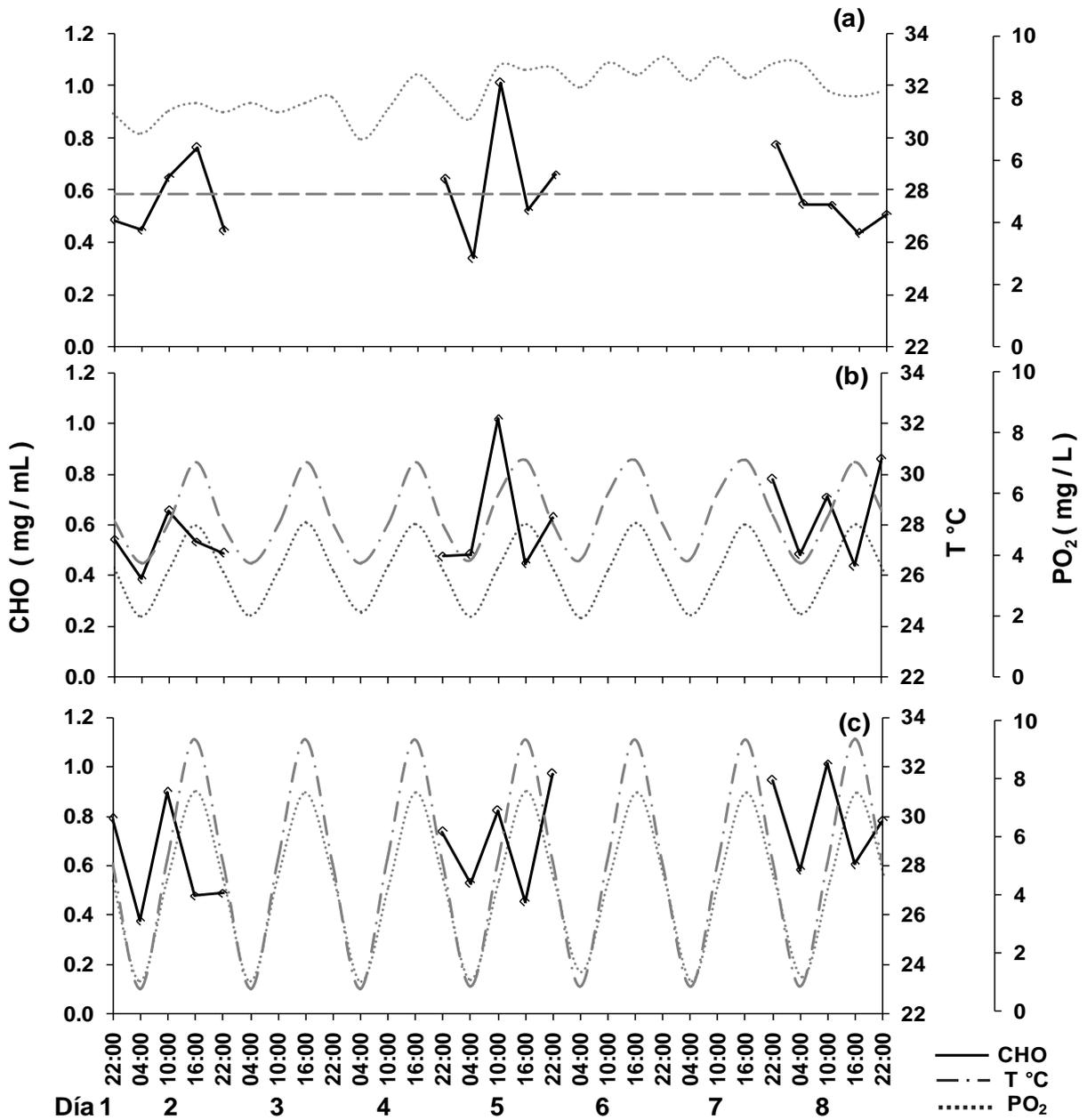
- Rosas, C., Sánchez, A., Díaz, E., Soto, L.A., Gaxiola, G., Brito, R. 1996b. Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum*, and *P. notialis* postlarvae. *J. World Aquaculture Soc.* 27(1):92-102.
- Rosas, C., Sánchez, A., Chimal, M.E., Brito, R. 2003b. Manual de métodos para la evaluación del Balance Energético en crustáceos. JORNADAS IBEROAMERICANAS DE NUTRICIÓN EL ACUICULTURA. Centro de Formación de la Cooperación Española en Cartagena de Indias. Colombia, 7 a 11 de julio del 2003. 43 p.
- Rosenberry, B. 2003. World Shrimp Farming 2003. Shrimp News International. 276 pp.
- Salvato, B., Cuamo, V., Muro, P., Beltramini, M. 2001. Effects of environmental parameters on the oxygen consumption of four marine invertebrates. A comparative factorial study. *Mar. Biol.*, 138:659-668.
- Sánchez, A., Rosas, C., Escobar, E., Soto, L.A. 1991. Skeleton weight free oxygen consumption related to adaptation to environment and habits of six crustacean species. *Comp. Biochem. Physiol.* 100A:69-73.
- Sánchez, A., Pascual, C., Sánchez, A., Vargas-albores, F., Le Moullac, G., rosas, C. 2001. Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: effect of acclimation. *Aquaculture* 198:13-28. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 34:184-193.
- Sánchez-Paz, A., García-Carreño, F., Hernández-López, J., Muhlia-Almazán, A., Yepiz-Plascencia, G. 2007. Effect of short-Term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the Pacific white shrimps (*Litopenaeus vannamei*).
- Santos, E.A., Keller, R. 1993. Crustacean hyperglycemic hormone (CHH) and the regulation of carbohydrate metabolism: current perspectives. *Com. Biochem. Physiol.* 106A:405-411.
- Santos, E. A., Keller, R. 1993b. Refulation of circulating levels of the crustacean hyperglycemic hormone: evidence for a dual feedback control system. *J. Comp. Physiol. Biochem.* 163:374-379.
- Saoud, P.I., Anderson, G. 2004. Using Scope-For-Growth estimates to compare the suitability of feeds used in strip aquaculture. *J. World Aquac.* 35(4):523-558.
- Schmitt, A.S.C., Santos E.A. 1999. Haemolymph nitrogenous constituents and nitrogen efflux rates of juvenile shrimp, *Penaeus paulensis* (Perez-Farfante), exposed to ambient ammonia-N. *Aquaculture Research.* 30:1-11.

- Seidman, E.R. y Lawrence, A.L. 1985. Growth, feed digestibility, and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different and dissolved oxygen levels. *J. World Maricul. Soc.* 16: 333-346.
- Sefiani, M., Lecaer, J.P., Soyez, D. 1996. Characterization of hyperglycemic and mol-inhibiting activity from sinus glands of the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 103:41-43.
- Selye, H. 1956. *The stress of life*. McGraw-Hill, New York.
- Shiau, S.Y. 1998. Nutrient requirements of penaeid shrimp. *Aquaculture* 164:77-93.
- Shiau, S.Y., Peng, C.Y. 1992. Utilization of different carbohydrates at different dietary protein levels in grass prawn, *Penaeus monodon*, reared in seawater. *Aquaculture* 101:241-250.
- Shigueno, K. 1976. *Shrimp Culture in Japan*. Association for Internacional Technical Promotion, Tokio, 153 pp.
- Sicard, G.M.T. 2006. Efecto de la oscilación térmica en la fisiología de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus* Sowerby, 1835). Tesis de Doctorado. U.A.N.L. 198 p.
- Sicard, M.T., Maeda-Martínez, A.N., Lluch-Cota, S.E., Lodeiros, C., Roldán-Carrillo M.L., Mendoza-Alfaro, R. 2006. Frequent monitoring of temperatura: an essential requirement for site selection in bivalve aquaculture in tropical-temperate transition zones. *Aquaculture Research*, 37:1040-1049.
- Silva, S.C. y Regnault, M. 1980. Variations of oxygen consumption in the shrimp *Palaemon serratus* during the intermolt cycle. *Cah. Biol. Mar.* 121 (3): 279 – 286.
- Simth, V.J., Söderhäll, K. 1983. Induction of degranulation and lysis of hemocytes in the freshwater crayfish *Astacus astacus* by components of the prophenoloxidase activating system in vitro. *Cell Tissue Res.* 233:295-303.
- Söderhäll, K., Cerenius, L. 1992. Crustacean immunity. *Ann. Rev. Fish Diseases.* 3-23.
- Solorzano L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.* 14:799-800.
- Sorokin, C. 1973. Dry weight, packed cell volume and optical density: In: Stein J (ed). *Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurement*. Cambridge University Press, Cambridge and New York. 321-343.

- Stern, S., Borut, A., Cohen, D. 1984. The effect of salinity and ion composition on oxygen consumption and nitrogen excretion of *macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Comp. Biochem. Physiol.*, 79a:271-274.
- Strickland, J.D.H., Parsons, T.R. 1979. A Practical handbook of seawater analysis. Fisheries research board of Canada. Ottawa. 310p.
- Taylor, A.C., Spicer, J.I. 1987. Metabolic responses of the prawns *Palaemon elegans* and *P. serratus* (Crustacea: Decapoda) to acute hypoxia and anoxia. *Mar. Biol.* 95:521-530.
- Teshima, S. 1982. Sterol metabolism. In: Proceedings of the 2nd. International conference on Aquaculture Nutrition, Edited By G.D. Pruder, C.J. Langdon and D. E. Conklin. Louisiana State Univ. Baton Rouge. 2005-216.
- Teshima, S., Kanazawa, A., Koshio, S., Horinouchi, K. 1988. Lipid metabolism in destalked prawn *Penaeus japonicus*: Induced maturation and accumulation of lipids in the ovaries. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 54:1123-1129.
- Tomas, P. 1990. Molecular and Biochemical Responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. In. Biological indicators of stress in fish. Marshall-Adams, S. (Eds.). American Fisheries Symposium I, Bethesda, Maryland, 9-28.
- Tseng, W. 1988. Shrimp Mariculture: a Practical Manual. Canaan, Pty. Ltd. Brisbane, Australia.
- Van Aardt, W.J. 1988. Lactate metabolism and glucose patterns in the river crab, *Potamonautae warreni* Calman, during anoxia and subsequent recovery. *Comp. Biochem. Physiol.* 91(A):299-304.
- Vargas, F., Higuera, I., Jiménez, F., Hernández, J., Gollas, T., Yepiz, G. 1996. Posibilidades de inmunoestimulación del camarón a través del alimento. Avances en Nutrición Acuicola III. Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 443-439.
- Villarreal, H., Hernández, L., A., Hewitt, R. 2003. Effect of salinity on growth, survival and oxygen consumption of juvenile brown shrimp, *Farfantapenaeus californiensis* (Holmes). *Aquacult. Res.* 34:187-193.
- Villarreal, H., Hewitt, R. 1991. Effect of salinity on the oxygen consumption and growth of the brown shrimp *Penaeus californiensis*. Abstract. Aquaculture '91 W.A.S. J. World Aquacult. So. 22(3):62A. San Juan, Puerto Rico. June 1991.

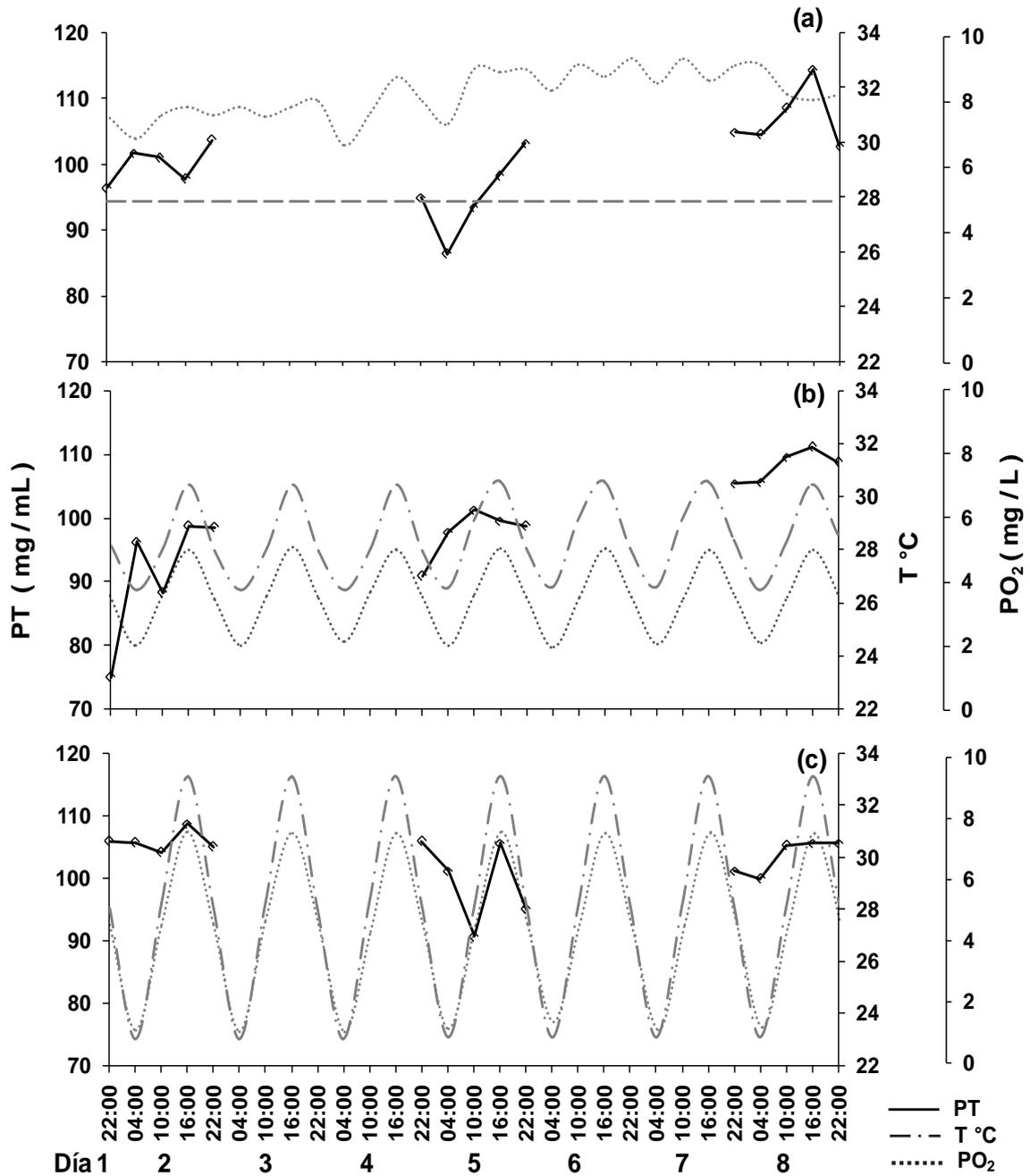
- Villarreal, H., Hinojosa, P., Naranjo, J. 1994. Effect of temperatura and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. *Comp. Bioch. Physiol.* 106A(1):103-107.
- Villarreal, H., Ocampo, L. 1993. Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis* postlarvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 106A(1):103-107.
- Villarreal, H., Rivera, J. 1993. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 106A(1):103-107.
- Wannamaker, C., Rice, J. 2000. Effects of hypoxia on movements and behavior of selected estuarine organisms from the southeastern United States. *J. Exp. Marine Biol. Ecol.* 249:145-163.
- Warren, C. E., Davis, G. E. 1967. Laboratory studies on the feeding, bioenergetics, and growth of fish. In: *The Biological Basis of Freshwater Fish Production* (ed. S.D.Gerking). Blackwell Scientific Publications. Oxford. pp. 175-114.
- Webster, S.G. 1996. Measurement of crustacean hyperglycemic hormone level in the edible crab *Cancer pagurus* during emersion stress. *J. Exp. Bio.* 199:1579-1585.
- Wedemeyer, G.A., Mcleay D.J. 1981. Methods for determining tolerance of fishes to environmental stressors. In: *Stress and fish*. A. K. Pickering (Ed.). London and New York: Academic Press. 247-275.
- Winberg, G. G. 1960. Rate of metabolism and food requirements of fishes. *Fish. Res. Board Can. Transl. Ser. No. 194*: 1-253.
- Wickins, J. F. 1976. Prawn biology and culture. *Oceanography Marine Annual Review* 14: 435-507.
- Wu, R.S. 2002. Hypoxia: From molecular responses to ecosystem responses. *Marine Pollution Bulletin* 45: 35 – 45.
- Zacarías-Soto, M.R. 1997. Histología del estómago, corazón, hígado y riñón de *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindacher, 1869), y sus modificaciones ante situaciones de estrés crónico. Tesis de posgrado. U.A.B.C.S. La Paz, B.C.S. México 74 p.
- Zou, E.M., Du, N.S., Lai, W. 1996. The effects of severe hypoxia on lactate and glucose concentration in the blood of the Chinese freshwater crab *Eriocheir sinensis* (Crustacea: Decapoda). *Comp. Biochem. Physiol.* 114(a):105109.

ANEXO I



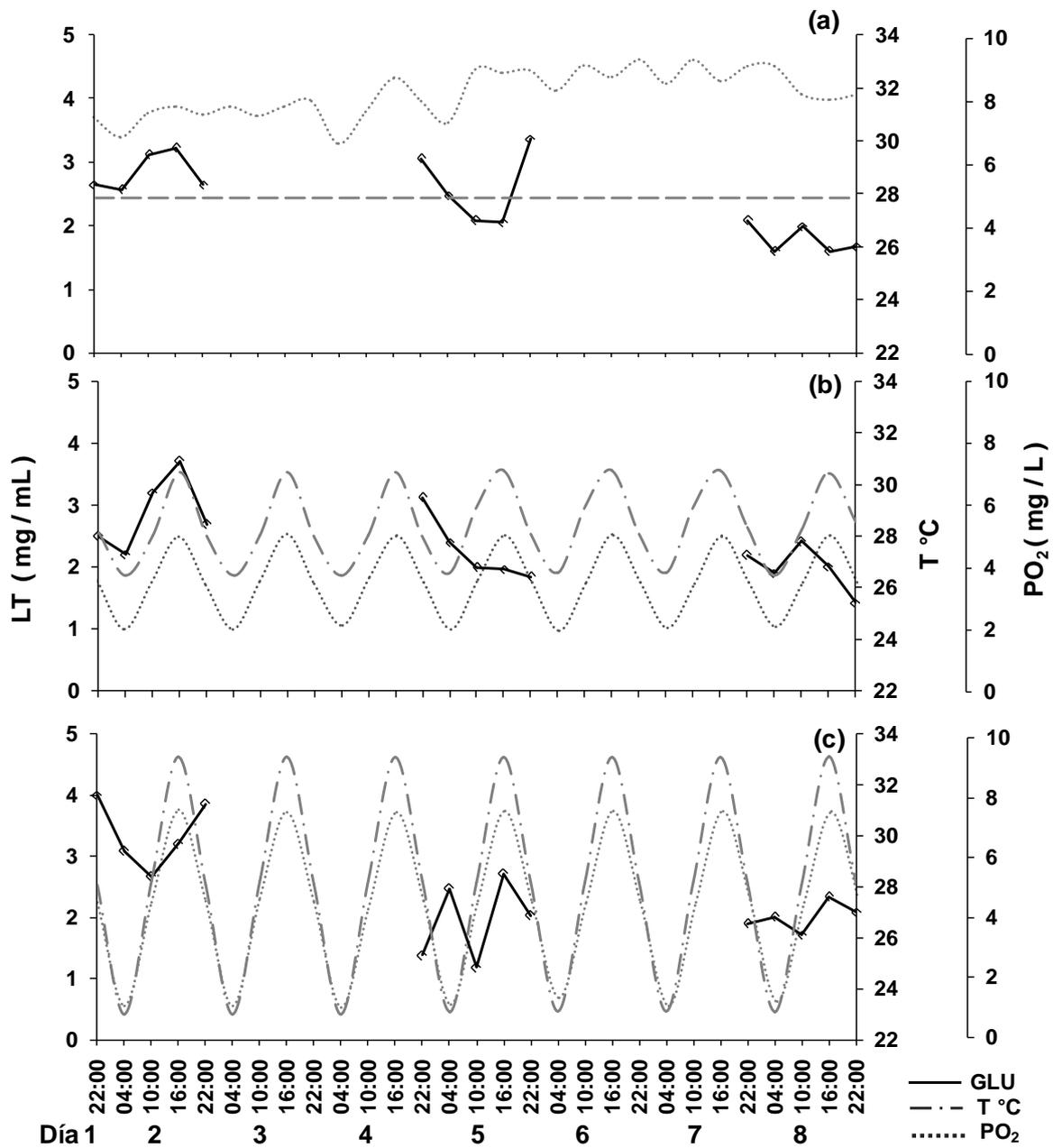
Niveles de carbohidratos (CHO) en la hemolinfa del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

ANEXO II



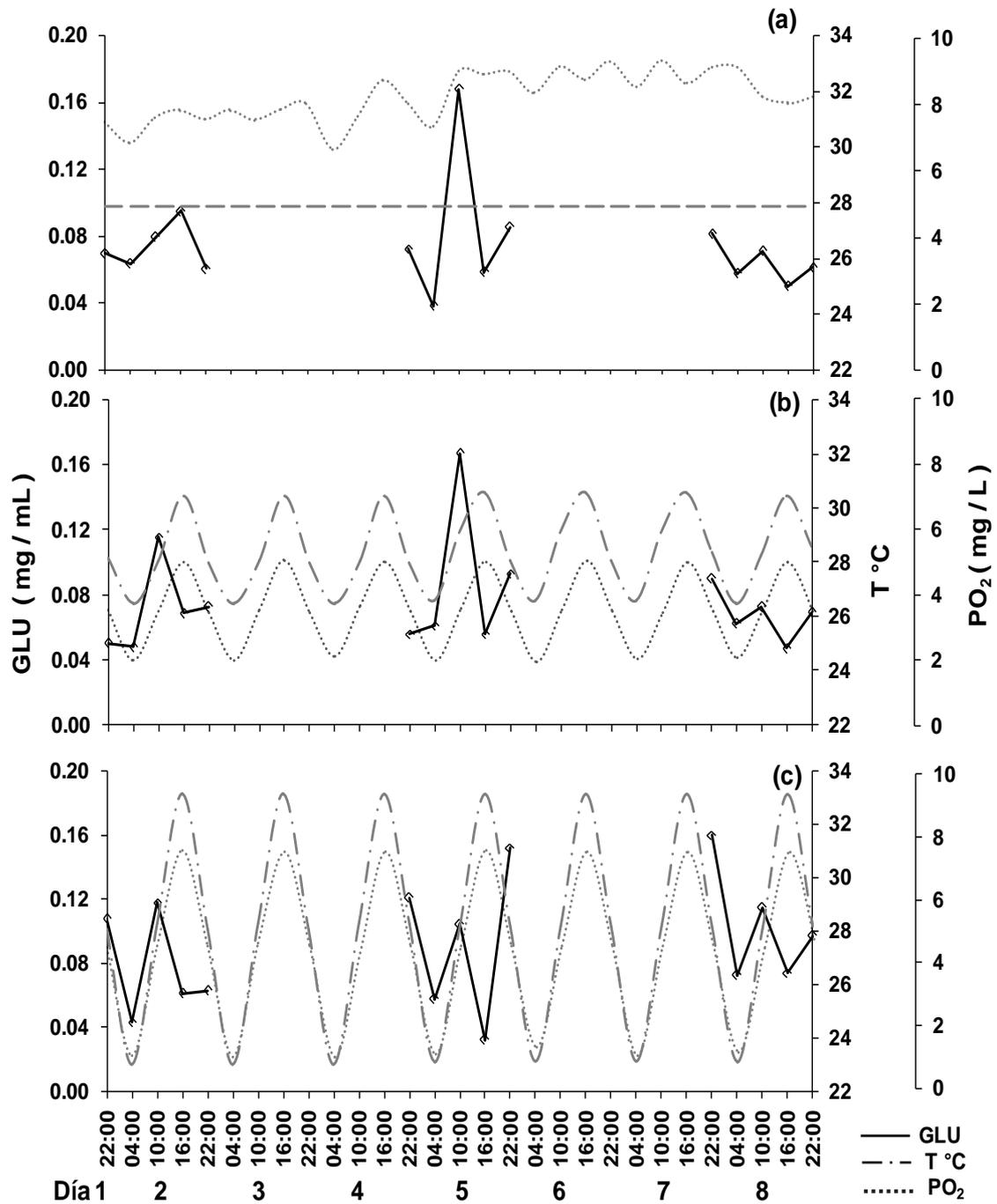
Niveles de proteínas (PT) en la hemolinfa del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

ANEXO III



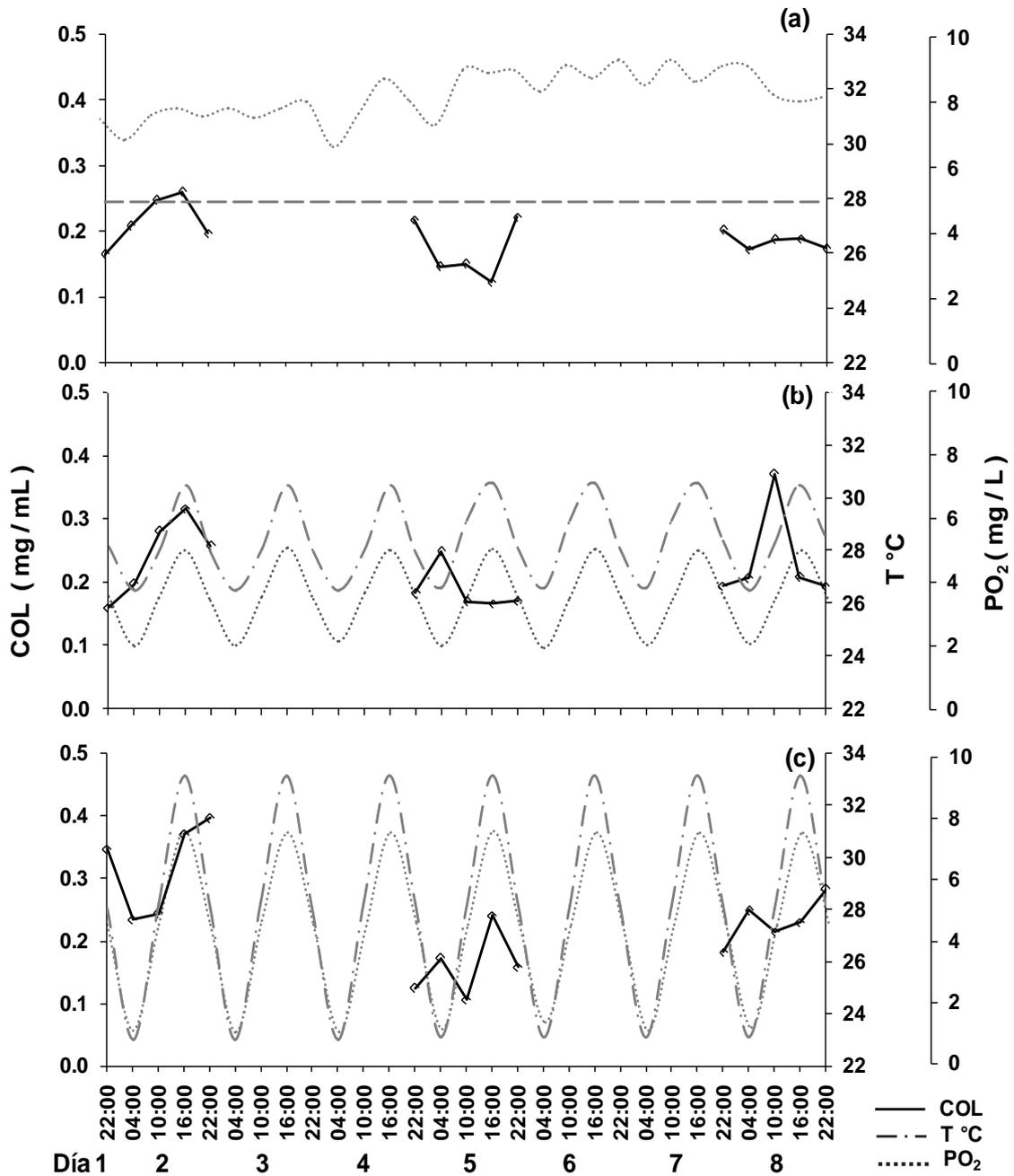
Niveles de lípidos (LT) en la hemolinfa del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

ANEXO IV



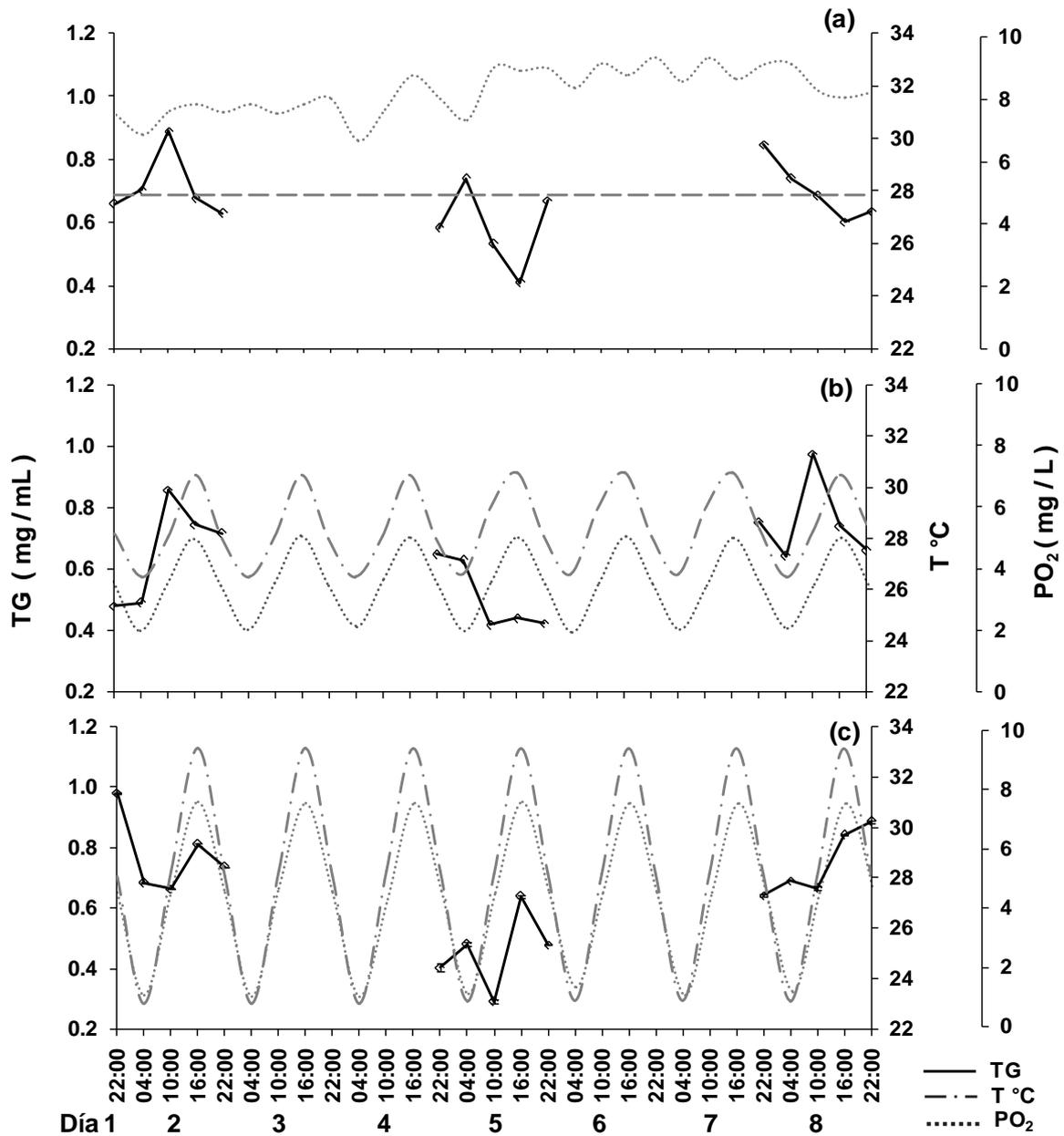
Niveles de glucosa (GLU) en la hemolinfa del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

ANEXO V



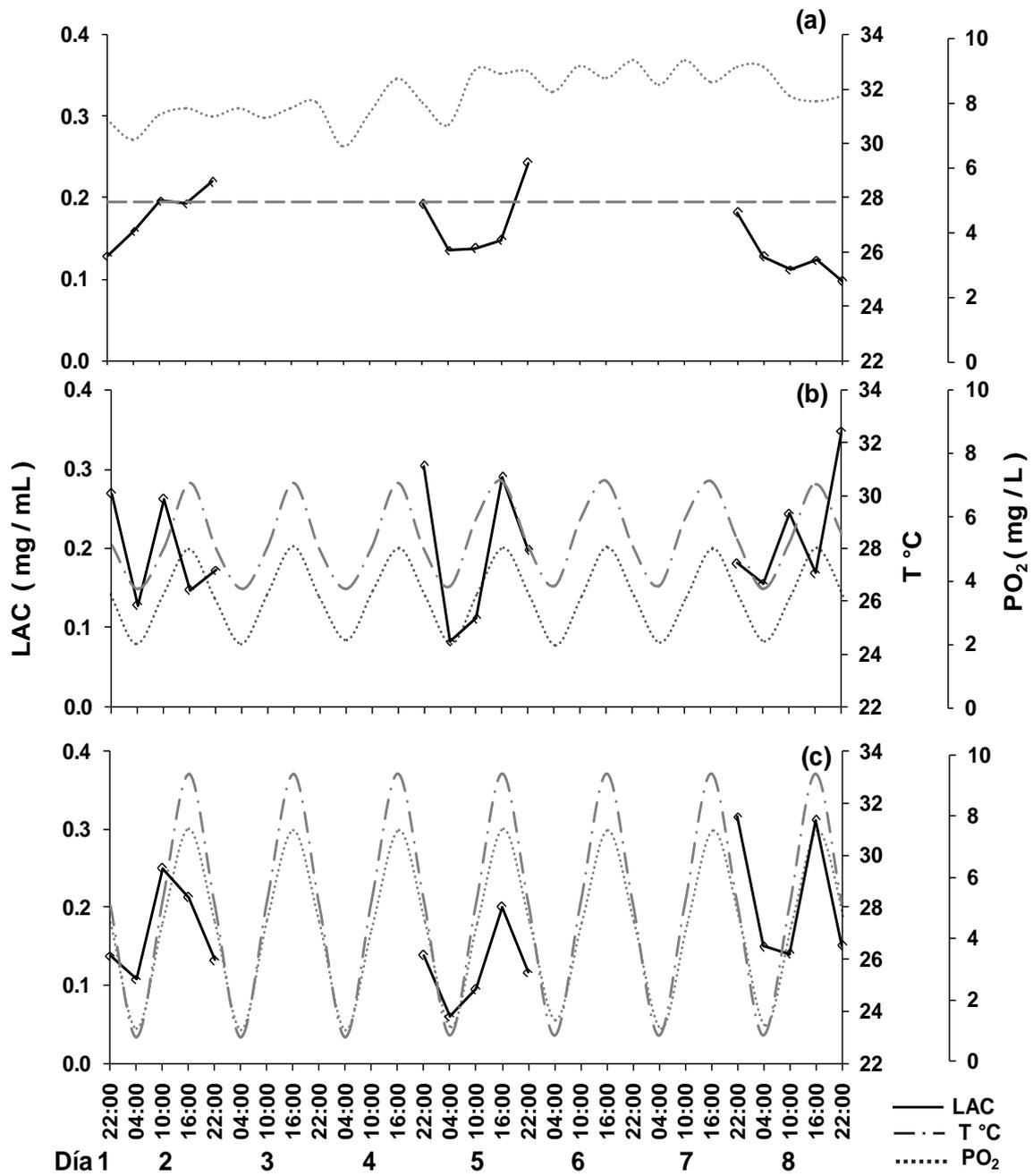
Niveles de colesterol (COL) en la hemolinfa del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

ANEXO VI



Niveles de triglicéridos (TG) en la hemolinfa del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.

ANEXO VII



Niveles de lactato (LAC) en la hemolinfa del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* durante la oscilación de la temperatura (T°C) y oxígeno (PO₂). (a) Tratamiento 1, control (28°C y 8±0.7mg/L); (b) Tratamiento 2, (26-30°C y 3-5 mg/L); (c) Tratamiento 3, (23-33°C y 1-7.5 mg/L). Media ± desviación estándar, n = 6.