



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD SINALOA



DEPARTAMENTO DE ACUACULTURA

**“EFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE ALGUNAS VARIABLES
BIOQUÍMICAS, INMUNOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS Y
PRODUCTIVAS DEL CAMARÓN *Litopenaeus vannamei* CULTIVADO
EXPERIMENTALMENTE”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN
RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE**

PRESENTA

CARLOS MIGUEL CERVANTES CERVANTES

GUASAVE, SINALOA; MEXICO AGOSTO DE 2011



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Guasave, Sinaloa el día 5 del mes de Agosto del año 2011, el (la) que suscribe Carlos Miguel Cervantes Cervantes alumno (a) del Programa de Maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente con número de registro B091633, adscrito a CIIDIR-SINALOA, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Doctor Wenceslao Valenzuela Quiñonez y cede los derechos del trabajo intitulado "Efecto de la salinidad sobre algunas variables bioquímicas, inmunológicas, fisiológicas y productivas del camarón *litopenaeus vannamei* cultivado experimentalmente", 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 carlosmiguel1205@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Carlos Miguel Cervantes Cervantes

Nombre y Firma



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTORES DE TESIS

Guasave, Sinaloa, a 5 de Agosto del 2011

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del CIIDIR-SINALOA en su sesión ORDINARIA No. 07 celebrada el día 27 del mes de JULIO conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

CERVANTES

Apellido paterno

CERVANTES

Apellido materno

CARLOS MIGUEL

Nombre (s)

Con registro:

B	0	9	1	6	3	3
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

"Efecto de la salinidad sobre algunas variables bioquímicas, inmunológicas, fisiológicas y productivas del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado experimentalmente"

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

Determinar el comportamiento de las variables bioquímicas (glucosa y proteína) en el camarón *L. vannamei* a diferentes salinidades

Determinar el comportamiento fisiológico (índice de condición de k de Fulton y índice hepatopancreático)

Determinar el comportamiento inmunológico (conteo total de hemocitos, proFenoloxidasa y Fenoloxidasa)

2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:

Dr. Wenceslao Valenzuela Quiñonez y al Dr. Héctor Manuel Esparza Leal

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesina será elaborado por el alumno en: Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR-Sinaloa.

que cuenta con los recursos de los proyectos SIP-20100145 y SIP-20101116 y la infraestructura para bioensayos del Departamento de Acuacultura.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

Directores de Tesis


Dr. Wenceslao Valenzuela Quiñonez

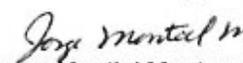
Aspirante

I.B.Q. Carlos Miguel Cervantes

Cervantes


Dr. Héctor Manuel Esparza Leal

Presidente del Colegio


Dr. Jorge Montiel Montoya



CIIDIR-IPN
UNIDAD REGIONAL
SINALOA



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Guasave, Sinaloa siendo las 14:00 horas del día 5 del mes de Agosto del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR-SINALOA para examinar la tesis titulada:

"Efecto de la salinidad sobre algunas variables bioquímicas, inmunológicas, fisiológicas y productivas del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado experimentalmente"

Presentada por el alumno:

CERVANTES
Apellido paterno

CERVANTES
Apellido materno

CARLOS MIGUEL
Nombre(s)

Con registro:

B	0	9	1	6	3	3
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

MAESTRÍA EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE

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

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dr. Wenceslao Valenzuela
Quiñonez

Dr. Héctor Manuel Esparza Leal

Dr. Antonio Luna González

Dra. Teresa Leticia Espinosa
Carreón

Dr. Gerardo Rodríguez Quiroz

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. Jorge Montiel Montoya



CIIDIR - IPN

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a las personas que quiero en especial a mis padres: **Lucrecia Cervantes Leyva y Camilo Cervantes Leal** y a mi hermana **Laura**, quienes son los que han estado y me han brindado todo su apoyo para poder cumplir con mis objetivos.

A mi corazón hermoso, gracias por el apoyo que me has brindado, gracias por soportarme pacientemente todos y cada uno de los momentos transcurridos que no han sido fácil a lo largo de este camino. Gracias, por escucharme, entenderme, alentarme y sobre todo por ser parte y permitirme compartir este logro contigo. Te amo! **Libia**.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por iluminar cada uno de los pasos de mi vida.

Al **CIIDIR-SINALOA**, que atreves de sus programas de posgrado y de acuacultura, tuve la oportunidad de desarrollar el presente trabajo de investigación y alcanzar una meta más en mi vida.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por apoyarme económicamente durante mis estudio de maestría.

Al Programa Institucional de Formación de Investigadores (**PIFI**) por apoyarme con la beca PIFI.

Un sincero agradecimiento a mis directores de tesis al **Dr. Héctor Manuel Esparza Leal** y al **Dr. Wenceslao Valenzuela Quiñónez** gracias por su amistad, apoyo y paciencia que me han brindado, por sus conversaciones amenas y sobre todo por sus regaños, los cuales me sirvieron mucho como persona. Gracias por confiar en mí.



A mis tutores **Dr. Antonio Luna González** y a la **Dra. Teresa Leticia Espinosa Carreón**, por su esfuerzo, dedicación y sugerencias para hacer de éste un excelente trabajo. También quiero agradecerles todos sus comentarios, en que me formaron como profesionalista y sobre todo por aquellos que me hicieron mejor persona.

Al **Dr. Gerardo Quiroz** por haberme ayudado a la revisión de esta tesis.

A los **M.C. Jesús Arturo Fierro Coronado** y **M.C Genaro Diarte Plata**, gracias por su amistad que siempre ha sido muy amena, gracias por facilitarme su valioso tiempo y el enorme apoyo que me brindaron en este trabajo.

Al **Dr. Juan Carlos Sainz Hernández**, por sus comentarios y sugerencias,

A **Ely Sara**, por su amistad y por haberme prestado material de laboratorio, a **Tino** por su atención en haberme arreglado la laptop, al **Abraham** por su amistad y por haberme ayudado en la realización del análisis.

A todos mis compañeros de generación, por su amistad y por los buenos momentos que pasamos juntos.

Les agradezco mucho también a todas las personas que directamente o indirectamente me apoyaron en la realización de este experimento así como su valiosa amistad.



INDICE

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE TABLAS	IV
ABREVIATURAS	V
GLOSARIO	VI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
Estrés en camarones.....	3
Salinidad.....	3
Variables bioquímicas.....	5
Variables inmunológicas.....	5
Variables fisiológicas.....	7
3. JUSTIFICACIÓN	8
4. HIPÓTESIS	9
5. OBJETIVO GENERAL	9
5.1. Objetivos específicos	9
6. METODOLOGÍA	10
6.1. Diseño experimental	10
6.2. Organismos experimentales y aclimatación	10
6.3. Desarrollo experimental	11



6.4. Toma y análisis de muestras para evaluar la condición bioquímica, inmunológica fisiológica y productiva de los organismos expuestos a diferente salinidad.....	12
6.4.1. Análisis de las variables bioquímicas.....	13
6.4.2. Análisis de las variables inmunológicas.....	15
6.4.3. Análisis de las variables fisiológicas.....	16
6.5. Análisis de las variables productivas.....	17
6.6. Análisis estadístico.....	18
7. RESULTADOS.....	19
7.1. Variables físico-químicos del agua.....	19
7.1.1. Temperatura, OD, pH, Nitritos, nitratos y amonio.....	19
7.2. Variables bioquímicas.....	20
7.3. Variables inmunológicas.....	21
7.4. Variables fisiológicas.....	24
7.5. Variables productivas.....	24
8. DISCUSIÓN.....	28
8.1. Variables físico-químicos del agua.....	28
8.2. Variables bioquímicas.....	28
8.3. Variables inmunológicas.....	31
8.4. Variables fisiológicas.....	34
8.5. Variables productivas.....	35
9. CONCLUSIONES.....	38
10. RECOMENDACIONES.....	39
11. BIBLIOGRAFIA.....	40



RESUMEN

La camaronicultura es una de las industrias de mayor crecimiento tanto a nivel mundial como nacional, pero en la última década el desarrollo de ésta se ha visto limitado por la aparición de enfermedades infecciosas provocadas principalmente por virus. Existen condiciones físico-químicas y biológicas dentro de los sistemas de cultivo que pueden provocar estrés y aumentar la susceptibilidad de los camarones a enfermedades infecciosas. Dentro de las variables físico-químicas, la salinidad es una de las más importantes, ya que además de influir en las tasas de crecimiento y supervivencia de los camarones, cambios bruscos pueden ser condicionantes de estrés. Por lo cual, se requiere ampliar el conocimiento del efecto de la salinidad sobre la fisiología del organismo a través del estudio de algunas variables bioquímicas (glucosa y proteína), inmunológicas (conteo total de hemocitos, proFenoloxidasa y Fenoloxidasa), fisiológicas (índice de condición K de Fulton y índice hepatopancreático) y productivas (tasa de crecimiento y supervivencia) del camarón *Litopenaeus vannamei*. Durante 63 días se cultivó experimentalmente el camarón en diferentes concentraciones de salinidad (1, 10, 15, 25, 35 gL⁻¹). En cada salinidad se manejaron tres réplicas y en cada réplica se sembraron 15 camarones con un peso promedio de 3.5-4.5 g. Para evaluar el comportamiento de las variables mencionadas, se tomaron muestras de hemolinfa al inicio (día 1), mediados (día 30) y al finalizar el experimento (día 63). En los resultados obtenidos no se observaron diferencias significativas en las variables bioquímicas, inmunológicas, fisiológicas y productivas entre los tratamientos de salinidad. Aunque, cuando se analizó entre tiempos de muestreo si se presentó un efecto negativo en la glucosa, ya que se incrementó al finalizar el experimento. De igual manera, se observó un efecto negativo en el conteo total de hemocitos, debido a que éstos tendieron a disminuir conforme se desarrollo el experimento.

Palabras clave: *Litopenaeus vannamei*, salinidad, variables bioquímicas, inmunológicas, fisiológicas y productivas.

ABSTRACT

Shrimp farming is one of the fastest growing industries both globally and nationally, but in the last decade the development of shrimp aquaculture has been limited by the occurrence of infectious diseases mainly caused by viruses. There are physical-chemical and biological terms within farming systems, that they can cause stress and accelerate the susceptibility of shrimp diseases. Among the physico-chemical variables, salinity is one of the most important, as well as influencing the growth and survival rates of shrimp, sudden changes can be conditions of stress. Hence it is necessary to amplify the knowledge of salinity about the physiology of the organism through the response of some biochemical variables (glucose and protein), immunological (total count of hemocytes, and phenoloxidase proFenoloxidasa), physiological (condition index K fulton and hepatopancreatic index) and productive (growth rate and survival) of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. During 63 days the shrimp was cultivated experimentally in different concentrations from salinity (1, 10, 15, 25, 35 gL⁻¹). At each salinity were handled three repetitions, and each one, were cultured 15 shrimp of 3.5 g. To evaluate the behavior of these variables, hemolymph samples were taken at baseline (day 1), mid (day 30) and at the end of the experiment (day 63). At the results obtained, were not significant differences in biochemical variables, immunological, physiological and productivity between salinity treatments. Although, when analyzed between sampling times, whether there was a negative effect on glucose being that was increased at the end of the experiment. Similarly, it observed a negative effect on total haemocyte count, because it shows a downward trend during the course of the experiment.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, salinity, biochemical parameters, immunological, physiological and productivity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura. 1.** Diseño experimental utilizado en el presente trabajo.....10
- Figura. 2.** Unidades experimentales utilizadas en el presente trabajo.....12
- Figura. 3.** Concentración de glucosa y proteína en hemolinfa del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado en diferente salinidad. Barras de error = promedio \pm desviación estándar.....20
- Figura. 4.** Concentración de glucosa y proteína a diferentes tiempos de muestreo (1 = 1 día, 2 = 30 días y 3 = 63 días) en hemolinfa del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado en diferente niveles salinidad (1, 10, 15, 25 y 35 g L⁻¹). Barras de error = promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas.....21
- Figura. 5.** Variables inmunológicas en hemolinfa del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferente de salinidad. Barras de error = promedio \pm desviación estándar22
- Figura. 6.** Comportamiento de algunas variables inmunológicas en hemolinfa del camarón *Litopenaeus vannamei* a diferentes tiempos de muestreo (1 = 1 día, 2 = 30 días y 3 = 63 días). Barras de error = promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas.....23
- Figura. 7.** Crecimiento en peso de *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferentes concentraciones de salinidad durante 9 semanas. Se indica el peso promedio.....25
- Figura. 8.** Supervivencia de *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferentes concentraciones de salinidad durante las 9 semanas del experimento.....25
- Figura. 9.** Relación longitud-talla-peso de *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferentes salinidad (1 g L⁻¹, 10 g L⁻¹, 15 g L⁻¹, 25 g L⁻¹, 35 g L⁻¹) durante las 9 semanas del experimento.....27

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Variables físico-químicas del agua en cultivo de el cultivo de *Litopenaeus vannamei* a diferentes concentraciones de salinidad.....19

Tabla 2. Valores de las variables fisiológicas y productivas del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferente salinidad durante 63 días.....24

ABREVIATURAS

°C Grado centígrado

Cl⁻ Cloro

EDTA Ácido etilendiaminotetraacético

g L⁻¹ Gramos por litro

g Gramo

h Hora

H Hidrógeno

Hepes Solución amortiguadora

L Litro

m L Mililitro

mg L⁻¹ Miligramos por litro

mM Milímmolar

Na⁺ Sodio

NaCl Cloruro de sodio

OD Oxígeno disuelto

µL Microlitros

nm Nanómetro

pH Potencial de iones de hidrógeno

% Porcentaje

KCl cloruro de potasio

GLOSARIO

Ad libitum: alimentación a saciedad.

ATP: es un nucleótido fundamental en la obtención de energía celular. Está formado por una base nitrogenada (adenina) unida al carbono 1 de un azúcar de tipo pentosa, la ribosa, que en su carbono 5 tiene enlazados tres grupos fosfatos.

ANOVA (por sus siglas en inglés): análisis de varianza

Branquias: órgano respiratorio de animales acuáticos, compuesto de filamentos laminares carnosos con extensiones llamadas lámelas. En los camarones, estas cámaras branquiales están situadas a los costados del cefalotórax.

Coagulación: es una respuesta de defensa muy importante en los crustáceos, ya que es un proceso en el cual los crustáceos rápidamente sellan sus heridas del exoesqueleto previniendo la pérdida de la hemolinfa y evitando el ingreso de partículas extrañas al organismo

Encapsulación: es un tipo de respuesta multicelular para eliminar partículas extrañas que no pueden ser destruidas por los mecanismos humorales.

Enzima: son proteínas complejas que producen un cambio químico específico en otras sustancias, sin que exista un cambio en ellas mismas.

Fagocitosis: es un mecanismo por el cual algunas células (neutrófilos y macrófagos) rodean con su membrana citoplasmática a un antígeno y lo introducen al interior celular.

Fotoperiodo: es la exposición luminosa que recibe un espacio físico medido en tiempo y cantidad.

Hepatopáncreas: es un órgano del aparato digestivo de artrópodos, gasterópodos y peces. Realiza las mismas funciones que en los mamíferos realizan el páncreas y el hígado.

Hemocito: célula de la hemolinfa de los invertebrados.

Hemolinfa: líquido circulatorio de los artrópodos, moluscos, etc. análogo a la sangre de los vertebrados. Su composición varía mucho de una especie a otra. Puede ser de diferentes colores o incluso incolora; los pigmentos suelen proceder de la alimentación o de los procesos metabólicos y no tienen ninguna función biológica, ya que el transporte de gases es independiente del aparato circulatorio.

Intermuda: estadio de la ecdisis donde todo el exoesqueleto se engrosa y endurece. Hay crecimiento de tejidos y acumulación de reservas.

Glucógeno: es un polisacárido de reserva energética de los animales, formado por cadenas ramificadas de glucosa; es soluble en agua, en la que forma dispersiones coloidales. Abunda en el hígado y en los músculos.

Melanización: es una manifestación común en los invertebrados, cuyo proceso comprende una serie de reacciones enzimáticas en cascada conocido como sistema proFenoloxidasa.

Nodulación: este es un mecanismo muy eficiente para la eliminación de partículas

Patógeno: es toda aquella entidad biológica capaz de producir enfermedad o daño en la biología de un hospedero (humano, animal, vegetal, etc.) sensiblemente predispuesto. El mecanismo de la patogenicidad ha sido muy estudiado y tiene varios factores, algunos de los cuales son dependientes del agente patógeno y otros del huésped. Agente específico causante de enfermedad; como ciertos virus, bacterias, hongos, protozoarios y gusanos artrópodos.

Osmorregulación: es la forma activa de regular la presión osmótica del medio interno del cuerpo para mantener la homeostasis de los líquidos del cuerpo; esto evita que el medio interno llegue a estados demasiado diluidos o concentrados.

PCR (Siglas del inglés Polymerase Chain Reaction o Reacción en Cadena de la Polimerasa): metodología utilizada para producir múltiples copias de un fragmento de DNA específico que utiliza ciclos de desnaturalización del DNA molde, anillamiento con oligonucleótidos específicos y extensión de los mismos por medio de una DNA polimerasa termotolerante.

K de Fulton: es un factor de condición que sirve para estimar la condición, robustez o estado de bienestar de los peces y crustáceos.

Virus: agente infeccioso a celular, con una organización muy simple, formada por un complejo de proteína, la cápside y un solo tipo de ácido nucleico (DNA o RNA), carece de metabolismo independiente y solo se puede replicar en una célula hospedera.

Vulnerabilidad: es una características de una persona o grupo desde el punto de vista de su capacidad para anticipar, sobrevivir, resistir y recuperarse del impacto de una amenaza natural.

Zootecnia: es el conjunto de técnicas para el mejor aprovechamiento de los animales domésticos y silvestres que son útiles al hombre y cuya finalidad es la obtención del máximo rendimiento, administrando los recursos adecuadamente bajo criterios de sostenibilidad.

1. INTRODUCCIÓN

La camaronicultura se destaca como una de las actividades de mayor crecimiento y expansión a nivel mundial. En México, se ha desarrollado principalmente en los estados del noroeste (Nayarit, Sonora y Sinaloa) debido a su inmejorable calidad de suelos, agua, clima, disponibilidad de postlarvas e insumos. En los estados mencionados, durante el año 2009 se registró una producción de alrededor de 128 mil toneladas con un valor aproximado de \$9550 millones de pesos (CONAPESCA, 2009).

La especie que más se cultiva es el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*, debido a que su cultivo larvario no presenta mayores complicaciones y durante la engorda tolera amplios intervalos de temperatura y salinidad, además de presentar una tasa elevada de crecimiento (Martínez-Córdova *et al.*, 1999).

En la última década el desarrollo de esta actividad se ha visto afectado por el impacto de algunas enfermedades infecciosas provocadas principalmente por virus. El virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV) ha sido el que más ha impactado, causando mortalidades en los cultivos de hasta el 100% (Esparza-Leal *et al.*, 2009). Tanto el impacto del WSSV como el de otros patógenos se ha manifestado a la par de la intensificación de los cultivos; sin embargo, se ha avanzado más en la investigación de la zootecnia que en el área de fisiología, inmunología y ecología de los camarones (Bachère, 2000).

El impacto de las enfermedades de etiología infecciosa depende de una compleja interacción entre los organismos, el ambiente en el que habitan y los patógenos a los que están expuestos (Lightner y Redman, 1998). Desafortunadamente, las enfermedades en los camarones se detectan por lo general en etapas avanzadas, cuando ya es evidente su impacto negativo en el crecimiento, comportamiento o mortalidad (Perazzolo *et al.*, 2002).

El ambiente que prevalece en los cultivos de camarón puede generar una condición de estrés debido al cautiverio y a las fluctuaciones de los factores físico-químicos del agua (temperatura, oxígeno disuelto, pH y salinidad), entre otras variables. Esta condición de estrés puede aumentar la vulnerabilidad de los camarones a los agentes infecciosos y/o oportunistas presentes en el agua (Le Moullac y Haffner, 2000).

Aparte de la temperatura se considera que el factor abiótico que más impacta a los camarones es la salinidad, ya que esta variable afecta su crecimiento y supervivencia (Kumlu *et al.*, 2000). Por lo que se requiere ampliar el conocimiento con respecto al efecto de esta variable en diferentes niveles de la condición de estrés que puede manifestarse bioquímica, inmunológica o fisiológicamente, información que puede servir para obtener indicadores tempranos del estado clínico del camarón y, con ello se pueden fomentar estrategias que aminoren el impacto de enfermedades infecciosas (Bachère, 2000; Perazzolo *et al.*, 2002).

En el presente estudio se investigó el efecto de diferentes salinidades (1, 10, 15, 25 y 35 g L⁻¹) sobre el comportamiento de algunas variables bioquímicas (glucosa y proteína), inmunológicas (conteo total de hemocitos y fenoloxidasa) y fisiológicas (índice de condición “K” de Fulton e índice hepatopancreático) del camarón *L. vannamei*, con el fin de aportar elementos para desarrollar estrategias que conlleven a minorar el estrés en los organismos y optimizar sus tasas de crecimiento; así como para generar indicadores de condición, que permitan detectar con oportunidad cuando los camarones se alejan de su condición óptima y se acercan a una condición de susceptibilidad.

2. ANTECEDENTES

2.1. Estrés en camarones

El estrés es una alteración fisiológica que se induce por cambios ambientales (salinidad, temperatura, pH, entre otras variables) o biológicos, que aumentan la vulnerabilidad de los organismos (Stickney, 2000).

Los organismos bajo cultivo están sometidos a una compleja interacción de factores de estrés; sin embargo, algunos de éstos están bajo control durante las prácticas de cultivo (Wedemeyer *et al.*, 1996). Esto implica que mientras un factor de estrés por si solo pareciera ser inofensivo, la presencia combinada de varios factores dentro de un mismo lapso de tiempo impide que los organismos tengan un periodo de recuperación, afectando consecuentemente su salud (Barton y Iwama, 1991).

Cuando los estímulos estresantes se presentan en lapsos de tiempo prolongados o continuos (de varios días a semanas), aunque no sean necesariamente intensos, la respuesta al estímulo se conoce como estrés crónico. En contraste, cuando los estímulos son puntuales (de minutos a horas), la respuesta se considera como estrés agudo. Las respuestas primarias y secundarias de ambos son normalmente rápidas y fácilmente detectables (Livingstone, 1985).

2.2. Salinidad

La salinidad es un factor ambiental muy importante en la acuicultura (Pequeux, 1995), ya que sus fluctuaciones impactan en varios procesos metabólicos de los organismos marinos (Chen y Nan, 1995). El intervalo óptimo de esta variable para el crecimiento y supervivencia del *L. vannamei* fluctúa entre 15 y 26 g L⁻¹, sin embargo, éste puede ser cultivado exitosamente a bajas

y altas salinidades (Boyd, 1989; Robertson *et al.*, 1993; Bray *et al.*, 1994). Pérez-Velázquez *et al.* (2007) reportaron que los camarones expuestos a salinidades de 2, 35 y 50 g L⁻¹, presentan menor crecimiento en 50 y mayor en 2 g L⁻¹. Lo que puede estar relacionado con el incremento en los requerimientos metabólicos, modificaciones en la utilización de nutrientes, decrecimiento en el uso del alimento, cambios adversos en la calidad o cantidad del alimento natural, entre otros factores (Robertson *et al.*, 1993; Rosas *et al.*, 1999).

Uno de los procesos que afectan significativamente la reserva energética de los organismos, al ser expuestos a diferentes salinidades, es la osmoregulación. Éste es un proceso importante en la adaptación ambiental de la mayoría de los crustáceos (Pequeux, 1995; Tantulo *et al.*, 2007). Por lo que se ha estudiado la correlación entre la tolerancia a salinidad y la habilidad para osmorregular durante la ontogenia y su relación a adaptaciones ecológicas en crustáceos (Charmantier *et al.*, 1988; Palacios *et al.*, 2004).

La habilidad para osmorregular en términos de la capacidad de osmoconformar está determinada por la diferencia entre la osmolalidad de la hemolinfa y la osmolalidad del medio (Lignot *et al.*, 2000; Tantulo *et al.*, 2007). El balance osmótico en los camarones se modifica debido a que utiliza más energía para la osmoregulación y canaliza menos energía para el crecimiento. A nivel de cultivo, los camarones se exponen a variaciones de salinidad debido a la lluvia, evaporación o cuando se cultivan en agua de pozo de baja salinidad (Hurtado *et al.*, 2006).

Cuando los camarones se exponen a bajas salinidades, tienen que confrontar la pérdida pasiva de iones de Na⁺ y Cl⁻, mediante ingreso activo de iones Na⁺ del agua e intercambiándolo por H⁺ a nivel de la membrana apical de las células osmorregulatorias (Palacios *et al.*, 2004). Se ha estudiado ampliamente el balance iónico de los camarones peneidos debido a que durante un tiempo se consideró que la salinidad de los estanques de cultivo debería coincidir con el

punto isosmótico, para disminuir el costo energético asociado a la regulación iónica y osmótica. Sin embargo, en muchos casos el mejor crecimiento se ha observado en una salinidad distinta a la de su punto isosmótico, lo cual ha generado una controversia alrededor del costo energético de los mecanismos osmorreguladores y su relación con el metabolismo (Brito *et al.*, 2000).

2.3. Variables bioquímicas

Las variables bioquímicas tales como la glucosa y proteínas pueden indicar el potencial de crecimiento de los camarones (Castille *et al.*, 1993). Los crustáceos utilizan los carbohidratos, principalmente glucosa, para obtener energía (ATP), ya sea a partir de su dieta (absorción), hidrolizando su reserva de glucógeno (glucogenólisis) y por formación de glucosa a partir de otras fuentes como glicerol o aminoácidos (gluconeogénesis), entre otras (Stryer, 1990). También, los crustáceos tienen la capacidad de sintetizar carbohidratos a partir de proteínas (Rosas *et al.*, 2001a). Las proteínas no son sólo una fuente de energía metabólica, sino que son el constituyente relativamente más abundante en los crustáceos, juegan un papel importante en el transporte de otras moléculas, son mediadores y catalizadores de reacciones químicas (enzimas) y constituyen el grupo más numeroso de hormonas (Stryer, 1990). Tanto el nivel de glucosa (Hall y van Ham, 1998; Racotta y Palacios, 1998; Palacios, 2000), como la concentración de proteínas totales (Sánchez *et al.*, 2001; Pascual *et al.*, 2003) se han propuesto como indicadores de estrés y salud para diferentes especies de crustáceos.

2.4. Variables inmunológicas

El sistema inmune incluye un conjunto de mecanismos que permiten el reconocimiento de lo propio y lo extraño con el objetivo de proteger la integridad biológica del individuo. Estos mecanismos involucran el reconocimiento del invasor, así como la presencia de un sistema efector que elimina cualquier elemento que afecte dicha integridad (Bayne, 2003). A consecuencia de esto los

camarones han desarrollado a lo largo de su evolución un sistema de defensa para protección, el cual consiste de un sistema inmune innato (Vargas-Albores y Yepiz-Plascencia, 1998; Roch, 1999; Hoffman y Reichhart, 2002). Éste sistema inmune se llama innato porque consiste en una línea de defensa no específica (Mallon *et al.*, 2003; Fujita *et al.*, 2004), que incorpora elementos de diferenciación celular, protección contra estrés oxidativo y numerosas moléculas que permiten el reconocimiento cuyo objetivo es eliminar lo no propio (Vorbach *et al.*, 2003).

El sistema inmune innato de los invertebrados ha sido subdividido en celular y humoral (Smith y Chisholm, 1992; Lavine y Strand, 2002). La defensa celular se refiere a las respuestas mediadas por los hemocitos (células sanguíneas de los invertebrados) tales como fagocitosis, nodulación y encapsulación (Lavine y Strand, 2002). Mientras que las reacciones humorales comprenden distintas moléculas solubles, tales como los componentes del sistema proFenoloxidasa (Söderhäll *et al.*, 1996), proteínas involucradas en la coagulación de hemolinfa (Sritunyalucksana y Söderhäll, 2000) y moléculas asociadas al reconocimiento de agentes extraños (Vargas-Albores y Yepiz-Plascencia, 2000).

En los invertebrados, los hemocitos son los efectores primarios de la inmunidad celular no específica. El número de hemocitos circulantes puede variar y disminuir drásticamente durante una infección (Söderhäll y Cerenius, 1992), el estrés ambiental (Johansson *et al.*, 2000) o debido a la actividad endócrina durante el ciclo de muda (LeMoullac y Haffner, 2000). En los crustáceos, los hemocitos se producen en el tejido hematopoyético, que está situado en la porción dorsal y dorso-lateral del estómago, alrededor de la arteria antenal y en la base de los maxilípedos. Se han caracterizado tres tipos de hemocitos en base a criterios morfológicos y funcionales: hialinos, semigranulares y granulares (Johansson *et al.*, 2000).

En crustáceos, la melanización está regulada por una cascada de reacciones enzimáticas conocida como sistema proFenoloxidasa (proFo). Este sistema puede ser activado en forma natural por componentes microbianos tales como β -glucanos de hongos y los peptidoglicanos y lipolisacáridos bacterianos (Vargas-Albores, 1995). Durante su activación, la proFO se convierte en Fenoloxidasa (FO), por acción de una proteinasa llamada enzima activadora de la proFenoloxidasa. Ésta se encuentra inactiva en el interior de los gránulos de los hemocitos y se activa después de su liberación en presencia de calcio plasmático. La FO promueve la oxidación de fenoles a quinonas, que se polimerizan de manera no enzimática formando depósitos insolubles de melanina, que pueden ser observados como manchas oscuras en el caparazón de los camarones. La melanina también está implicada en los procesos de esclerotización y reparación de daños en la cutícula (Sritunyalucksana y Söderhäll, 2000).

2.5. Variables fisiológicas

Los índices fisiológicos tales como el índice de condición de K de Fulton (IC) y el índice hepatopancreático (IHP) pueden ser indicadores de una condición de estrés a nivel biológico y con ellos se puede evaluar y predecir los efectos que causan las modificaciones ambientales, antes de que se presente un daño irreversible (McCarthy y Shugart, 1990). El IC y el IHP, son indicadores biológicos que se han adoptado en los últimos años para medir el efecto del estrés (Silveira, 2005). En los camarones, el IC lo definieron para establecer comparaciones entre dos o más grupos de organismos, su valor puede fluctuar entre 0 y 1 (Ricker, 1975). El IHP lo definieron como la relación del peso del hepatopáncreas con el peso corporal total, el valor resultante permite inferir el posible estado nutricional de los organismos; un mayor valor de IHP indica una mejor condición nutricional de los camarones (Collins y Anderson, 1995).

3. JUSTIFICACIÓN

En México, la presencia de las enfermedades en los cultivos de camarón representa una de las principales limitantes para el desarrollo de camaronicultura y, estas se potencian cuando los organismos se someten a estrés por diferentes variables bióticas y abióticas, ya que el estrés juega un papel crucial en la susceptibilidad de estos a las enfermedades infecciosas y no infecciosas. Por lo que conocer la variación de los parámetros bioquímicos, fisiológicos y inmunológicos en condiciones de estrés como respuesta a la exposición a diferentes salinidades puede aportar datos para establecer índices de condición de salud de los organismos, que permitan detectar con oportunidad cuando los camarones se alejan de una condición óptima y se acercan a una condición de susceptibilidad. Tal información es importante para optimizar las tasas de crecimiento y supervivencia de este crustáceo, que permitan incrementar el margen de utilidad en la industria camaronícola.

4. HIPÓTESIS

La exposición del camarón *L. vannamei* a diferentes concentraciones de salinidad altera su condición bioquímica, inmunológica, fisiológica e influye en su tasa de crecimiento y supervivencia.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de salinidad (1, 10, 15, 25 y 35 g L⁻¹) sobre algunas variables bioquímicas, inmunológicas, fisiológicas y productivas del camarón *L. vannamei* cultivado experimentalmente.

5.1. Objetivos específicos

5.1.1. Evaluar el comportamiento, a nivel bioquímico, de la glucosa y la proteína en *L. vannamei* cultivado a diferentes salinidades.

5.1.2. Evaluar el comportamiento inmunológico (conteo total de hemocitos, proFenoloxidasa y Fenoloxidasa) en el camarón *L. vannamei* cultivado a diferentes salinidades.

5.1.3. Evaluar el comportamiento fisiológico (índice de condición de k de Fulton e índice hepatopancreático) en el camarón *L. vannamei* cultivado a diferentes salinidades.

5.1.4. Evaluar las tasas de crecimiento y supervivencia del camarón *L. vannamei* en diferentes concentraciones de salinidad y su relación con indicadores de condición.

6. METODOLOGÍA

6.1. Diseño experimental

Con el fin de determinar el efecto de diferentes concentraciones de salinidad, sobre el comportamiento de algunas variables bioquímicas, inmunológicas, fisiológicas y productivas, en condiciones de temperatura y fotoperiodo natural, se cultivó experimentalmente camarón *L. vannamei* durante 63 días, bajo cinco condiciones: $T_1 = 1 \text{ g L}^{-1}$, $T_2 = 10 \text{ g L}^{-1}$, $T_3 = 15 \text{ g L}^{-1}$, $T_4 = 25 \text{ g L}^{-1}$ y $T_5 = 35 \text{ g L}^{-1}$, con tres réplicas por tratamiento (Fig. 1).

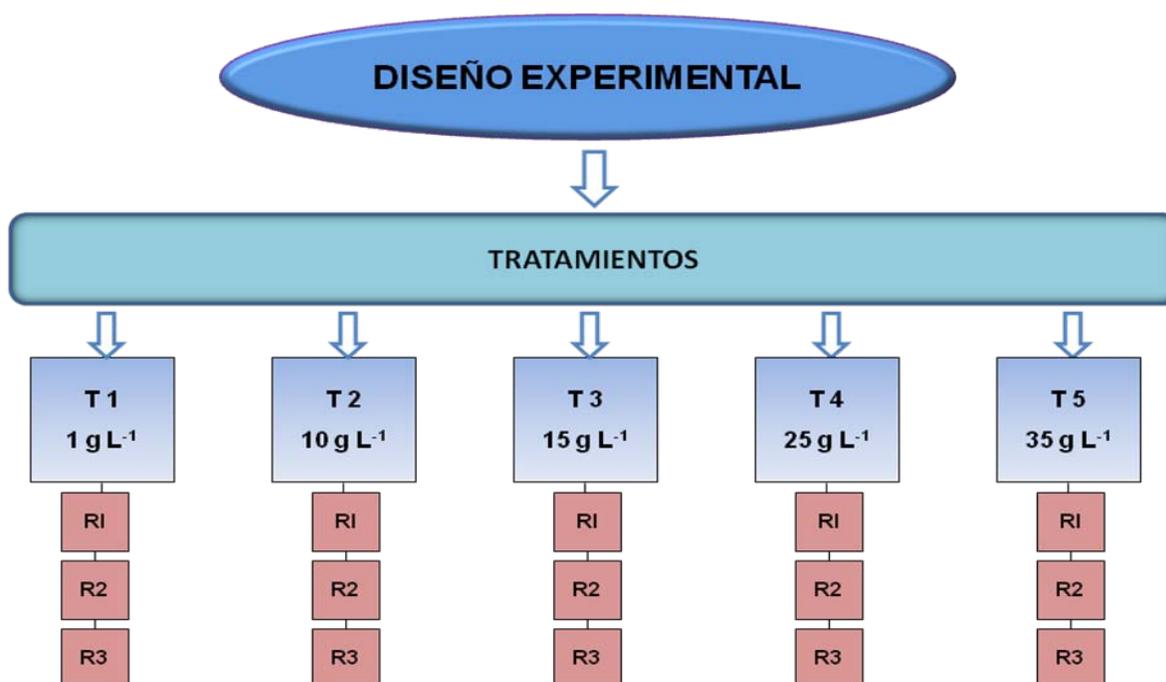


Fig. 1. Diseño experimental utilizado en el presente trabajo.

6.2. Organismos experimentales y aclimatación

Se obtuvieron 700 organismos juveniles de *L. vannamei* de una granja comercial ($3.0 \pm 0.5 \text{ g}$), libres del virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV). Los animales se sembraron en una tina (4000 L) con recirculación semicerrada,

aireación constante y alimentación *ad libitum* (dos veces por día: 08:00 y 16:00 h) hasta que alcanzaron un peso promedio de $(4.0 \pm 1.0 \text{ g})$. Una vez alcanzado este peso, los organismos se aclimataron a las salinidades (1, 10, 15, 25 ó 35 g L^{-1}) en lotes de 60 organismos por salinidad. La razón de aclimatación fue de 2 g L^{-1} , disminuyendo la salinidad cada media hora hasta llegar a la salinidad deseada. Una vez realizada la aclimatación se les dió un reposo por 24 horas para posteriormente ser usados en bioensayo.

6.3. Desarrollo experimental

Una vez aclimatados, los camarones se sembraron a razón de 15 organismos por réplica (manejando tres réplicas por tratamiento). La unidad experimental para cada réplica fue un recipiente de plástico de 100 L de capacidad con 70 L de agua. El peso de los organismos sembrados fluctuó entre $4.5 \pm 0.5 \text{ g}$. Los organismos se mantuvieron nueve días en el sistema experimental previo a la primera toma de muestra. Durante el desarrollo experimental, los camarones se alimentaron dos veces por día (08:00 y 16:00 h) con alimento comercial (Camaronina[®] 35%) al *ad libitum* iniciando con el 10% de su biomasa, disminuyendo o incrementando dicho valor en respuesta al consumo. Como cada unidad experimental se manejó sin recirculación de agua, para mantener una buena calidad de ésta, se mantuvo con aireación constante y cada 8 días se les realizó una limpieza por sifoneo y recambio de agua del 30%. Además, diariamente se monitoreó la concentración de oxígeno disuelto (OD), la temperatura y el pH. Cada 15 días se tomaban muestras por cada réplica para evaluar la concentración de amonio, nitritos y nitratos, utilizando las técnicas propuestas por Strickland y Parson (1972).



Fig. 2. Unidades experimentales utilizadas en el presente trabajo.

6.4. Toma y análisis de muestras para evaluar la condición bioquímica, inmunológica y fisiológica de los camarones expuestos a diferente salinidad.

Se realizaron tres tomas de muestras de los camarones contenidos en las réplicas de cada uno de los tratamientos: al inicio del trabajo experimental (día 1, muestreo 1), a mediados (día 30, muestreo 2) y al finalizar (día 63, muestreo 3). Para evaluar la condición bioquímica e inmunológica se obtuvo hemolinfa de los organismos experimentales de acuerdo al siguiente procedimiento:

Cuando los organismos tenían 12 horas de ayuno, se tomaron dos camarones de cada una de las réplicas de los tratamientos. Al primer organismo de cada réplica se le extrajo 100 μ L de hemolinfa con jeringas para insulina (1 mL, 27G x 13 mm) de la parte ventral que comprende el primer segmento de los pleópodos, ligeramente anterior al poro genital. Previo a ser usadas, las jeringas se lavaron y se les adicionó como anticoagulante SIC-EDTA (NaCl 450 mM, KCl 10 mM, Hepes 10 mM, EDTA 10 mM, pH 7.3), previamente enfriado a 4 °C, para mantener una proporción de dos volúmenes de SIC-EDTA por cada volumen de hemolinfa (Vargas-Albores *et al.*, 1993). Al extraer la hemolinfa, se evitó la

formación de burbujas en la jeringa, ya que éstas aceleraran el proceso de coagulación y con ello pueden ocasionar una alteración de sus componentes. Posteriormente, a los dos camarones se les cortó el último segmento del abdomen junto con los urópodos para identificar el estadio de muda a través de la observación directa del crecimiento de setas (Robertson *et al.*, 1987) con ayuda de un microscopio óptico.

Una vez extraída la hemolinfa, ésta se colocó en tubos Eppendorf de 1500 μL de capacidad pre-enfriados a 4 °C, éstos se colocaron en una hielera que contenía hielo molido. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 800 g por 4 min a 4 °C, después el plasma se pasó a otro tubo con el fin de utilizarlo para evaluar la Fenoloxidasa (FO) y el sobrante se almacenó a -20 °C para analizar posteriormente la concentración de proteínas. La pastilla de hemocitos se utilizó para obtener el sobrenadante del lisado de hemocitos (SLH) y realizar el análisis de la actividad de la Fenoloxidasa por activación de la proFenoloxidasa (proFo) contenida en los gránulos citoplasmáticos.

El segundo camarón de cada réplica se utilizó para realizar el conteo total de hemocitos y analizar la concentración de glucosa. Se extrajeron 100 μL de hemolinfa como en el párrafo anterior. La hemolinfa se colocó en tubos Eppendorf y se mezcló para tomar 50 μL con el fin de realizar el conteo total de hemocitos. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 800 g por 4 min a 4 °C y el plasma se paso a otro tubo donde fue almacenado a -20 °C para después analizar la concentración de glucosa.

6.4.1. Análisis de las variables bioquímicas

La concentración de glucosa se determinó de acuerdo al método GOD-PAP (Randox, Crumlin, Reino Unido) utilizando el procedimiento descrito en el kit comercial, el cual consiste en la oxidación enzimática (glucosa oxidasa) de la glucosa con la liberación de peróxido de hidrógeno que a su vez reacciona con

fenol y 4-amino fenazona en presencia de una peroxidasa, dando un cromógeno rojo violeta de antipirilquinonimina, que es proporcional a la cantidad de glucosa contenida en la muestra. Para dicho análisis se colocaron ~~20~~ del plasma sin diluir en una microplaca. Posteriormente, se agregaron 200 μL de la solución reactiva, mismas que se dejaron reaccionar por 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de reacción, las microplacas se colocaron en un lector de microplacas (Stat Fax[®] 2100 awareness technology, USA) y las absorbancias se midieron a una longitud de onda de 490 nm. La curva de calibración se elaboró a partir de una solución estándar que tenía una concentración de 100 mg dL^{-1} (5.5 mmol L^{-1}). Para elaborar la curva de calibración, se utilizaron las siguientes concentraciones: 100.00, 50.00, 25.00, 12.50, 6.25, 3.12, 1.56, 0.17 mg dL^{-1} . Como solución blanco se utilizó la solución salina isotónica para crustáceos SIC-EDTA (NaCl 450 mM, KCl 10 mM, Hepes 10 mM, EDTA 10 mM, pH 7.3; Vargas-Albores *et al.*, 1993).

La concentración de proteínas se determinó de acuerdo al método de Bradford (1976) adaptado a microplaca (Racotta y Palacios, 1998). Este método se basa en la reacción de los grupos amino libres con el azul de Comassie en presencia de ácido fosfórico y etanol produciendo un compuesto colorido. Primeramente, se realizó una dilución 1:200 del plasma con SIC-EDTA. A partir de esta dilución se colocaron 50 μL en una microplaca. Posteriormente, se agregaron 200 μL de la solución reactiva de Bradford (Bio-Rad, 500-0006; Hercules, CA, USA), mismas que dejaron reaccionar por 10 min a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de reacción, las microplacas se colocaron en un lector de microplacas (Stat Fax[®] 2100) y las absorbancias se midieron a una longitud de onda de 595 nm. La curva de calibración se realizó a partir de una solución de albúmina sérica bovina (Sigma, A-3912; St. Louis, MO, USA) con las siguientes concentraciones: 1.000, 0.500, 0.250, 0.125, 0.062, 0.031 mg mL^{-1} . Como solución blanco se utilizó SIC-EDTA.

6.4.2. Variables inmunológicas

Se usó la hemolinfa extraída del segundo organismo de cada réplica para realizar el conteo total de hemocitos, utilizando una cámara de Neubauer (Hausser Scientific, Horsham, PA, USA) que tiene una retícula de 0.01 mm. Se tomaron 50 μL de hemolinfa y se mezclaron con 150 μL de una solución de formol al 4%. A partir de esta dilución, utilizando un microscopio óptico, se realizaron 2 conteos de hemocitos por cada caso.

Para determinar la actividad de la FO, se usó el plasma de la hemolinfa del primer camarón de cada réplica de los tratamientos, que se obtuvo después de la centrifugación a 800 g por 4 min a 4 °C. En cada caso, el paquete celular que se formó en el fondo, se lavo con 1 mL de SIC-EDTA. Posteriormente, cada muestra lavada se centrifugó a 800 g por 4 min a 4 °C y el sobrenadante se desechó. Al paquete celular, se le adicionaron 300 μL de cacodilato de sodio (10 mM, pH 7) enfriado en hielo y, se centrifugó a 14,000 g por 10 min a 4 °C, para romper las células y obtener el SLH. El SLH y el plasma se mantuvieron en hielo (4°C) para realizar los análisis de la actividad de la FO.

La medición de la actividad de la FO en plasma y FO en SLH (proFO) se realizó utilizando la técnica descrita por Hernández-López (2001). La actividad de la FO en plasma se midió espectrofotométricamente por la formación de dopacromo a partir de L-dihidroxifenilalanina (L-Dopa), utilizando el siguiente procedimiento: a 50 μL de muestra se le adicionaron 50 μL de búfer de cacodilato (10 mM, pH= 7) y 50 μL de L-Dopa (3 mg mL⁻¹ en agua destilada). Esta solución se incubó durante 30 min a 37 °C, en un lector de microplacas (Stat Fax[®] 2100) se determinó la absorbancia a 492 nm. Para evaluar la actividad de la FO en SLH (proFO), a 50 μL de la muestra de SLH se le añadieron 50 μL de tripsina (0.1 mg mL⁻¹ en agua destilada) para activar la proenzima (proFO) y convertirla en FO (procedimiento ya descrito) y realizar el análisis espectrofotométrico. En cada caso

analizado, se utilizó una solución blanco utilizando en lugar de la muestra agua destilada. La actividad de la FO se midió como se describió anteriormente y se expresó como el cambio en la absorbancia a 492 nm x min x la concentración de proteína en mg. La actividad de la FO y la proFO disponible en cada muestra se calculó de la siguiente forma:

FO total = FO + FO activada con tripsina

proFO = FO total - FO

6.4.3. Análisis de las variables fisiológicas

Para los organismos de cada réplica, se determinó el índice de condición K de Fulton (Richer, 1975) y el índice hepatopancreático (IHP; Collins y Anderson, 1995). Para el primer caso, se utilizó el peso y longitud total de todos los organismos, cuyos valores se obtuvieron mediante el uso de una balanza granataria (Ohaus AS200 FL, USA) y una regla, respectivamente. El índice se determinó usando la siguiente fórmula:

$$K \text{ de Fulton} = (\text{Peso total} / \text{longitud total del camarón}^3) \times 100$$

Para evaluar el IHP, de cada réplica de los tratamientos se tomaron dos camarones a los cuales se les extrajo el hepatopáncreas para pesarlo. Para calcular el índice se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{IHP} = (\text{peso del hepatopáncreas} / \text{peso total del camarón}) \times 100$$

6.5. Análisis de las variables productivas

Semanalmente, se registró el peso y longitud total de los organismos de cada tratamiento, para determinar la tasa de crecimiento y relación longitud-peso utilizando las siguientes formulas:

$$T_c = (P_F - P_I / t)$$

Donde T_c es la tasa de crecimiento, P_F y P_I es el peso promedio final e inicial, respectivamente, y t es el tiempo.

La relación total de longitud-peso para las diferentes longitudes se calculó usando el siguiente modelo potencial:

$$P_o = a (L_t)^b$$

Donde P_o es el peso del organismo en g; L_t es la longitud total en cm, a y b son los coeficientes de ajuste que sirven para determinar si el crecimiento es isométrico o alométrico en la relación talla-peso.

La supervivencia se calculó usando la siguiente formula:

$$S = (T_I / T_F) * 100$$

Donde S es la supervivencia, T_I y T_F son igual a la cantidad de organismos iniciales y finales, respectivamente.

6.6. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATISTICA™ 7, utilizando un nivel de significancia de $P < 0.05$. Las variables bioquímicas, inmunológicas, fisiológicas y productivas se analizaron con un ANOVA y estadística descriptivas, comparando los resultados entre las diferentes salinidades y diferentes tiempos de muestreo.

7. RESULTADOS

7.1. Variables físico-químicos del agua

7.1.1. Temperatura, OD, pH, nitritos, nitratos y amonio

El presente estudio se realizó bajo condiciones ambientales del laboratorio, y durante el desarrollo experimental no se presentaron diferencias significativas entre la temperatura de los tratamientos ($P > 0.05$). La temperatura promedio general del agua fue de 27.25 ± 0.14 °C, en lo que corresponde al comportamiento de la concentración de OD y pH durante el desarrollo experimental desde el inicio del experimento los niveles de OD se mantuvieron constantes manteniéndose en un promedio de 5.0 ± 0.07 mg L⁻¹, al igual que el pH que se mantuvo en un promedio de 7.9 ± 0.1 . No se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.05$) (Tabla 1).

Durante el desarrollo experimental no se presentaron diferencias significativas en la concentración de nitritos, nitratos y amonio entre las diferentes concentraciones de salinidad, ni entre muestreos ($P > 0.05$). La concentración promedio de nitritos, nitrato y amonio fue de 0.02 ± 0.005 , 1.23 ± 0.01 y 0.007 ± 0.002 mg L⁻¹, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Variables físico-químicas del agua en cultivo de el cultivo de *Litopenaeus vannamei* a diferentes concentraciones de salinidad.

	1 g L ⁻¹	10 g L ⁻¹	15 g L ⁻¹	25 g L ⁻¹	35 g L ⁻¹	S
Temperatura	26.84±2.04	26.92±2.01	26.72±1.91	26.82±2.02	27.00±2.10	NS
Oxígeno disuelto	5.00±0.04	5.04±0.07	4.98±0.05	4.89±0.09	4.89±0.07	NS
pH	8.01±0.11	7.98±0.08	7.97±0.11	7.91±0.09	7.87±0.12	NS
Nitritos	0.02±0.02	0.03±0.02	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	NS
Nitratos	1.24±0.18	1.22±0.18	1.23±0.19	1.24±0.19	1.23±0.19	NS
Amonio	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	NS

Resultados del ANOVA (diferentes salinidades: S), NS: no significativo. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar. El cultivo duró 63 días.

7.2. Variables bioquímicas

En la figura 5 se presenta la concentración de glucosa y proteína de los diferentes niveles de salinidad para cada uno de los tres muestreos. No se presentaron diferencias significativas en la concentración de glucosa y proteína en hemolinfa entre las concentraciones de salinidad para ninguno de los muestreos ($P > 0.05$). La concentración de glucosa fluctuó de 9.46 ± 4.60 (muestreo 2 en 1 g L^{-1}) a $23.77 \pm 5.83 \text{ mg dL}^{-1}$ (muestreo 3 en 10 g L^{-1}) y la de proteína de 89.65 ± 20.00 (muestreo 1 en 1 g L^{-1}) a $239.27 \pm 35.38 \text{ mg mL}^{-1}$ (muestreo 3 en 25 g L^{-1}). En el análisis para los diferentes tiempos de muestreo, si se presentaron diferencias significativas entre la concentración de glucosa en el muestreo 1 y 2 ($P < 0.05$), así como entre el 2 y 3 ($P < 0.05$). De igual manera, la concentración de proteína presentó diferencias significativas entre el muestreo 1 con el 2 y 3 ($P < 0.05$) (Fig. 6).

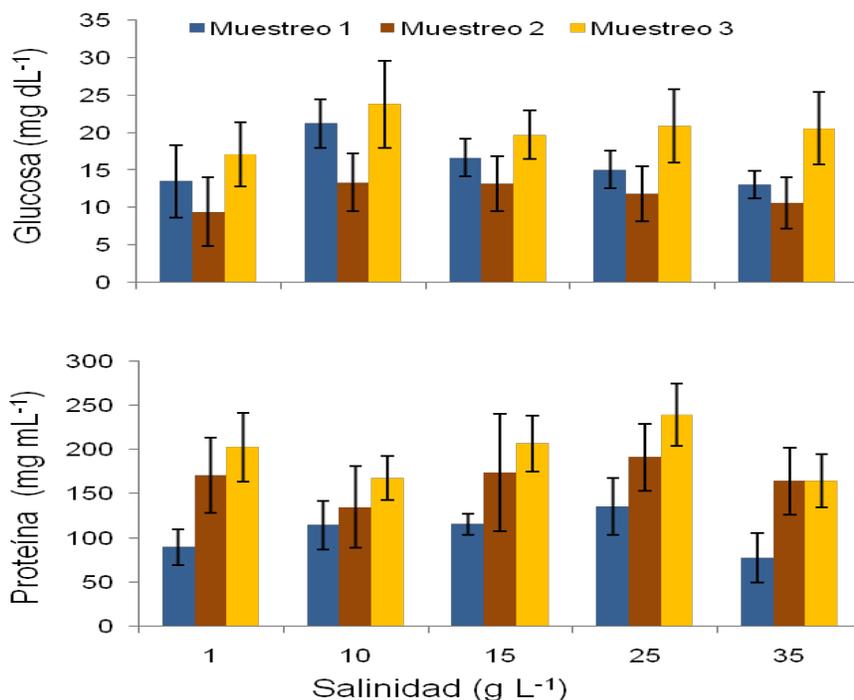


Fig. 3. Concentración de glucosa y proteína en hemolinfa del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado en diferente salinidad. Barras de error = promedio \pm desviación estándar.

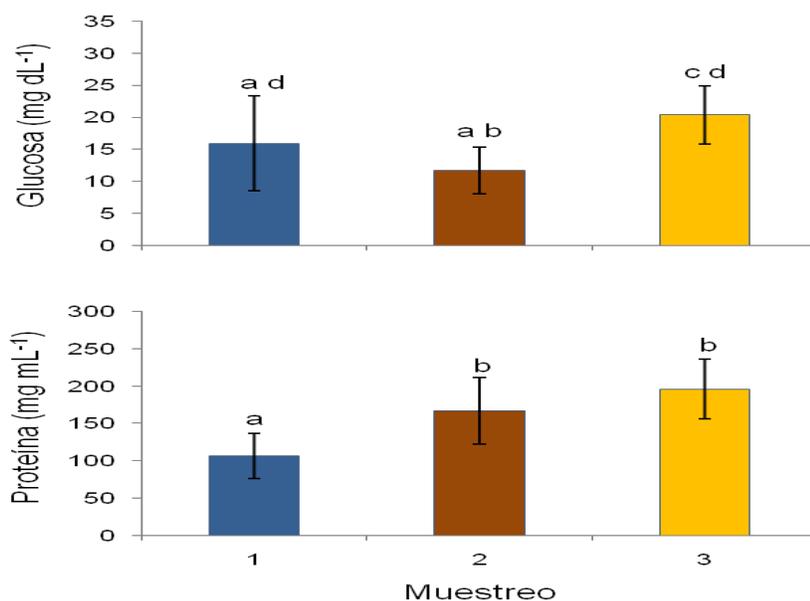


Fig. 4. Concentración de glucosa y proteína a diferentes tiempos de muestreo (1 = 1 día, 2 = 30 días y 3 = 63 días) en hemolinfa del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado en diferente niveles salinidad (1, 10, 15, 25 y 35 g L⁻¹). Barras de error = promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas.

7.3. Variables inmunológicas

En figura 5 se presenta un resumen de los valores promedio de las variables inmunológicas. No existen diferencias significativas en el conteo total de hemocitos, la actividad de la FO, proFo y Fo total entre las concentraciones de salinidad para ninguno de los muestreos ($P > 0.05$). Cuando se realizó un análisis entre los diferentes tiempos de muestreo, sí se presentaron diferencia significativas en el conteo total de hemocitos entre el muestreo 1 con el 2 y 3 ($P < 0.05$), pero no se presentaron diferencias en la actividad de la FO, proFO y FO total ($P > 0.05$; Fig. 6). El conteo total de hemocitos fluctuó entre 9.18 ± 2.43 (muestreo 3 en 10 g L⁻¹) y 20.86 ± 4.34 células $\times 10^6$ m L⁻¹ (muestreo 1 en 25 g L⁻¹); la actividad de la FO entre 0.005 ± 0.000 (muestreo 2 en 10 g L⁻¹) y 0.022 ± 0.003 (muestreo 1 en 35 g L⁻¹); la actividad de la proFO entre 0.039 ± 0.008 (muestreo 2 en 10 g L⁻¹) y 0.053 ± 0.017 (muestreo 3 en 1 g L⁻¹) y la de la FO total entre 0.038 ± 0.009 (muestreo 2 en 10 g L⁻¹) y 0.076 ± 0.025 (muestreo 3 en 35 g L⁻¹).

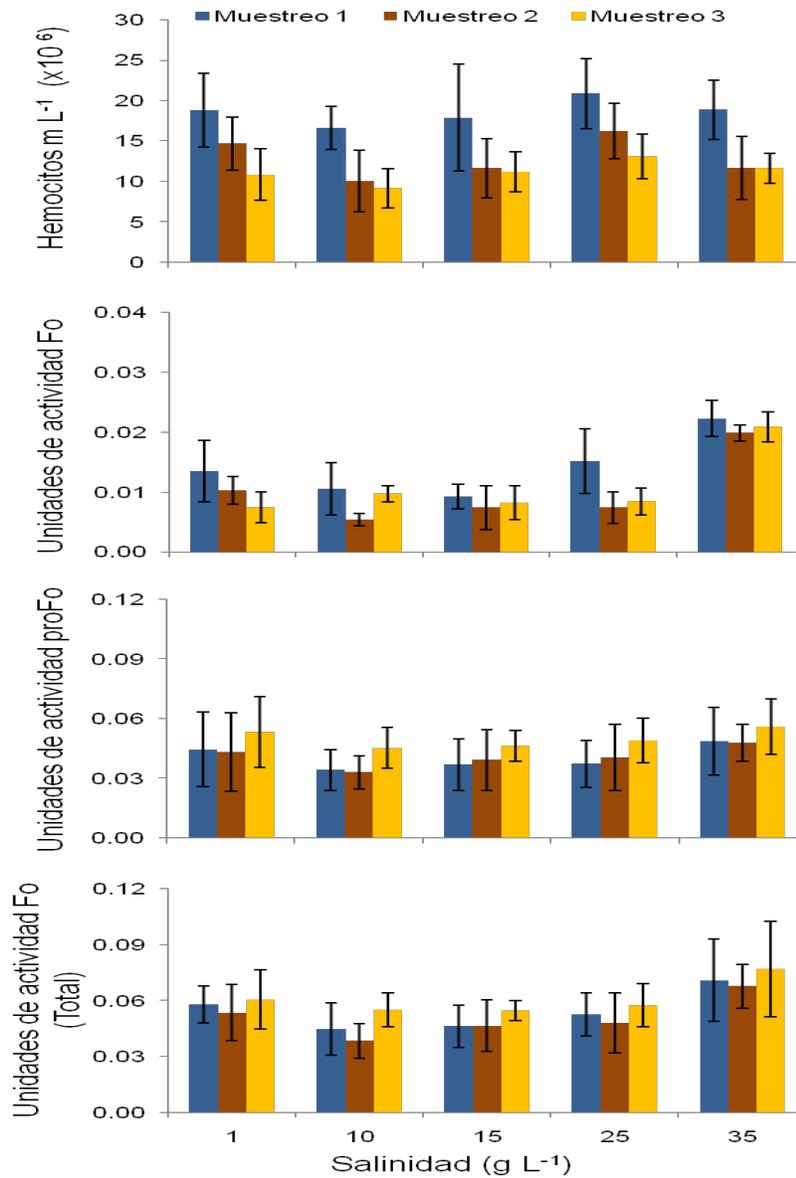


Fig. 5. Variables inmunológicas en hemolinfa del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferente de salinidad. Barras de error = promedio \pm desviación estándar.

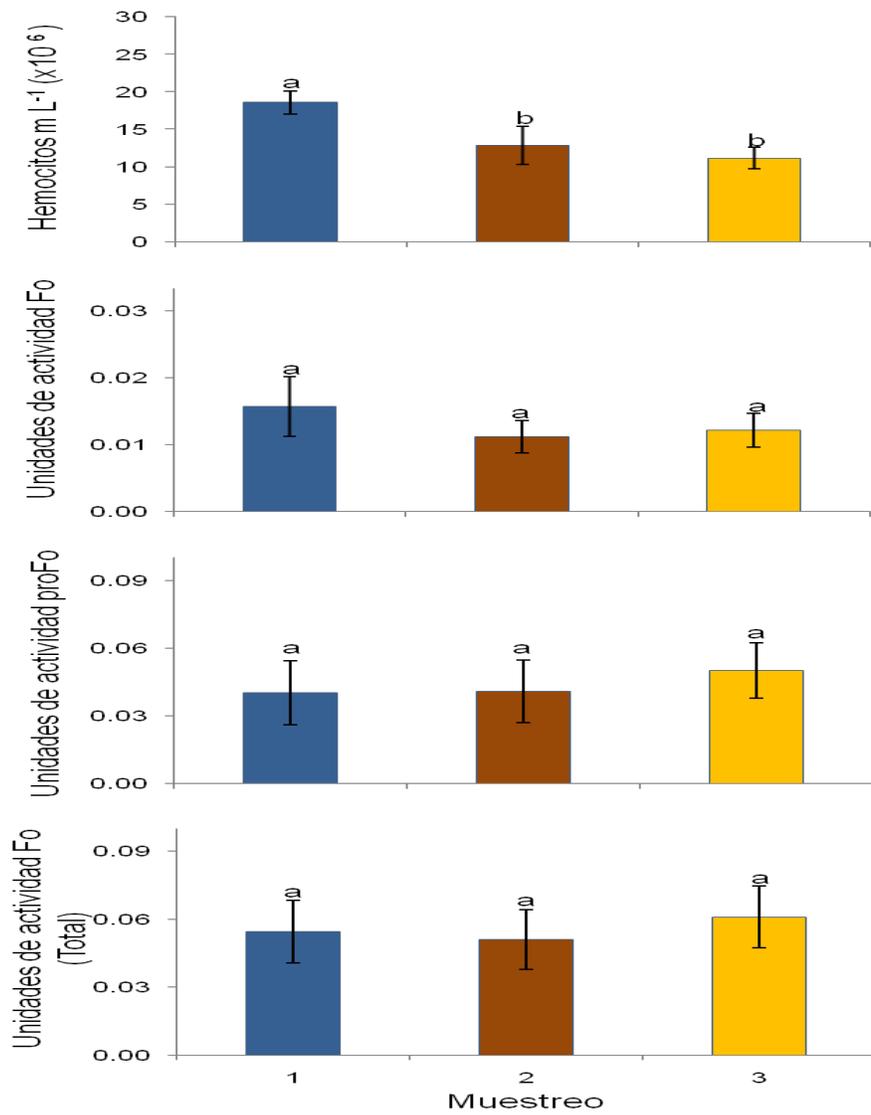


Fig. 6. Comportamiento de algunas variables inmunológicas en hemolinfa del camarón *Litopenaeus vannamei* a diferentes tiempos de muestreo (1 = 1 día, 2 = 30 días y 3 = 63 días). Barras de error = promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas.

7.4. Variables fisiológicas

El índice de condición e IHP del camarón *L. vannamei* no presentaron diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de salinidad ($P > 0.05$; Tabla 2). El menor valor del índice de condición se registró en la salinidad de 10 g L^{-1} (0.69 ± 0.06) y el mayor en la de 1 g L^{-1} (0.73 ± 0.06), El menor valor en el IHP se presentó en la salinidad de 10 g L^{-1} (3.26 ± 0.35) y el mayor en la de 25 g L^{-1} (3.99 ± 0.25).

Tabla 2. Valores de las variables fisiológicas y productivas del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferente salinidad durante 63 días.

Variables		1 g L^{-1}	10 g L^{-1}	15 g L^{-1}	25 g L^{-1}	35 g L^{-1}	S
Fisiológicas	Índice de condicion	0.73 ± 0.06	0.69 ± 0.07	0.70 ± 0.02	0.72 ± 0.10	0.72 ± 0.02	NS
	Índice hepatopancreatico	3.50 ± 0.53	3.26 ± 0.35	3.32 ± 0.06	3.99 ± 0.25	3.87 ± 0.49	NS
Productivas	Tasa de crecimiento	0.78 ± 0.1	0.53 ± 0.2	0.56 ± 0.0	0.67 ± 0.1	0.61 ± 0.1	NS
	Peso promedio final	10.74 ± 0.1	9.20 ± 0.7	9.67 ± 0.6	10.22 ± 1.27	9.87 ± 0.5	NS

Resultados del ANOVA (diferentes salinidades: S), NS: no significativo. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar.

7.5. Variables productivas

En la tabla 2 se presentan los resultados de las tasas de crecimiento de *L. vannamei*. No se registraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0.05$). La menor tasa de crecimiento se presentó en la salinidad de 10 g L^{-1} ($0.53 \pm 0.2 \text{ g semana}^{-1}$) y la mayor en la de 1 g L^{-1} ($0.78 \pm 0.1 \text{ g semana}^{-1}$).

En la tabla 2 y figura 7 se presentan los resultados del crecimiento en peso promedio final de *L. vannamei*. No se registraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0.05$). El menor peso promedio se presentó en la salinidad de 10 g L^{-1} ($9.20 \pm 0.7 \text{ g semana}^{-1}$) y el mayor en la de 1 g L^{-1} ($10.74 \pm 0.1 \text{ g semana}^{-1}$).

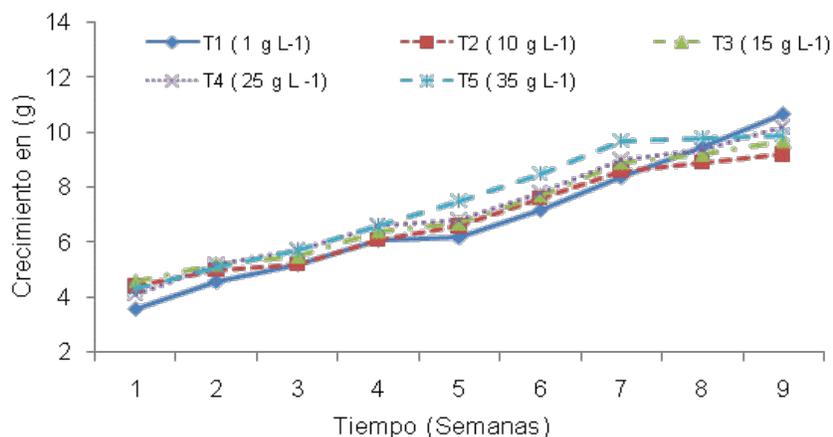


Fig. 7. Crecimiento en peso de *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferentes concentraciones de salinidad durante 9 semanas. Se indica el peso promedio.

La supervivencia promedio de *L. vannamei* se muestra en la figura 8.

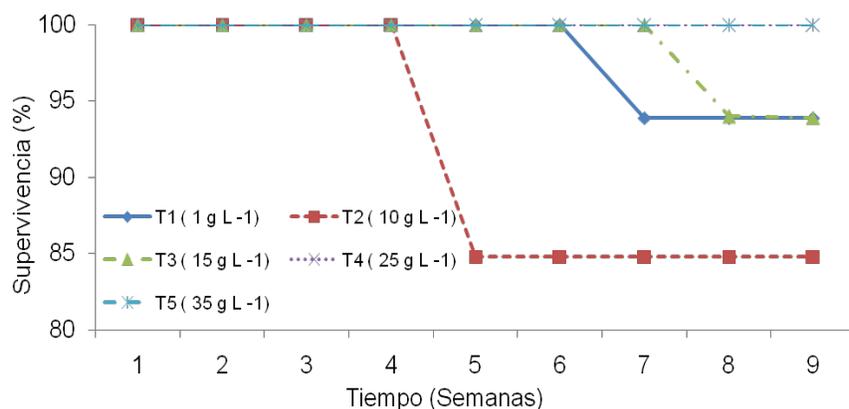


Fig. 8. Supervivencia de *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferentes concentraciones de salinidad durante las 9 semanas del experimento.

Como se muestra en la figura 8, la menor supervivencia de *L. vannamei* se presentó en la salinidad de 10 g L^{-1} , con una mayor supervivencia en 25 y 35 g L^{-1} .

En la figura 9 se muestran, en el modelo potencial, los valores del coeficiente de determinación (R^2) para la relación longitud-peso, mostrando, con el ajuste apropiado, una tendencia similar a la presentada en la tasa de crecimiento,

según la variabilidad observada en cada salinidad. El valor mínimo obtenido fue 0.970 (10 g L^{-1}) y el valor máximo de 0.990 (1 g L^{-1}). En lo que corresponde al exponente (b) no presentó una tendencia similar a la tasa de crecimiento, presentando un crecimiento isométrico con un valor de 3.042 ($t=2.06$; 15 g L^{-1}) y 3.014 ($t=0.93$; 25 g L^{-1}), un crecimiento alométrico positivo de 3.054 ($t=4.32$; 1 g L^{-1}), 3.088 ($t=3.39$; 10 g L^{-1}) y 3.250 ($t=13.31$; 10 g L^{-1}).

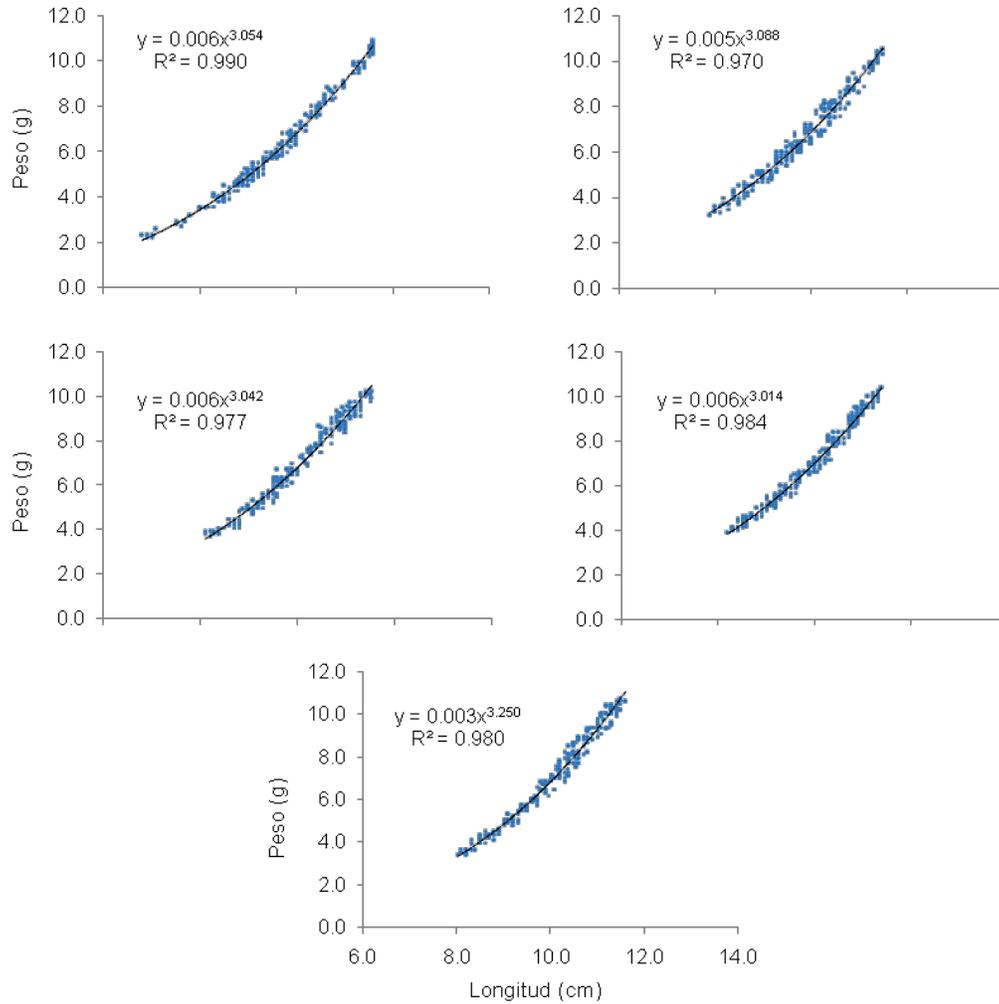


Fig. 9. Relación longitud-talla-peso de *Litopenaeus vannamei* cultivado a diferentes salinidad (1 g L⁻¹, 10 g L⁻¹, 15 g L⁻¹, 25 g L⁻¹, 35 g L⁻¹) durante las 9 semanas del experimento.

8. DISCUSIÓN

8.1. Variables fisicoquímicas del agua

El comportamiento de las variables físico-químicas del agua fue similar entre los tratamientos, sin observarse diferencias significativas. Los valores de temperatura registrados se encuentran dentro del intervalo óptimo para el cultivo de camarón de acuerdo a lo reportado por Brock y Main (1994), quienes mencionan que *L. vannamei* puede crecer y sobrevivir adecuadamente en la temperatura de 23 a 30 °C. Durante el desarrollo experimental, la concentración de OD fue de aproximadamente 5.0 mg L⁻¹, la cual está reportada como adecuada para la especie estudiada (Martínez-Palacios *et al.*, 1996). De igual manera, las concentraciones de pH (promedio = 7.9), nitritos (0.02 mg L⁻¹), nitratos (1.23 mg L⁻¹) y amonio (0.007 mg L⁻¹) registradas están dentro del intervalo óptimo para el cultivo de camarón blanco ya que éste puede crecer y sobrevivir adecuadamente en un intervalo de pH de 5.5 a 8.5 (Boyd y Tucker, 1998). Por otro lado, la concentración letal media (LC₅₀) de nitritos es de 9 (Gross *et al.*, 2004), la de nitratos de 3,400 mg L⁻¹ (Tsai y Chen, 2002) y la de amonio de 70.9 mg L⁻¹ (Frías-Espéricueta *et al.*, 1999).

8.2. Variables bioquímicas

Glucosa

Durante los 63 días de cultivo, la concentración de glucosa en la hemolinfa de los camarones no presentó diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de salinidad. Aunque, se observó un mayor nivel de glucosa cuando los organismos se mantuvieron en una salinidad de 10 g L⁻¹, presentando su menor concentración en los camarones expuestos a 1 g L⁻¹. Los valores registrados fluctuaron entre 9.46 y 23.77 mg dL⁻¹, los cuales son similares a los reportados por Mercier *et al.* (2006), quienes encontraron que las concentraciones

de glucosa en *L. vannamei* sometido a manipulación crónica varían entre 8.5 y 17.1 mg dL⁻¹. Además, se encuentran dentro de los valores basales de *L. vannamei* (15 mg dL⁻¹), cuyo valor puede elevarse hasta 60 mg dL⁻¹ cuando los organismos se estresan (Carreño *et al.*, 1999). Aunque, los datos obtenidos en nuestro estudio son menores a lo reportado por Pascual *et al.* (2003) para camarón *L. vannamei* sometido a estrés agudo (24.8 a 58.2 mg dL⁻¹) y crónico (29.5 a 59.6 mg dL⁻¹). Existen reportes que muestran que en la hemolinfa de los camarones se incrementan los niveles de glucosa cuando los organismos se estresan e incrementan su demanda energética (Van Aardt, 1988; Racotta y Palacios, 1998; Hall y Van Ham, 1998; Racotta *et al.*, 2002). Lo cual indica en nuestro estudio, que cuando los camarones se mantuvieron a 10 g L⁻¹ de salinidad presentaron un mayor gasto energético, ya que en éste se registraron las mayores concentraciones de glucosa. En la salinidad de 1 g L⁻¹ se observó la menor concentración de glucosa en hemolinfa, esta respuesta de hipoglicemia es similar a la observada en trabajos de estrés a largo plazo, ya que la glucosa circulante fue utilizada para compensar la condición de estrés (Pascual *et al.*, 2003), inclusive Joseph y Philip (2007) determinaron que al someter *Penaeus monodon* a 0 g L⁻¹ de salinidad, la glucosa disminuyó significativamente con respecto a los camarones cultivados a 15 g L⁻¹. Lo anterior indica un mayor costo fisiológico para el proceso de osmorregulación en un ambiente hiposalino.

Aunque no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos de salinidad, un análisis para los tiempos de muestreo (1 = 1 día, 2 = 30 días y 3 = 63 días), mostró diferencias significativas, encontrando una tendencia de la glucosa a incrementarse conforme pasó transcurrió el experimento. Aunque dicha tendencia se interrumpió en el segundo muestreo (día 30), ya que en éste se presentó el menor nivel de glucosa. La tendencia en el incremento de la glucosa concuerda con lo reportado por Mercier *et al.* (2006) quienes indican que el nivel de glucosa en los camarones tiende a incrementarse cuando los organismos se someten a estrés por manejo a largo plazo, al igual que cuando éstos se exponen a cambios bruscos de salinidad en cortos periodos de tiempo (Joseph y Philip,

2007). Nuestros resultados también muestran que la salinidad pudo afectar levemente, pero de manera crónica, en todos los tratamientos, ya que en todos los casos permaneció la tendencia hacia el incremento, pero con valores de glucosa inferiores a los reportados por otros autores para estrés crónico, como es el caso de Pascual *et al.* (2003) quienes reportaron concentraciones de 29.5 a 59.6 mg dL⁻¹.

Proteína

La concentración de proteína total en la hemolinfa de los camarones, en los diferentes tratamientos de salinidad estudiados, no presentó diferencias significativas. Los valores fluctuaron de 89.65 a 239.27 mg mL⁻¹. Los cuales se encuentran dentro del intervalo reportado para niveles de proteína circulante en hemolinfa de camarón *L. vannamei* (70 a 700 mg mL⁻¹) (Sánchez *et al.*, 2001; Rosas *et al.*, 2002). La menor concentración de proteína se registró en los organismos mantenidos en la salinidad de 1 y la mayor en la de 25 g L⁻¹. Existen reportes que indican que la salinidad óptima para el camarón está asociada al metabolismo de proteínas debido a la participación de los aminoácidos libres en la regulación y mantenimiento del volumen celular (Claybrook, 1983). Además, cuando el camarón se expone en salinidades diferentes a las de su punto isosmótico, el costo de la osmorregulación es alto, lo que se traduce en un mayor gasto energético, donde las proteínas se utilizan como una de las fuentes de energía disminuyendo con ello su concentración en la hemolinfa (Claybrook, 1983; Chen *et al.*, 1994; Racotta y Palacios, 1998; Racotta y Hernández-Herrera, 2000; Sánchez *et al.*, 2001; Rosas *et al.*, 2001; Perazzolo *et al.*, 2002).

Se encontraron diferencias significativas en la concentración de proteína total en la hemolinfa de los camarones, cuando se realizó un análisis entre tiempos de muestreo (1 = 1 día, 2 = 30 días y 3 = 63 días), presentándose una tendencia de incremento de la concentración conforme avanzó el cultivo. Lo cual puede indicar que al inicio del estudio los camarones utilizan a la proteína como

una fuente de energía ante la demanda energética por el costo de la osmorregulación, mientras logra estabilizar su sistema osmorregulatorio a la condición de salinidad, como ya ha sido reportado por otros autores (Charmantier *et al.*, 1994; Lignot *et al.*, 1999; Lignot *et al.*, 2000; Rosas *et al.*, 2002; Perazzolo *et al.*, 2002). Además, se corrobora lo anterior con los datos que se presentaron en el tratamiento de salinidad de 25 g L⁻¹, que se encuentra alrededor del punto isosmótico (Castille y Lawrence, 1981), donde se presentaron las mayores concentraciones de proteína, debido a un menor estrés que repercutió en menor gasto energético, dado que se ha reportado una disminución en la concentración de proteína en la hemolinfa de *L. vannamei* cuando se expone a estrés agudo (Racotta y Palacios, 1998).

8.3. Variables inmunológicas

Conteo total de hemocitos (CTH)

No se presentaron diferencias significativas en el CTH entre los organismos expuestos a diferentes salinidades. Los valores registrados fluctuaron entre 9.18 y 20.86 x 10⁶ células mL⁻¹. En esta misma especie se han reportado valores desde 7.91 x 10⁶ células mL⁻¹ hasta 16.40 x 10⁶ células mL⁻¹ cuando los organismos se han expuesto a condiciones bajas de hipoxia y cuando se encuentran infectados con el virus del taura (Song *et al.*, 2003; Magallon-Servin, 2004). El CTH puede variar dentro de una misma especie debido a que es una variable que se ve afectada por el sexo, muda, desarrollo, estado reproductivo, nutrición, temperatura, pH, OD, amonio y salinidad, entre otras variables ambientales (Le Moullac *et al.*, 1998; Sánchez *et al.*, 2001; Cheng *et al.*, 2002; Cheng *et al.*, 2003; Pascual *et al.*, 2003; Pascual *et al.*, 2004).

En el análisis para los diferentes tiempos de muestreo (1 = 1 día, 2 = 30 días y 3 = 63 días) si se registraron diferencias significativas y, el CTH presentó una tendencia de decremento conforme avanzó el desarrollo experimental en todos los

tratamientos de salinidad, lo cual puede indicar que los organismos estuvieron sometidos a un estrés crónico por salinidad, ya que el mayor CTH se registró en la salinidad de 25 g L⁻¹, la cual está cerca del punto isosmótico de la especie estudiada (Castille y Lawrence, 1981). Es importante mencionar que una disminución prolongada en el CTH en camarones expuestos a algún estresor fisiológico o ambiental, puede conducir a una inmunodepresión que incrementa a su vez el riesgo de infecciones por microorganismos (Perazzolo *et al.*, 2002). Una tendencia de decremento en el CTH ya se ha reportado para esta misma especie, como signo de estrés, por ejemplo, el CTH se ve reducido cuando es sometido a un efecto de hipoxia (Mikulski *et al.*, 2000), de igual manera, en esta misma especie se ha observado una disminución del número de hemocitos cuando los camarones están infectados por el virus del taura (Song *et al.*, 2003). En *Farfantepenaeus paulensis*, el CTH fue menor a baja salinidad (Perazzolo *et al.*, 2002). En *Penaeus stylirostris* se ha demostrado que cuando esta especie es expuesta a condiciones hipóxicas, el CTH se ve reducido hasta en un 7.6% (Le Moullac, *et al.*, 1998). Mientras que en *L. setiferus* se ha observado una disminución en el CTH ante un incremento en la temperatura (Pascual *et al.*, 2003) y en la misma especie, Sánchez *et al.* (2001) reportan un decremento en el CTH por efecto de la aclimatación.

Sistema de la proFenoloxidasa

Durante los 63 días de cultivo experimental no se presentaron diferencias significativas ni en la actividad de la proFO, FO y FO total entre los tratamientos de salinidad ni entre los tiempos de muestreo; aunque, se observó una tendencia a la disminución en las salinidades mas bajas. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Lamela *et al.* (2005), donde tampoco encontraron diferencias significativas en la actividad FO cuando sometían al camarón *L. schmitti* a diferentes salinidades (8, 18 y 35 g L⁻¹), encontrando de igual manera una tendencia a disminuir en las salinidades mas bajas.

Varios autores han encontrado en esta misma especie, el efecto que tienen las diferentes variables ambientales en la disminución del sistema de la proFenoloxida, Liu y Chen (2004) reportan que se incrementa la susceptibilidad a *V. alginolyticus* cuando es expuesto a un incremento en la concentración de amonio en el agua, afectándose la respuesta inmune a causa de una reducción en la actividad fagocítica, y una disminución en la actividad de la FO. Tseng y Chen (2004) han demostrado que una alta concentración de nitritos disminuye su resistencia y la actividad de la FO. Liu y Chen (2004) y Tseng y Chen (2004), encontraron que existe una relación entre los cambios ambientales y el sistema proFO.

En otras especies también se han encontrado el efecto de las variables ambientales sobre su disminución del sistema inmune, encontrando que la actividad de la FO disminuye ante temperaturas bajas y altas, teniendo un impacto en la función inmune de *L. setiferus* (Sánchez *et al.*, 2001). En *Macrobrachium rosenbergii* un incremento en el pH, la temperatura y una reducción en la salinidad afecta la función inmune de esta especie disminuyendo la actividad de la FO (Cheng y Chen, 2000). También se conoce que el estrés por amonio en esta especie disminuye la actividad de la FO y el estallido respiratorio, reduciendo la resistencia inmune e incrementando la susceptibilidad de esta especie a *Enterococcus* (Cheng y Chen, 2002). En *Farfantepenaeus paulensis* se ha demostrado que el estrés por captura disminuye la actividad de la FO total y específica (Perazzolo *et al.*, 2002). Estos resultados concuerdan también con el trabajo realizado por Cheng *et al.* (2002) donde se evaluó el efecto de la hipoxia en la función inmune de *Macrobrachium rosenbergii* cuando éste es infectado por *Enterococcus*, encontrando una reducción en la supervivencia de los organismos, cuando éstos fueron expuestos a una concentración de oxígeno de 1.75 mg L^{-1} . Por lo tanto, la disminución de la actividad del sistema de la proFO en salinidades más bajas puede causar un daño inmune en los camarones, aumentando el riesgo de infecciones en los microorganismos oportunistas.

8.4. Variables fisiológicas

Índice de condición (IC) K de Fulton

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en el índice de condición entre los diferentes tratamientos de salinidad, lo que significa que los organismos mantuvieron una buena condición en todas las salinidades, ya que los valores en dicho índice fluctuaron entre 0.63 y 0.79. Se ha reportado que entre más se acerque el valor del índice de condición a 1, es un reflejo de buena condición de salud, ya que éste índice se calcula con los datos de peso y longitud (Bagenal y Tesch, 1978).

El mayor valor del factor de condición se presentó en el tratamiento de salinidad de 1 g L⁻¹, lo cual indica que los camarones pueden ser cultivados exitosamente a bajas salinidades. Sin embargo, requieren un mayor gasto energético para mantener la capacidad osmorregulatoria y demás funciones, ya que en este tratamiento la hemolinfa de los organismos mantuvo los menores niveles de glucosa y proteína; que es un reflejo de hipoglucemia (Pascual *et al.*, 2003; Joseph y Philip, 2007), producto del estrés crónico que aceleró el consumo de la glucosa para compensar la condición de estrés, en el primer caso. De igual manera, en el segundo caso, la baja concentración de proteína refleja posiblemente un mayor gasto energético, debido a que las proteínas se utilizan como una de las fuentes de energía disminuyendo con ello su concentración en la hemolinfa (Racotta y Hernández-Herrera, 2000; Sánchez *et al.*, 2001; Rosas *et al.*, 2001; Perazzolo *et al.*, 2002).

Índice hepatopancreático (IHP)

En el presente estudio el IHP no mostró diferencias significativas entre los tratamientos de salinidad, presentando valores que fluctuaron entre 3.26 y 3.99. El mayor valor se registró en la salinidad de 25 g L⁻¹, lo cual indica que en esta

salinidad el camarón no hizo gasto de sus reservas energéticas, debido a que se encontraba alrededor de su punto isosmótico (Castille y Lawrence, 1981), también significa que bajo todos los tratamientos los organismos se mantuvieron en buena condición nutricional, ya que se ha reportado que valores elevados IHP es un indicativo de una mejor condición general, esto debido a que el hepatopáncreas, además de ser una glándula secretora, es un órgano de reserva de minerales y sustancias orgánicas tales como los lípidos, las proteínas y el glucógeno (Collins y Anderson, 1995; Gibson, 1982).

Los resultados anteriores concuerdan con lo reportado por Li *et al.* (2007) quienes tampoco encontraron diferencias significativas en *L. vannamei* cuando lo sometieron a salinidades de 3, 17 y 32 g L⁻¹, encontrando valores en un intervalo de 3 a 4 del IHP. Así mismo estos resultados también concuerdan con lo reportado para *Peneus muelleri* donde la ablación no afecta el peso relativo del hepatopáncreas (Díaz *et al.*, 1997) y para *Penaeus setiferus* donde tampoco encontraron diferencias significativas en este índice Lawrence *et al.* (1979).

8.5. Variables productivas

Tasa de crecimiento

Los resultados de las tasas de crecimiento no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos de salinidad. Aunque éstas fluctuaron entre 0.53 y 0.78 g semana⁻¹, son similares a lo reportado para *L. vannamei* por Van Wyk *et al.* (1999), pero inferiores a las publicadas en otros estudios, donde se indica que bajo condiciones de salinidad de 0.5 g L⁻¹, estos organismos alcanzan de 1.17 a 1.23 g semana⁻¹ (Samocha *et al.*, 2004; Sowers y Tomasso, 2006).

En éste estudio se presentó una mejor tasa de crecimiento en la salinidad de 1 g L⁻¹, lo que concuerda con lo reportado por Van Wyk *et al.* (1999), quienes observaron un buen crecimiento (0.57 y 0.40 g semana⁻¹) cuando cultivaron *L.*

vannamei en una salinidad de 0.5 g L⁻¹. De igual manera, Williams *et al.* (1996) reportaron tasas de crecimiento de 0.50 a 0.95 g semana⁻¹ en ensayos con agua salobre a densidades de camarón de 100 organismos m⁻². Otros autores también han reportado que *L. vannamei* presenta un mayor crecimiento en salinidades de 5, 15 y 25 g L⁻¹, que cuando se cultiva a 35 g L⁻¹ (Lawrence *et al.*, 1991; Bray *et al.*, 1994). Resultados similares también han sido encontrados en otros peneidos, tal como lo reportan Rosas *et al.* (1997) quienes observaron que el mejor crecimiento de *P. setiferus* y *P. schmitti* se obtiene en las salinidades de 5, 15 y 25 g L⁻¹. Además, Robertson *et al.* (1993) confirmaron que los niveles de crecimiento de *L. vannamei* en bajas salinidades (12 g L⁻¹) son superiores a los obtenidos a 45 g L⁻¹. Por lo tanto, una mayor tasa de crecimiento a baja salinidad pudiera tener una relación con lo reportado por Boyd (1990), quien indica que un buen crecimiento en baja salinidad tiene relación con los aspectos fisiológicos propios de la especie, ya que su etapa juvenil la desarrolla en aguas de baja salinidad.

Supervivencia

En este estudio la menor supervivencia se presentó en la salinidad de 10 g L⁻¹ (85%), en este tratamiento fue donde las variables bioquímicas del metabolismo como la glucosa presentó la concentración más alta y en lo que corresponde a la proteína esta presentó su concentración más baja. Por otro lado, también en esta salinidad las variables inmunológicas y fisiológicas fueron menores que en las demás salinidades.

Cabe destacar que el tratamiento de salinidad de 1 g L⁻¹ presentó un 95% de supervivencia, lo cual coincide con lo reportado por otros autores, quienes en condiciones de salinidad de 2 a 5 g L⁻¹ obtuvieron entre 94 y 98% de supervivencia en *L. vannamei* (Boyd, 1989; Samocha *et al.*, 1998), lo que refuerza lo mencionado por Boyd (1990) sobre la capacidad de ésta especie para la adaptación a bajas salinidades.

Estos resultados son muy favorables, debido a que en la salinidad más baja (1 g L^{-1}) se encontró un porcentaje de supervivencia del 95%, casi similar a lo encontrado en las salinidades ($25 \text{ y } 35 \text{ g L}^{-1}$), encontrando el 100% de supervivencia en ambas. Lo cual pudiera estar correlacionado por lo reportado por Pérez-Velázquez *et al.* (2007), quienes encontraron que tanto a salinidades dentro de su punto isosmótico (25 g L^{-1}) y en salinidades más bajas (2 g L^{-1}) el porcentaje de supervivencia es similar, mas no en salinidades más altas.

Relación longitud-peso

Los resultados encontrados en el modelo potencial para la relación longitud-peso, el exponente (b) fue mayor a 3 en todas las diferentes salinidades en este experimento, lo cual es similar a lo reportado para diversas especies de peneidos (Dall *et al.*, 1990). Enin (1994) declaró que cuando el exponente (b) es igual a 3 el crecimiento es isométrico y cuando es inferior o superior a 3 es alométrico. Sin embargo, Wootton (1992) fue más específico en el crecimiento, declarando que es alométrico positivo cuando el peso aumenta más que la longitud, y alométrico negativo cuando la longitud aumenta más que el peso de un organismo.

Murphy *et al.* (1991) declaró que cuando el exponente es menor a 3, su crecimiento es alométrico, teniendo problemas en las condiciones de cultivo reflejándose en la alimentación en el sistema de cultivo. Sin embargo, cuando su crecimiento es isométrico este parámetro puede ser considerado como un buen indicador de condición fisiológica en una población, dadas las condiciones en un determinado entorno (Pauly, 1984).

Por lo tanto, en este experimento, según lo reportado por estos autores, su crecimiento fue isométrico con un valor de 3.042 ($t=2.06$; 15 g L^{-1}) y 3.014 ($t=0.93$; 25 g L^{-1}), un crecimiento alométrico positivo de 3.054 ($t=4.32$; 1 g L^{-1}), 3.088 ($t=3.39$; 10 g L^{-1}) y 3.250 ($t=13.31$; 10 g L^{-1}). Los organismos cultivados fueron de menor peso en relación a la longitud obtenida en el crecimiento isométrico.

9. CONCLUSIONES

- La salinidad no afectó los niveles de glucosa y proteína del camarón *L. vannamei*. Aunque, en el tiempo de muestreo si se observaron diferencias significativas, presentando ambas variables su mayor valor al finalizar el trabajo experimental (día 63). Indicando por la glucosa un nivel de estrés un poco elevado y en las proteínas un buen estado fisiológico nutricional y de salud.
- No se presentaron diferencias significativas en el conteo total de hemocitos, actividad de la proFenol y Fenoloxidasa entre los tratamientos de salinidad. Sin embargo, en el tiempo de muestreo si se observaron diferencias significativas en la concentración total de hemocitos, tendiendo a disminuir conforme se desarrolló el trabajo experimental.
- La salinidad no afectó el índice de condición K de fulton e índice hepatopancreatico de *L. vannamei*.
- No se presentaron diferencias significativas en el crecimiento de *L. vannamei* entre los tratamientos de salinidad.
- La supervivencia se vió afectada por la salinidad. Presentando la menor sobrevivencia en la salinidad de 10 g L⁻¹ y la mayor en la de 25 y 35 g L⁻¹.

10. RECOMENDACIONES

- Controlar la temperatura en experimentos posteriores para no inducir un efecto de estrés asociado, debido a que en este experimento se manejó con la temperatura ambiente.
- Contemplar en futuros experimentos relacionados con diferentes salinidades, otras variables bioquímicas además de las medidas en el presente trabajo, como lo son el lactato, hemocianina y glucógeno, para corroborar su relación con las ya analizadas.
- Se recomienda realizar este tipo de experimentos a mayor tiempo, para saber si las variaciones de las variables medidas en este experimento tienen fluctuaciones durante el cultivo.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Bachère, E., 2000. Shrimp immunity and disease control. *Aquaculture* 191: 3-11.
- Bagenal, T.B. y Tesch, F.W., 1978. Age and growth, p.101-136. *In* T. Bagenal (ed.). *Methods for assessment of fish production in fresh waters*. Blackwell, Oxford.
- Barton, B.A. y Iwama G. K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids, *Annual Rev. of Fish Diseases*, 3-26.
- Bayne, Ch.J., 2003. Origins and Evolutionary Relationships Between the Innate and Adaptive Arms of Immune Systems. *Integrative Comparative Biology*. 43: 293-299.
- Boyd, C.E., 1989. Water quality management and aeration in shrimp farming. Fisheries and allied aquacultures departmental series No.2. Alabama Agricultura 1 Experiment Station, Auburn University, Auburn, Al, USA 83 pp.
- Boyd, C., 1990. Water quality in ponds soil analyses for aquaculture. Auburn, AL: Auburn University/Alabama Agricultural Experiment Station.
- Boyd, C.E. y Tucker, C.S., 1998. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Kluwer Academic Publishers, Boston, EE.UU. 155 pp.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72:248-254.
- Bray, W., Lawrence, A., Leung-Trujillo, J., 1994. The effect on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHNV virus and salinity. *Aquaculture* 122: 133-146.
- Brito, R., Chimal, C., Rosas, C., 2000. Effect of salinity in survival, growth y osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (decapoda; penaeidae). *Journal Experimental Marine Biology y Ecology* 244: 253-263.
- Brock, J. y Main, K.L., 1994. A guide to the common problems and diseases of cultured *Penaeus vannamei*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 242 pp.

- Carreño, D., Dumas, S.E., Racotta, I.S., 1999. Respuestas metabólicas del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) al estrés inducido por distintas formas de manipulación experimental. XLII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Zacatecas, México.
- Castille, F.L. y Lawrence, A.L., 1981. The effect of salinity in the osmotic, sodium, and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 106 B, 293-296.
- Castille, F.L., Samocha, T.M., Lawrence, A.L., He, H., Frelier, P., Jaenike, F., 1993. Variability in growth and survival of early postlarval shrimp (*Penaeus vannamei* Boone 1931). *Aquaculture* 113: 65-81.
- Charmantier, G., Charmantier-Daures, M., Bouaricha, N., Thuet, P., Aiken, D. E., Trilles, J. P., 1988. Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two Decapod Crustaceans: *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole* 175: 102-110.
- Charmantier, G., Soyés, C., Aquacop., 1994. Effect of moult stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *J. Exp. Mar. Ecol.* 178, 223-246.
- Chen, J. y Nan, F., 1995. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* (Osbeck, 1765) juveniles at different salinity levels (Decapoda: Penaeidae). *Crustaceana* 68: 712 - 719.
- Chen, J.C., Cheng, S.Y., Chen, C.T., 1994. Changes of hemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.* 109A, 339-347.
- Cheng, W. y Chen, J., 2000. Effect of pH, temperature and salinity on immune parameters of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish and Shellfish Immunology.* 10: 387-391.
- Cheng, W., Liu, Ch., Hsu, J., Chen, J., 2002. Effect of hypoxia on the immune response of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its susceptibility to pathogen *Enterococcus*. *Fish and Shellfish Immunology.* 13: 351-365.
- Cheng, W., Juang, F., Li, J., Lin, M., Liu, Ch., Chen, J., 2003. The immune response of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its susceptibility to *Lactococcus garvieae* in relation to the moult stage. *Aquaculture.* 218: 33-45.

- Claybrook, D.L., 1983. Nitrogen metabolism. In: The Biology of Crustacea: Internal Anatomy and Physiological Regulation. L. Mantel, eds. Academic Press, New York. 163-214.
- Collins, A.L. y Anderson, T.A., 1995. The regulation of endogenous energy stores during starvation and refeeding in the somatic tissues of the golden perch. *J. Fish Biol.* 47:1004-1015.
- CONAPESCA., 2009. Comisión nacional de acuacultura y pesca. http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/05_de_octubre_de_2009_mexico_df.
- Dall, W., Hill, B.J., Rothlisberg, P.C., Staples, D.J., 1990. The biology of the Penaeidae. *Advances in marine biology.* Academic Press, London. 489 pp.
- Díaz, A.C., Petriella-Fenucci, A.M., Lino, Jorge., 1997. efecto de la ablacion peduncular en la maduración gonadal de *pleoticus muelleri*. *Rev. bras. oceanogr.*, 45(1/2):53-60.
- Enin, U., 1994. Length–weight parameters and condition factor of two West African prawns. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 27, 121–127.
- Esparza-Leal, H.M., Escobedo-Bonilla, C.M., Casillas-Hernández, R., Álvarez-Ruiz, P., Portillo-Clark, G., Valerio-García, R.C., Hernández-López, J., Méndez-Lozano, J., Vibanco-Pérez, N., Magallón-Barajas, F.J., 2009. Detection of white spot syndrome virus in filtered shrimp-farm water fractions and experimental evaluation of its infectivity in *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *Aquaculture*, 292: 16-22.
- Frías-Espéricueta, M.G., Harfush-Melendez, M., Osuna-López, J.I., Páez-Osuna, F., 1999. Acute Toxicity of Ammonia to Juvenile Shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 62, 646-652.
- Fujita, T., Endo, Y., Nonaka, M., 2004. Primitive complement system: recognition and activation. *Molecular Immunology.* 41: 103-111.
- Gibson, R., 1982. Feeding and digestion in decapods crustaceans. In: Pruder, G. D.; Langdon, C. J. & Conklin, D. E. eds *Proc. 2nd Int. Conf. Aq. Nutrition.* p. 59-70.
- Gross, A., Abutbul, S., Zilberg, D., 2004. Acute and chronic effect of nitrite to shrimps, *Litopenaeus vannamei*, at low salinity water. *Journal of the World Aquaculture Society.* 35:315-321.
- 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 Aquacult. Soc.* 29, 290-299.

- Hernández-López, J., 2001. "Diseño de técnicas para la cuantificación de moléculas plasmáticas de camarón". Tesis para obtener el Título de Doctorado en Ciencias. CIBNOR, La Paz. Mexico. 58 p.
- Hoffman, J. y Reichhart, J., 2002. *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective. *Nature*. 5 (2): 121-126.
- Hurtado, M.A., Racotta, I.S., Arjona, O., Hernández-Rodríguez, M., Goytortúa, E., Civera, R., Palacios, E., 2006. Effect of hypo-and hypersaline conditions on osmolarity and fatty acid composition of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) fed low- and high-HUFA diets. *Aquaculture Research* 37: 1316-1326.
- Johansson, M.W., Keyser, P., Sritunyalucksana, K., Söderhäll, K., 2000. Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture* 191: 45-52.
- Joseph, A. y Philip, R., 2007. Acute salinity stress alters the haemolymph metabolic profile of *Penaeus monodon* and reduces immunocompetence to white spot syndrome virus infection. *Aquaculture*, 272, 87-97.
- Kumlu, M., Eroldogan, O.T., Aktas, M., 2000. Effect of temperature and salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus*. *Aquaculture* 188,167-173.
- Laria, L.R., Silveira, C.R., Cruz, Q.Y., Martinez, M., 2005. Phenoloxidase and peroxidase activity in the shrimp *Litopenaeus schmitti*, Pérez-Farfante and Kensley (1997) exposed to low salinity. *Aquaculture Research*, 2005, 36, 1293-1297.
- Lavine, M.D. y Strand, M.R., 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 32: 1295-1309.
- Lawrence, A.L., Ward, D., Missler, S., Brown, A., Mc Vey., Middleditch, B.S., 1979. Organ indices and biochemical levels of ova from penaeid shrimp maintained in captivity versus those captured in the wild. *Proc. World Maricult. Soc.*, 10:453-463.
- Lawrence, A., Castille, F., Samocha, T., Bray, W., Robertson, L., 1991. Shrimp culture Research at Texas A&M university: 1989 to 1991.
- Le Moullac, G., Soyeux, C., Saulnier, D., Ansquer, D., Avarre, J.C., Levy, P., 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Fish Shellfish Immunol.* 8, 621-629.

- Le Moullac, G. y Haffner, P., 2000. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. *Aquaculture* 191: 121-131.
- Li, E., Chen, L., Zeng, C., Chen, X., Yu, N., Lai, Q., Qin, J., 2007. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture* 265 (2007) 385–390.
- Lightner, D.V. y Redman, R.M., 1998. Shrimp diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture* 164, 201-220.
- Lignot, J.H., Cochard, J.C., Soyeux, C., Lemaire, P., Charmantier, G., 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 170, 79-92.
- Lignot, J.H., Spanings-Pierrot, C., Charmantier, G., 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191, 209-245.
- Liu, Ch. y Chen, j., 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology*. 16: 321-334.
- Livingstone, D.R., 1985. Biochemical measurements. En: Bayne, B.L. (ed.). *The effects of stress and pollution on marine animals*. Praeger, New York, NY, USA, 81-132.
- Magallon-Servin, A., 2004. Evaluación de moléculas asociadas al sistema inmune, bajo condiciones agudas de hipoxia en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931. Tesis de maestría. CIBNOR, La Paz. Mexico. 56 p.
- Mallon, E.B., Loosli, R., Schmid-Hempel, P., 2003. Specific versus nonspecific immune defense in the bumblebee *Bombus terrestris* L. *Evolution*. 57: 1444-1447.
- Martinez-Cordova, L., Villareal, C.H., Cortés, J.E., 1999. Capítulo 1: Biología del camarón. En: Martínez Córdova L. (Ed.). *Cultivo de camarones pendedos, principios y prácticas*, AGT Editor S.A., D.F., México, 1-20.
- Martínez-Palacios, C.A., Ross, L.G., Jimenez, V.L., 1996. The effects of temperature and body weight on the oxygen consumption of *Penaeus vannamei*, Boone 1931. *Journal of Aquaculture in the Tropics* 11, 59-65.
- McCarthy, J.F. y Shugart, L.R., 1990. Biomarkers of Environmental Contamination. En: *Biomarkers of Environmental Contamination* J. F. McCarty y L. R. Shugart (editors), Lewis Pub. 3-14 pp.

- Mercier, L., Palacios, E., Campa-Córdova, A., Tovar-Ramírez, D., Hernández-Herrera, R., Racotta, I.S., 2006. Metabolic and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to a repeated handling stress. *Aquaculture*, 258,633-640.
- Mikuslki, Ch., Burnett, L., Burnett, K., 2000. The effects of hypercapnic hypoxia on the survival of shrimp challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Shellfish Research*. 19 (1): 301-311.
- Murphy, B.R., Willis, D., Springer, T.A., 1991. The relative weight index in fisheries management. *Status and Need Fisheries*, vol. 16, pp. 30–48.
- Palacios, E., 2000. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 185, no 3 4, 185, 353–371, 25
- Palacios, E., Bonilla, A., Luna, D., Racotta, I.S., 2004. Survival, Na⁺/K⁺- ATPase and lipid responses to salinity challenge in fed and starved white pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae. *Aquaculture* 234: 497– 511.
- Pascual, C., Gaxiola, G., Rosas, C., 2003. Blood metabolites and hemocyanin of the White shrimp, *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. *Mar. Biol.* 142: 735-745.
- Pascual, C., Zenteno, E., Cuzon, G., Sánchez, A., Gaxiola, G., Tabeada, G., Suárez, J., Maldonado, T., Rosas, C., 2004. *Litopenaeus vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary protein. *Aquaculture*. 236: 431-450.
- Pauly, D., 1984. Fish population dynamics in tropical waters: a manual for the use with programmable calculators. ICLARM, Studies and Reviews. 325 pp.
- Pequeux, A., 1995. Osmotic regulation in crustaceans. *J. Crustacean Biol.* 15, 1–60.
- Perazzolo, L.M., Gargioni, R., Ogliari, P., Barraco, M.A.A., 2002. Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress. *Aquaculture* 214, 19-33.
- Pérez-Velásquez, M., González-Félix, F., Jaimes-Bustamante, L.R., Martínez-Córdova., Trujillo-Villalba, D.A., 2007. Investigation of the Effects of Salinity and Dietary Protein Level on Growth and Survival of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* *Jour. of the World Aquaculture Society* Vol. 38, No. 4 :475-485 p.

- Racotta, I.S. y Palacios, E., 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. J. World Aquacult. Soc. 29, 351-356.
- Racotta, I.S., Hernández-Herrera, R., 2000. Metabolic response of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. Comp. Biochem. Physiol. 125A, 437-443.
- Ricker, W.E., 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Fisheries Research board of Canada. 191:1-382.
- Robertson, L., Bray, W., Leung-Trujillo, J., Lawrence, A., 1987. Practical molt staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris*. J. World Aquacult. Soc. 18, 180-185.
- Robertson, L., Lawrence, A., Castille, F., 1993. Interaction of salinity and feed protein level on growth of *Penaeus vannamei*. Journal of Applied Aquaculture 2: 43-53.
- Rosas, C., Sanchez, A., Das-Iglesia, E., Brito, R., Martinez, E., Soto, L., 1997. Critical dissolved oxygen to *Penaeus schimitti* postlarvae (PL 10-18) exposed to salinity changes. Aquaculture 152: 259-272.
- Rosas, C., Martinez, E., Gaxiola, G., Brito, R., Sanchez, A., Soto, L., 1999. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia. Marine Ecology Progress Series 174: 67-75.
- Rosas, C., Cuzón, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola, G., Van Wormhoudt, A., 2001. Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, 77 nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linné) juveniles (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Aquaculture Research* 32: 531-547.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Le, Priol. Y., Pascual, C., Rossignol, J., Contreras, F., Sánchez, A., Van, Wormhoudt. A., 2001a. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 259, 1-22.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Taboada, G., Arena, L., Van, Wormhoudt. A., 2002. An energetic and conceptual modelo f the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 268, 47-67.

- Samocha, T., Lawrence, A., Pooser, D., 1998. Growth and survival of juvenile *Penaeus vannamei* in low salinity water in a semi-closed recirculation system. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh Vol. 50 No.2 , pp 55-59.
- Samocha, T., Addison, M., Lawrence, L., Craig, A., Collins, F.L., Castille, W.A., Bray, C.J., Davies, P.G., Lee, G., Wood, F., 2004. Production of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in high-density greenhouse-enclosed raceways using low salinity groundwater. J. Appl. Aquac. 15, 1–19.
- 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: the effect of acclimatation. Aquaculture 198, 13-28.
- Silveira, C.R., 2005. Indices hematológicos y celulares como bioindicadores de estrés en *Oreochromis aureus* Steindachner (tilapia) de cultivo. Tesis de maestría de maestría. CIBNOR. La Paz, Mexico. 200 p.
- Smith, V. y Chisholm, R.S., 1992. Non-cellular immunity in crustaceans. Fish and Shellfish Immunology. 2: 1-31.
- Söderhäll, K. y Cerennius, L., 1992. Crustacean immunity. Annu. Rev. Fish. Dis. 2: 3-23. Solórzano, L. 1968. Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochlorite method. Limnology and Oceanography. 14 (5): 799-781.
- Söderhäll, K., Cerenius, L., Johansson, M.W., 1996. The prophenoloxidase activating system in invertebrates. En: Söderhäll K., Iwanaga S., Vasta G.R. (Eds.), New directions in invertebrate immunology. SOS Publications, Fair Haven, N.J., pp. 229-253.
- Song, Y., Yu, Ch., Lien, T., Huang, Ch., Lin, M., 2003. Haemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus. Fish and Shellfish Immunology. 14: 317-331.
- Sowers, A.D y Tomasso, J.R., 2006. Production characteristics of *Litopenaeus vannamei* in low-salinity water augmented with mixed salts. J. World Aquac. Soc. 37, 214–217.
- Sritunyalucksana, K. y Söderhäll, K., 2000. The proPO and clotting system in crustaceans. Aquaculture 191: 53-69.
- Stickney, R., 2000. *Encyclopedia of Acuaculture*. Ed. John Wiley and Sons. Wedemeyer, G., 1996. Physiology of fish in intensive culture systems. Ed. Chapman and Hall. 5-8.

- Strickland, J.D.H. y Parsons, T.R., 1972. A Practical Handbook of Sea Seawater Analysis. Supply and Services Canada, Ottawa, Canada KIA 059. The Alger Press Ltd, 310 pp.
- Stryer, L., 1990. Bioquímica. Reverte. 5a Edición. Venezuela. 976 pp.
- Tantulo, U. y Fotedar, R., 2007. Osmoregulation and ionic regulation of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius 1798) juveniles exposed to K⁺ deficient inland saline water at different salinities. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 146: 208–214.
- Tsai S.J. y Chen, J.C., 2002. Acute toxicity of nitrate on *Penaeus monodon* juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* 213, 163-170 pp.
- Tseng, I. y Chen, J., 2004. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under nitrite stress. *Fish and Shellfish Immunology*.
- Van Aardt, W.J., 1988. Lactate metabolism and glucose patterns in the river crab, *Potamonautes warreni* calma, during anoxia and subsequent recovery. *Com. Biochem. Physiol. Part A: Physiology*, 9, 299-304.
- Van Wyk, P., Davis-Hodgkins, M., Laramore, C.R., Main, K.L., Mountain, J., Scarpa, J., 1999. Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. FDACS contract M520. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, Florida, USA.
- Vargas-Albores, F., Guzmán, M.A., Ochoa, J.L., 1993. An anticoagulant solution for haemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*). *Comp. Biochem. Physiol.* 106^a: 299-303.
- Vargas-Albores, F., 1995. The defense system of brown shrimp (*Penaeus californiensis*): humoral recognition and cellular responses. *J. Mar. Biotechnol.*, 3, 153-156.
- Vargas-Albores, F. y Yepiz-Plascencia, G., 1998. Shrimp Immunity. *Trends in Comparative Biochemistry and Physiology*. 5: 195-210.
- Vargas-Albores, F y Yepiz-Plascencia, G., 2000. Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response. *Aquaculture*. 191, 13-21.
- Vorbach, C., Harrison, R., Capecchi, M., 2003. Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. *Trends in Immunology*. 24 (2): 512 517.

Wedemeyer, G.A., Barton, B.A., McLeay, D.J., 1996. Stress and acclimation. Pag.451-489 In: B.C. Schreck and B.P Moyle. Ed. Methods for fish biology. American Fisheries Society. U.S.A.

Williams, A.S., Davis, D.A., Arnold, C.R., 1996. Density-dependent growth and survival of *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei* in a semi-closed recirculating system. J. World Aquac. Soc. 27, 107–112.

Wootton, R. J. 1992. Fish ecology: tertiary level biology. Blackie, London. 212 pp.