



# **ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL**

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

**“Efecto de la composición nutricional de *Artemia* enriquecida  
en la reproducción de *Penaeus vannamei*”**

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de  
ACUICULTOR

Presentada por  
**Marcelo Hidalgo Zambrano**

GUAYAQUIL-ECUADOR  
1997

## **DECLARACION EXPRESA**

"La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y, el patrimonio intelectual de la misma, a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL"

(Reglamento de exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).

---

Marcelo Hidalgo Z.

## ABREVIATURAS

ANCOVA:	análisis de covarianza
ANOVA:	análisis de varianza
cal:	calorías
cm:	centímetros
d:	días
DHA:	ácido docosahexanoico ó 22:6n-3
EPA:	ácido eicosapentanoico ó 20:5n-3
g:	gramos
GIH:	hormona inhibidora de la gónada
GSH:	hormona estimuladora de la gónada
h:	horas
ha:	hectárea (s)
HUFAs:	ácidos grasos altamente insaturados
ind:	individuos
Kcal:	kilocalorías
Kg:	kilogramo (s)
l:	litro (s)
lb:	libra (s)
lux:	unidad de iluminación
m <sup>2</sup> :	metro (s) cuadrado
m:	metro (s)
mg:	miligramo (s)
min:	minutos
ml:	mililitro (s)
N5:	nauplio en estadio 5

nm:	nanómetros
P:	tratamiento con <i>Artemia</i> enriquecida con PUFAs
pH:	potencial de hidrógeno
ppm:	partes por millon
PUFAs:	ácidos grasos poliinsaturados
PV:	tratamiento con <i>Artemia</i> enriquecida enriquecida con PUFAs y vitaminas-astaxantina
PVC:	cloruro de polivinilo
s:	segundos
SFBB:	San Francisco Bay Brand®
T:	toneladas
µm:	micrómetros
U.V:	ultravioleta (método de esterilización de agua)
V:	tratamiento con <i>Artemia</i> enriquecida con vitaminas y astaxantina
VLIR:	Consejo interuniversitario flamenco
Z1:	zoea en estadio 1
%:	porcentaje

## RESUMEN

Con el fin de: 1) comprobar que la manipulación de la composición nutricional de la *Artemia* adulta tiene su efecto en el rendimiento de los reproductores, 2) verificar si el éxito de la *Artemia* enriquecida es gracias a la fracción lipídica o a la fracción de vitaminas y carotenoides o comprobar la interacción entre estas dos fracciones del enriquecedor; se realizó un estudio en el cual se utilizaron 182 hembras y 153 machos *Panaeus vannamei*. Estos fueron distribuidos en tres tanques ovalados de 19.6 m<sup>2</sup>, a una densidad de 4 ind. m<sup>-2</sup> y con una proporción macho:hembra 1.1:1. La temperatura a lo largo de el bioensayo fue 28,1°C±0,8, y el pH y oxígeno disuelto fueron 7,90±0,04 y 6,28±0,09 mg/l. respectivamente; se utilizó un fotoperiodo invertido de 14:10 h. día:noche, alimentándose cinco veces al día con 17% de la biomasa (peso húmedo) diario. El experimento consistió de tres tratamientos: Dieta natural+*Artemia* enriquecida con vitaminas y astaxantina (V), Dieta natural+*Artemia* enriquecida con PUFAs (P) y Dieta natural+*Artemia* enriquecida con PUFAs, vitaminas y astaxantina (PV). Los reproductores fueron aclimatados durante 15 días con estas dietas, luego se ablacionó y marcó a las hembras, para el posterior monitoreo (54 días) de la tasa de maduración y reproducción, el tamaño y calidad del desove.

La tasa de desove se incrementó en los tratamientos que contenían la fracción de PUFAs en el enriquecedor (PV; P), por lo tanto al parecer los PUFAs incrementan la frecuencia de desove. Por otro lado, se observó un efecto negativo de los altos niveles de vitaminas sobre la frecuencia de maduración que fue más baja en el tratamiento V. Los mejores resultados en producción se obtuvieron en el tratamiento PV, por lo que el efecto de la interacción de las fracciones PUFAs, vitaminas y astaxantina se reflejó en un incremento de más de un 100% en la producción total (huevos, nauplios y zoea 1) comparada con la fracción que contenía sólo vitaminas y astaxantina; y en más de un 40% con la fracción que contenía sólo PUFAs. Sin embargo, la interacción de estas dos fracciones en el enriquecedor no influyó significativamente en la calidad del desove.



**TABLA DE CONTENIDOS**

ABREVIATURAS.....  
..... i

RESUMEN.....  
..... iii

TABLA DE  
CONTENIDOS.....  
iv

INDICE DE FIGURAS Y ANEXOS  
..... viii

INDICE DE  
TABLAS.....  
.. ix

INTRODUCCION.....  
..... 1

1.  
ANTECEDENTES.....  
..... 5

    1.1. CARACTERISTICAS  
    BIOLOGICAS..... 5

        1.1.1.  
        Taxonomía.....  
        ..... 5

        1.1.2.Morfología.....  
        ..... 5

        1.1.3. Ciclo de  
        vida.....  
7

1.1.4. Edad y Tamaño de los reproductores.....	7
1.1.5. Sistema Reproductivo del macho.....	8
1.1.6. Sistema reproductivo de la Hembra.....	9
1.1.7. Desarrollo gonadal en la reproducción.....	10
1.1.7.1. Desarrollo del ovario.....	10
1.1.7.2. Desarrollo del testículo.....	11
1.1.8. Sistema endócrino de los decápodos.....	11
1.1.9. Proceso de Ablación.....	12
1.1.10. Cortejo, cópula y desove.....	14
1.1.11. Eclosión y desarrollo larval.....	16
1.2. CONDICIONES DE OPERACION.....	17
1.3. ASPECTOS NUTRICIONALES.....	18
1.3.1. Proteínas.....	
.....	18



1.3.2.	
Carbohidratos.....	
.....	19
1.3.3.	
Lípidos.....	
.....	20
1.3.3.1. Acidos grasos	
.....	21
1.3.3.2.	
Fosfolípidos.....	
..	21
1.3.3.3.	
Colesterol.....	
...	22
1.3.4.	
Carotenoides.....	
.....	23
1.3.5.	
Vitaminas.....	
.....	24
1.3.6.	
Minerales.....	
.....	25
1.3.7. Dietas	
prácticas.....	
	26

1.3.7.1. Dietas	
naturales.....	26
1.3.7.2.	
Artemia.....	
... 27	
1.3.7.3. Dietas	
artificiales.....	28
1.4. ASPECTOS	
MEDIOAMBIENTALES.....	29
2. MATERIALES Y	
METODOS.....	31
2.1. DISEÑO	
EXPERIMENTAL.....	31
2.2. DIETAS	
ALIMENTICIAS.....	31
2.2.1. Dieta	
base.....	
. 31	
2.2.2. Dieta experimental: Artemia adulta	
enriquecida.....	32
2.2.3. Régimen	
alimenticio.....	33
2.3. ANIMALES	
EXPERIMENTALES.....	34
2.3.1. Captura y	
Transporte.....	34
2.3.2. Recepción y	
Selección.....	35

2.3.3. Aclimatación de reproductores.....	35
2.4. CONDICIONES DE MADURACION, REPRODUCCION Y DESARROLLO	
LARVAL.....	36
2.4.1. Suministro de aire.....	36
2.4.2. Tratamiento de agua.....	36
2.4.3. Parámetros físicos - químicos.....	38
2.4.4. Infraestructura y proceso general.....	38
2.4.4.1. Sistema de maduración.....	39
2.4.4.2. Sistema de Desove.....	39
2.4.4.3. Sistema de eclosión.....	39
2.4.5. Limpieza de tanques y renovación del agua.....	40
2.4.6. Tratamientos curativos.....	40
2.4.7. Sistema experimental.....	40
2.4.8. Protocolo:.....	
.....	41

2.4.8.1.  
Ablación.....  
.. 41

2.4.8.2. Búsqueda de la hembra  
copulada..... 41

2.4.8.3. Desove y  
remaduración..... 41

2.4.8.4. Cosecha de  
huevos..... 42

2.4.8.5. Fecundidad, condición de huevos y porcentaje de  
eclosión.....  
..... 42

2.4.8.6. Cosecha de  
nauplios..... 43

2.4.8.7. Desarrollo  
larval..... 43

2.4.8.8. Evaluación de la calidad de espermátóforos en  
camarones.....  
..... 44

2.4.8.9. Rutina  
diaria..... 44

2.4.8.10. Esquema del  
experimento..... 47

2.5. ANALISIS DE LA ARTEMIA ENRIQUECIDA.....  
48

2.6. PARÁMETROS DE EVALUACIÓN Y ANÁLISIS ESTADISTICO  
CORRESPONDIENTE.....  
..... 48

3.		
RESULTADOS.....		
.....	50	
3.1. DIETAS		
EXPERIMENTALES.....		50
3.2. PARÁMETROS FÍSICOS-		
QUÍMICOS.....	50	
3.3. SUPERVIVENCIA Y PESO DE REPRODUCTORES.....		
52		
3.4. TENDENCIAS DE LAS		
COVARIANTES.....	53	
3.5. RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE HEMBRAS.....		
56		
3.5.1. Maduración		
ovárica.....		56
3.5.2. Cópula y		
desove.....		56
3.5.3.		
Producción.....		
.....	57	
3.5.4. Calidad de huevos y		
larvas.....	59	
3.6. RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE MACHOS.....		
60		
DISCUSION		
TECNICA.....		
61		

CONCLUSIONES.....

..... 67

RECOMENDACIONES.....

..... 68

ANEXOS

..... 69

REFERENCIAS

BIBLIOGRAFICAS..... 72

## INDICE DE FIGURAS Y ANEXOS

Figura 1.	Exportaciones de camarón ecuatoriano .....	2
Figura 2	Morfología del camarón .....	6
Figura 3	Ciclo de vida de los crustáceos .....	7
Figura 4	Sistema reproductivo del macho .....	8
Figura 5	Sistema reproductivo de la hembra .....	9
Figura 6	Cortejo y cópula en <i>Pennaeus vannamei</i> .....	15
Figura 7	Tratamiento del agua usada en el sistema experimental .....	37
Figura 8	Fases del experimento .....	47
Figura 9	Temperatura, oxígeno y pH durante el bioensayo .....	51
Figura 10	Evolución de la supervivencia de machos y hembras port-ablación ...	52
Figura 11	Regresiones lineales del orden del desove vs supervivencia larval, tasa de eclosión y cantidad de huevos .....	54
Figura 12	Regresiones lineales del peso de la hembra vs supervivencia larval, tasa de eclosión y cantidad de huevos .....	55
Figura 13	Producción total de huevos, nauplios y zoea 1 por tratamientos .....	59
Anexo 1	Díagrama de sobretubo .....	70
Anexo 2	Experimentos que midieron parámetros similares .....	71

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Acidos grasos de importancia .....	20
Tabla 2	Dietas experimentales .....	32
Tabla 3	Composición porcentual de la dieta .....	33
Tabla 4	Horario de alimentación .....	34
Tabla 5	Tiempo de vida útil de hembras y peso de reproductores .....	53
Tabla 6	Frecuencia de maduración y desove .....	56
Tabla 7	Cantidad de huevos, nauplios y zoea 1 por desove .....	58
Tabla 8	Producción total (huevos, nauplios y zoea 1) por hembra durante los 54 días post-ablación .....	58
Tabla 9	Parámetros de calidad del desove .....	60
Tabla 10	Calidad de espermátóforos .....	60



## **INTRODUCCION**

La creciente demanda mundial del consumo del camarón, la drástica declinación de sus reservas naturales y la sobrepesca del mismo, trajo consigo el surgimiento de la acuicultura del camarón o camaronicultura, sobre todo de especies tropicales y subtropicales. Las especies más importantes de cultivo en Latinoamérica y en Ecuador son *Penaeus vannamei* y *Penaeus stilyrostris*. El volumen de exportaciones de camarón ecuatoriano registró un crecimiento del 420% entre 1985 - 1996 lo que generó un ingreso de divisas para el país de cinco mil millones de dólares aproximadamente en todo éste período (Cámara Nacional de Acuicultura, 1996).

El Ecuador es uno de los principales productores de camarón a nivel mundial, con una producción estimada en 100.000 T por año que en 1.996 generó aproximadamente 650 millones de dólares; la camaronicultura es generadora de divisas, menores que la explotación petrolera pero similar a la producción bananera; la mayor parte del camarón producido es destinado al mercado Europeo y los Estados Unidos (Cámara Nacional de Acuicultura, 1996).

La producción de camarón depende de la explotación de 133.000 ha de piscinas de engorde (camaroneras) ubicadas a lo largo de la costa ecuatoriana y que cuentan con una infraestructura básica; las camaroneras requieren de postlarvas ("semilla") la cual es producida y suplida por cerca de 343 laboratorios en el país ( Fedecam, 1992, en: Cordovez, 1996). A su vez estos laboratorios requieren de nauplios para su producción de larvas, los cuales provienen de hembras grávidas (nauplios silvestres) o de reproductores en cautiverio (nauplios de maduración); el problema surge cuando escasean los reproductores silvestres y no existen suficientes nauplios silvestres. Con el fin de mantener una producción constante de nauplios, 35 laboratorios aproximadamente

(com.pers. L. Vera) cuentan con departamentos de maduración, produciendo nauplios durante todo el año.

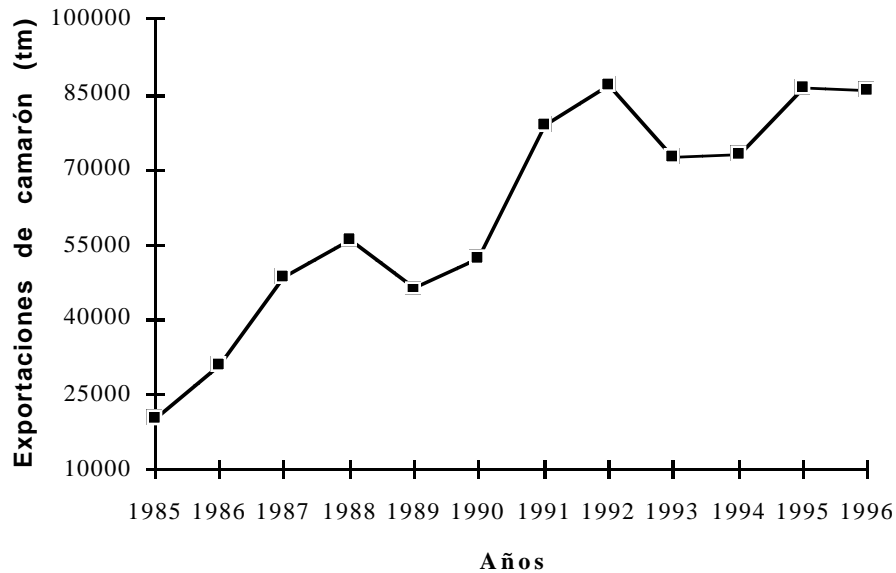


Fig. 1. Exportaciones de camarón ecuatoriano (Cámara Nacional de Acuicultura, 1996).

Para alcanzar la maduración de los camarones en los laboratorios y así producir nauplios, se somete a estos a un proceso de ablación unilateral, es decir eliminación del pedúnculo ocular de las hembras que produce la inhibición de la producción de la hormona inhibidora de la gónada (GIH) en la hembra, y permite que la maduración de las gónadas sea de forma continua (sin diapausa gonadal). Los desoves de las hembras producen un gran desgaste fisiológico, y con el tiempo la cantidad y calidad de los nauplios disminuye por lo cual hay que renovar los reproductores cada 90 días. Aunque la ablación es una herramienta segura para alcanzar la maduración, es recomendable evitarla y alcanzar la maduración por procesos similares a los naturales. Por otra parte, la ablación produce cambios negativos en el balance hormonal, y un incremento en el metabolismo de los reproductores (Harrison 1990, en: Bray & Lawrence, 1992), además puede resultar en altas mortalidades por efecto del estrés causado e infecciones. Actualmente se continua buscando alternativas para la ablación, tomando en cuenta

aspectos relativos a la nutrición y a la manipulación hormonal.

En el proceso de maduración hay numerosos factores ambientales que juegan un papel importante, tales como temperatura, luminosidad, salinidad, pH, y aspectos nutricionales. La alimentación de los reproductores debe ser mantenida con niveles adecuadas de lípidos, carbohidratos, proteínas, minerales y vitaminas entre otros (Browdy, 1989). En la mayoría de los laboratorios, las unidades de maduración dependen de alimento fresco (calamar, mejillón, lombriz, ostras, etc) para asegurar una cantidad y calidad consistente de nauplios. Sin embargo, el uso de alimento fresco presenta varios problemas en cuanto a la disponibilidad, el costo y la variabilidad del valor nutritivo.

La *Artemia* es un alimento vivo ideal por su fácil manejo, almacenaje y cultivo; los nauplios pueden ser fácilmente desinfectados, resultando en un alimento vivo libre de contaminantes; pero sobretodo la *Artemia* adulta tiene un alto valor nutritivo (Sorgeloos *et. al.*, 1987).

La *Artemia* adulta juega un rol importante en la inducción a la maduración de camarones aportando mejoras en la producción (Lavens *et. al.*, 1986) y permitiendo sustituir al poliqueto (Naessens *et. al.*, 1997). Ha sido reportado por varios autores que la *Artemia* tiene un efecto inductor en la maduración ovárica en los camarones. Además la *Artemia* adulta es utilizada como vector de nutrientes esenciales y otros componentes a través el proceso de bio-encapsulación o enriquecimiento, y posiblemente aporta hormonas reproductivas.

Con auspicio de la Universidad de Gante, Bélgica se planifica esta investigación para clarificar los requerimientos nutricionales del *Penaeus vannamei* en la fase de maduración y reproducción ( proyecto VLIR ), a fin de poder desarrollar a largo plazo (tres años) una dieta que pueda suplementar o substituir la dieta fresca y a través de una alimentación

optimizada, eliminar la necesidad de ablación, asegurando una producción alta de nauplios de buena calidad. En este estudio se busca reconocer el efecto nutricional de la *Artemia* enriquecida en la maduración y la reproducción de *Penaeus vannamei* , comprobar que la manipulación de la composición nutricional de la *Artemia* adulta tiene su efecto en el rendimiento de los reproductores, y verificar si el éxito de la *Artemia* enriquecida es gracias a la fracción lipídica o a la fracción de vitaminas y carotenoides, o comprobar la interacción entre estas dos fracciones del enriquecedor.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS

#### 1.1.1. Taxonomía

Filo           Arthropoda

Subfilo Mandibulata

Clase         Crustácea

Subclase     Malacostraca

Orden        Decápoda

Superfamilia Penaeida

Familia Penaeidae

Género Penaeus

Especie      vannamei

Holthuis, 1980

#### 1.1.2. Morfología

Las partes anatómicas constituyentes generales de los penaeidos son las siguientes:

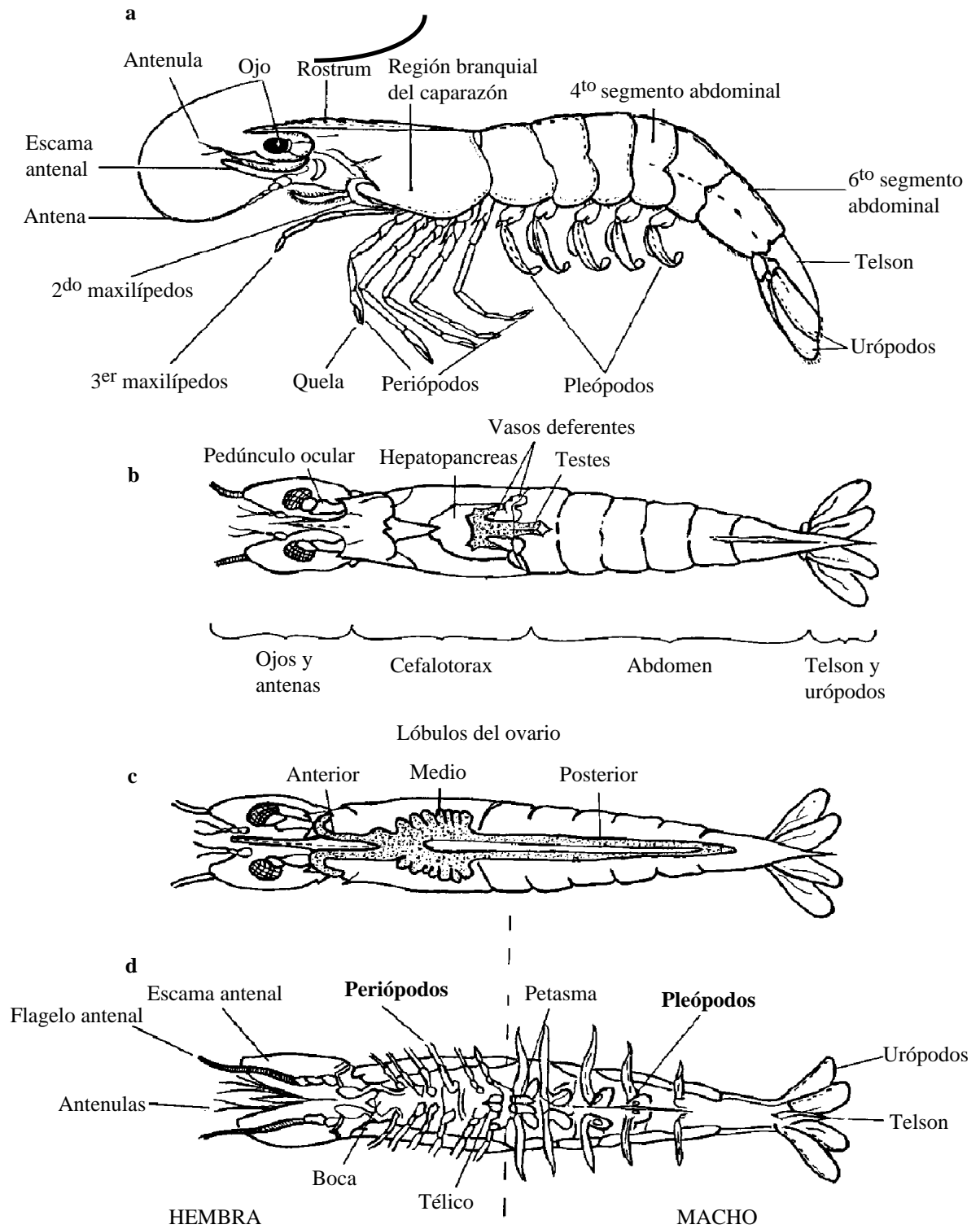


Fig. 2. Morfología del Camarón: a) vista lateral; b) vista dorsal; c) vista dorsal de la hembra con ovarios maduros; d) vista ventral que muestra la posición de las estructuras copulatorias. (Lee & Wickins, 1992)

### 1.1.3. Ciclo de vida

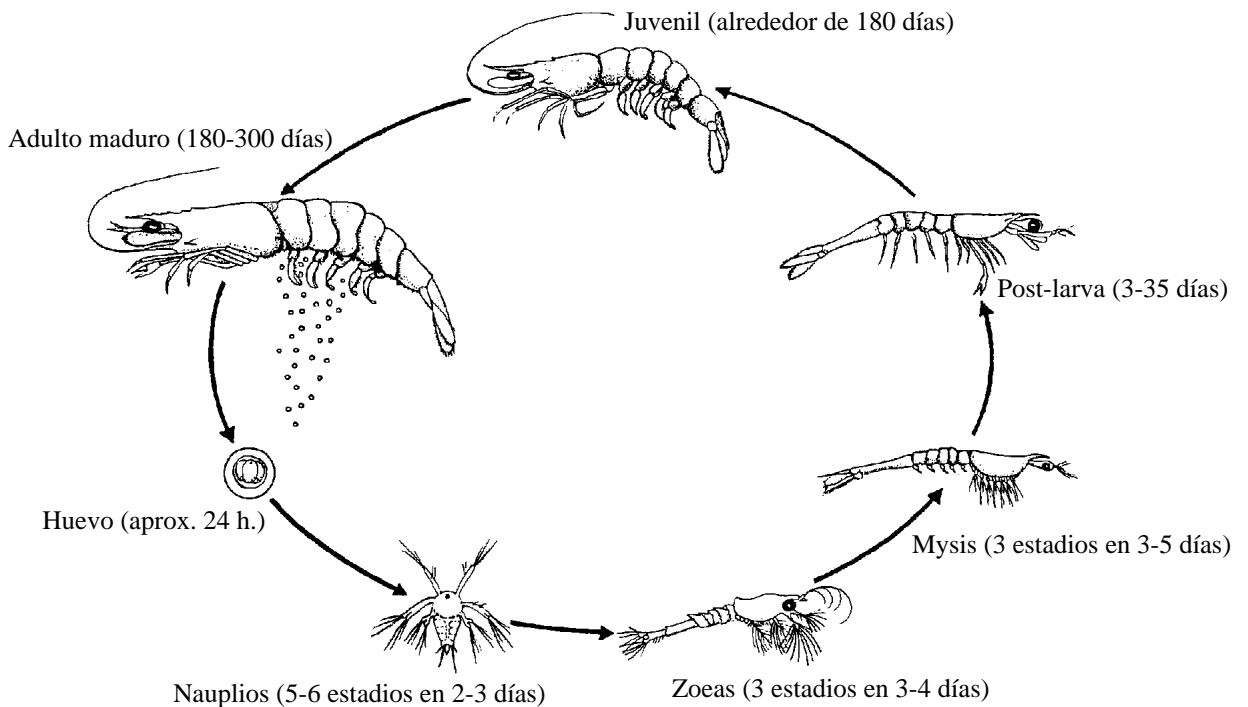


Fig. 3. Ciclo de vida de los crustáceos: Cambios típicos en la forma del cuerpo durante el desarrollo de los principales Penaeidos cultivados. La duración y número de mudas varía con la especie y temperatura (Lee & Wickins, 1992).

### 1.1.4. Edad y Tamaño de los reproductores

La mejor edad para un reproductor aún no está definida en la mayoría de las especies de penaeidos, pero como referencia se suele tomar el peso de los reproductores maduros en el medio natural. En la naturaleza, así como en las piscinas el potencial de madurez sexual es alcanzado entre el octavo al décimo mes (Bray & Lawrence, 1992). La especie *Penaeus vannamei*, parece tener buenos rendimientos cuando tienen un peso superior a los 50g en las hembras, y 40g en los machos (Ogle, 1992).

### 1.1.5. Sistema Reproductivo del macho

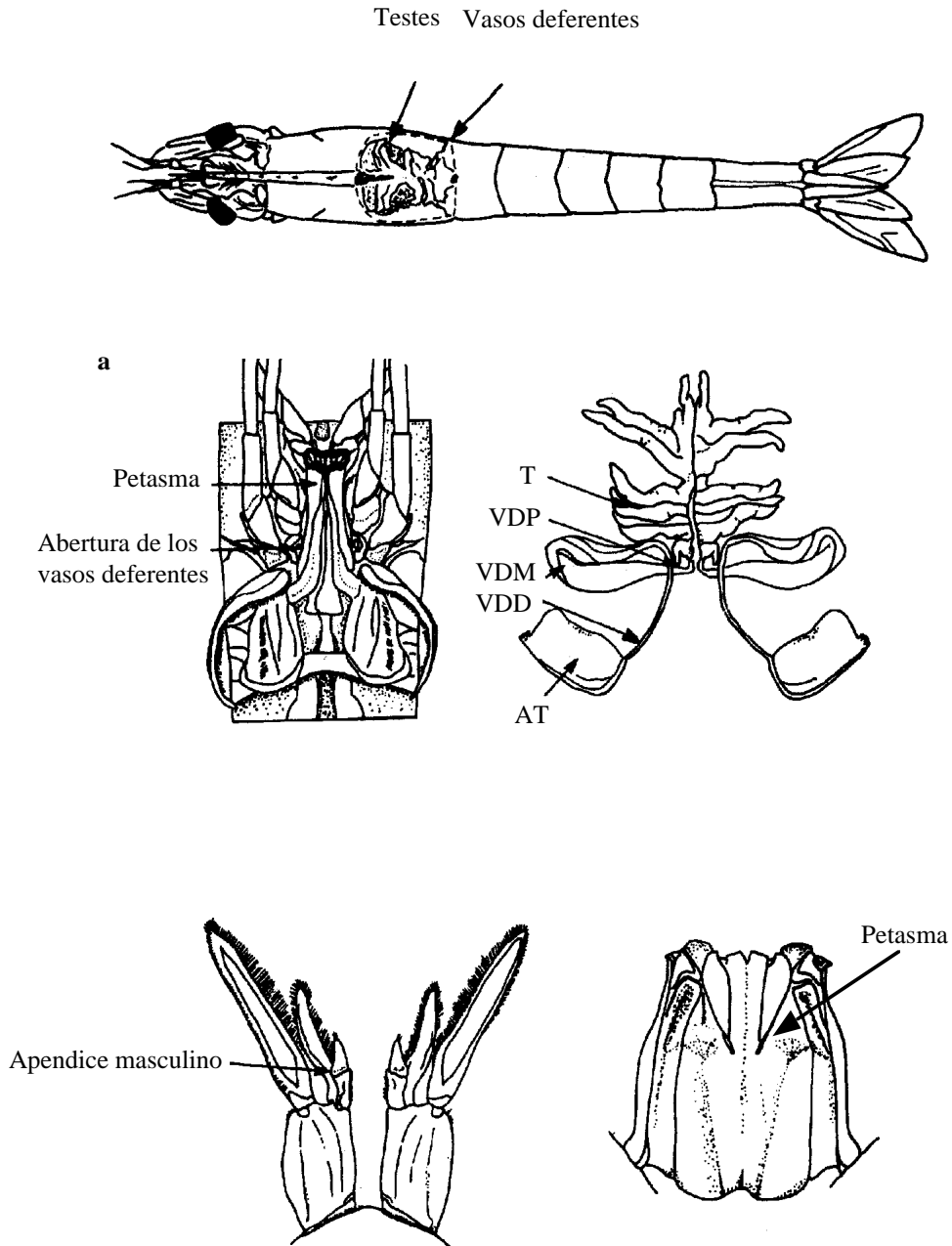


Fig. 4. Sistema reproductivo del macho: a) Partes del sistema reproductivo del macho; T testes; VDP vasos deferentes proximales; VDM vasos deferentes medios; VDD vasos deferentes distales; AT ampolla terminal (Treece & Yates, 1988).

Esta compuesto por un par de testes y una pareja de vasos deferentes terminando en ampollas que contiene los espermátóforos, o paquetes de esperma, y gonóporos en la



base del quinto par de periópodos y el petasma (estructura membranosa para transferir los espermatóforos) ubicado entre el primer par de pleópodos. Los vasos deferentes son un par de bulbos que son unas estructuras musculosas llamadas ampollas terminales, las cuales contienen los espermatóforos. Los espermatóforos son estructuras complejas que contienen espermatozoides (Castille & Lawrence, 1991).

### 1.1.6. Sistema reproductivo de la Hembra

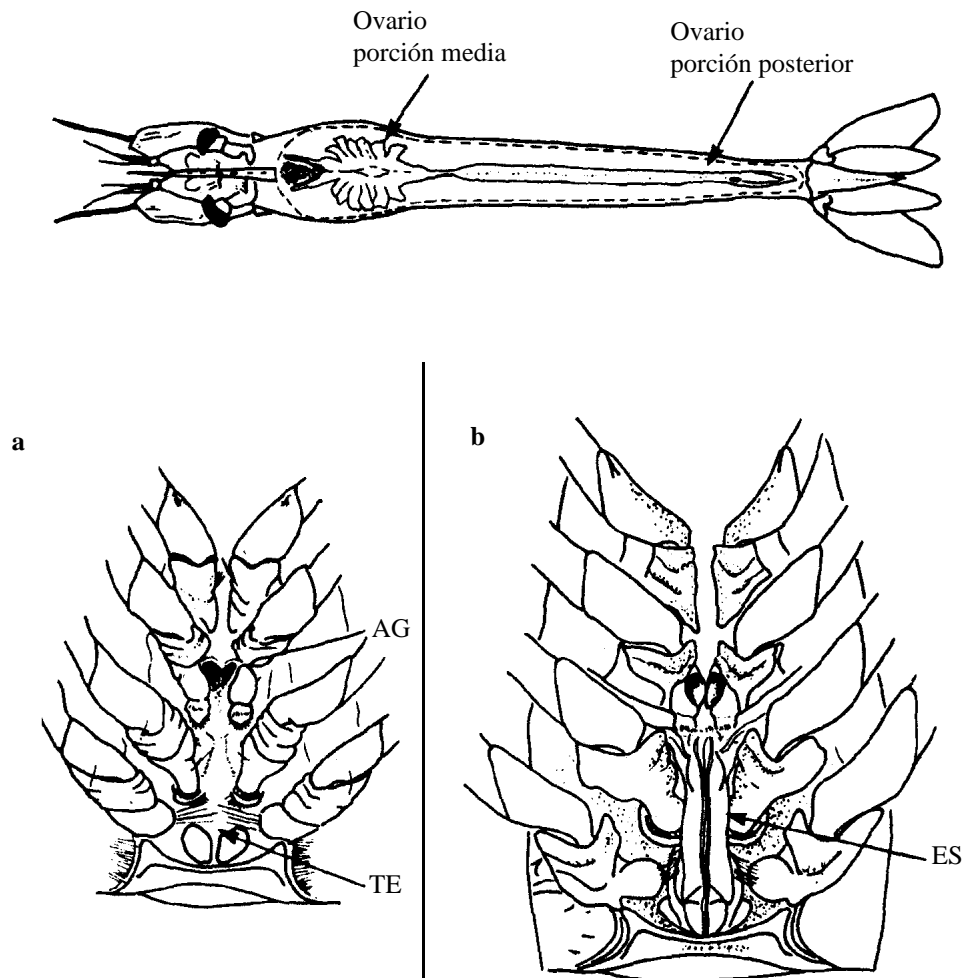


Fig 5. Sistema reproductivo de la hembra: a) Diagrama de la superficie ventral del cefalotórax de la hembra. AG. abertura genital; TE. tético. b) Diagrama de la superficie ventral del cefalotórax de la hembra con los espermatóforos adheridos (Treece & Yates, 1988).

Consiste del ovario fusionado en partes simétricas bilateralmente la cual se extiende a lo largo de la hembra. En el caparazón (cabeza) se extiende el lóbulo anterior en la porción del molino gástrico y lateralmente en el área del cefalotórax, mientras el lóbulo posterior

se extiende a lo largo del abdomen dorsalmente. Los oviductos terminan en el gonópodo en la base del tercer par de periópodos. Durante la cópula, la pareja de espermatóforos son depositados en una estructura externa de la hembra llamada télico. El télico está localizado entre el quinto par de periópodos de la hembra (Castille & Lawrence, 1991).

### **1.1.7. Desarrollo gonadal en la reproducción**

La determinación del estado reproductivo de los camarones penaeidos es importante para la elección y manejo. Uno de los métodos más efectivos de evaluación del estado reproductivo es la determinación del grado de maduración gonadal, por lo que se han desarrollado técnicas de apreciación visual del desarrollo gonadal tanto para la hembra como para el macho.

#### **1.1.7.1. Desarrollo del ovario**

El sistema comúnmente usado divide el desarrollo del ovario en cinco etapas (Castille & Lawrence, 1991):

- Estadio 1.- Inmaduro; se observa los ovarios traslúcidos, sin pigmentación e invisible a través del exoesqueleto.
- Estadio 2.- Inicio de la madurez; los ovarios se los observa largos, opacos, amarillosos a través del exoesqueleto (lóbulos anteriores y medios).
- Estadio 3.- Los ovarios son visibles a través del exoesqueleto, el desarrollo de los lóbulos anteriores y medios es completo y el diámetro del lóbulo posterior es más grande que el intestino; su coloración es amarillo naranja.

- Estadio 4.- Llegan a su punto de madurez, son claramente visibles a través del exoesqueleto y presentan un color café-oliva.
- Hembra desovada- Después del desove los ovarios se observan flácidos, sin coloración y desgastados, como en estadio 1.

#### 1.1.7.2. Desarrollo del testículo

Menor énfasis se ha dado a la apreciación visual de el desarrollo gonadal en el macho. La evaluación visual de maduración en el macho se ha basado en el tamaño de las ampollas terminales y se ha dividido en tres estadios (Castille & Lawrence, 1991):

- Estadio 1.- Inmaduro; las ampollas terminales no son visibles a través del exoesqueleto.
- Estadio 2.- Desarrollo parcial; las ampollas terminales son pequeñas pero visibles a través del exoesqueleto.
- Estadio 3.- Maduro; las ampollas terminales son largas y claramente visibles a través del exoesqueleto.

#### 1.1.8. **Sistema endócrino de los decápodos**

El sistema endócrino en los decápodos esta constituido de los siguientes elementos:

- El sistema neurosecretor formado por: el complejo órgano X-glándula sinusal (pedúnculo ocular), las células neurosecretoras del cerebro y sistema nervioso central, los órganos post-comisurales y pericardios.

- El órgano Y, responsable de la secreción de ecdisteroides involucrados en el proceso de muda.
- La glándula androgénica presente solo en machos.
- El ovario cuya función endocrina no está bien dilucidada pero que podría estar involucrado en la diferenciación de los caracteres femeninos secundarios.
- El órgano mandibular que secreta el farnesoato de metilo que es equivalente a la hormona juvenil en los insectos (Adiyodi, 1985).

Algunas de las hormonas que controlan la reproducción en los camarones se originan en el órgano X y en la glándula sinusal, ambas localizadas en el pedúnculo ocular del camarón. Las hormonas precursoras son sintetizadas en el órgano X, son empacadas en el interior de las vesículas secretoras, y transportadas a la glándula sinusal, donde es almacenada y liberada como pequeños productos peptídicos a la hemolinfa. (Browdy, 1992).

#### 1.1.9. **Proceso de Ablación**

El sistema más aplicado para la obtención de nauplios en nuestro país es el que utiliza a camarones adultos silvestres, para luego ser llevados a laboratorio, facilitarles una adecuada nutrición y condición ambiental, para estimular la maduración, la cópula y el desove. Este sistema es exigente en términos de calidad de agua, prevención de enfermedades, nutrición y estándares medioambientales. Panouse (1943) fue el primero en reportar que la remoción de el órgano X-glándula sinusal ubicada en el pedúnculo ocular (ablación) resulta en un desarrollo gonadal precoz. La remoción de esos órganos reduce la producción de la hormona inhibidora gonadal (GIH), la cual permite la

liberación de la hormona estimuladora gonadal (GSH) desde el cerebro hacia los ganglios torácicos. Así, se produce menos GIH, y más GSH será liberada, estimulando la maduración de la hembra. Actualmente la ablación es practicada en todo el mundo y en casi todas las especies del género *Penaeus*.

Los efectos de la ablación no están implicados solamente sobre la hormona inhibidora de la gónada (GIH) sino que regulan también otros procesos metabólicos por lo que se producen efectos sobre otros procesos metabólicos que no se desean afectar y que son : transporte de glucosa, funciones respiratorias, metabolismo de carbohidratos, metabolismo de calcio, muda, osmoregulación, regulación térmica, ritmo cardíaco y la migración de pigmentos de la retina (Browdy, 1992.). Los siguientes resultados han sido observados en la ablación de reproductores en cautiverio (Browdy, 1989; Bray & Lawrence, 1992):

- La duración del ciclo de muda es más corta en las hembras ablacionadas.
- Se producen más desoves.
- El número de huevos producidos por desove es menor que en las hembras maduras en su hábitat natural y hay una tendencia hacia la disminución a través del tiempo.
- Altas mortalidades de hembras ablacionadas (Primavera , 1982).
- La calidad larval y el desarrollo larval y post-larval son a veces afectadas en forma negativa.

Aunque la ablación es una herramienta segura para alcanzar la maduración, sería recomendable evitarla y tratar de alcanzar la maduración por procesos similares a los naturales, por lo que se sigue buscando alternativas para la ablación, y se continua

trabajando en mejorar la nutrición y manipulación hormonal.

#### 1.1.10. Cortejo, cópula y desove

En el *Penaeus vannamei* se observan 4 fases en el cortejo del macho a la hembra en estadio de madurez 3 o 4 que toma un período aproximado de tiempo de 4 a 16 s previo a la cópula (Yano *et. al.*, 1988<sup>b</sup>):

- Persecución.- Uno o más machos siguen de cerca a la hembra imitando los cambios de dirección de ésta.
- Aproximación.- Un macho se acerca por la parte ventral de la hembra y reconoce el tético con sus antenas.
- Caza.- La hembra empieza a nadar rápidamente hacia arriba y adelante simulando suaves curvas y líneas rectas; el macho se adhiere a la hembra por el lado ventral y nadan en paralelo.
- Cópula.- El macho gira lateral y ventralmente, manteniendo esta posición por 2-3 s, en el momento de la cópula los espermatozoides son transferidos. En caso de no haber transferencia, el macho regresa inmediatamente a su posición normal e inicia la persecución de otra hembra.

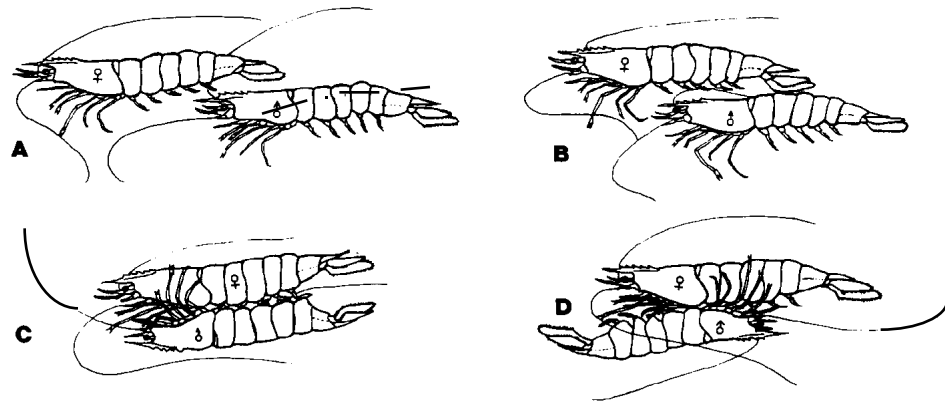


Fig. 6. Cortejo y cópula en *Penaeus vannamei* : A. persecución; B. aproximación; C. caza; D. cópula (Bray & Lawrence, 1992).

Para alcanzar la cópula los camarones requieren de ciertas condiciones tales como oscuridad y tranquilidad total, así como un fondo plano que facilite el cortejamiento. Unas horas después que los espermatozoides son adheridos al tégico de la hembra, se puede observar el desove, que puede ser parcial o total. Los huevos al ser expulsados son dispersados por el movimiento de la hembra y fertilizados al contacto con la esperma contenida en los espermatozoides que tiene adheridos al tégico (Yano *et al.*, 1988b). Hay que destacar que la fertilización puede ser 0 al 100%.

Desde que los huevos son descargados desde los gonóporos en la base del tercer par de periópodos los huevos desovados realizan un sorprendente proceso de cambios inmediatamente después de su expulsión y acompañando el proceso de fertilización que ocurre inmediatamente después de su liberación (Clark, Jr. *et al.*, 1980). Una cubierta gelatinosa del huevo desaparece después de 30-40 min. de realizado el desove y los huevos alcanzan su forma esférica, y el cigote empieza su desarrollo que tarda alrededor de 12h. aproximadamente (Treece & Yates, 1988). Los huevos presentan una ligera actividad boyante y pueden mantenerse suspendidos en la columna de agua con poca circulación.

### 1.1.11. Eclosión y desarrollo larval

Los primeros estadíos naupliares, empiezan desde que el nauplio se libera del huevo que es flexible y elástico, esta fase conocida como eclosión dura aproximadamente 14 h. a 28°C, luego aparece la metamorfosis del nauplio y empieza la locomoción esporádica. La locomoción llega a ser vigorosa después de 20 min. aproximadamente y los nauplios muestran un desplazamiento positivo al fototaxismo o atracción por la luz (Treece & Yates, 1988).

Para el *P. vannamei* se han descrito 5 estadíos que tiene una duración de 36 a 40 h. aproximadamente a 28°C, y que no requieren alimentación ya que no exhiben boca o anus. Los mayores cambios que ocurren en los estadíos naupliares son: incremento de la longitud, incremento en el número de cetos, una progresiva bifurcación del abdomen y el desarrollo de los apéndices ventrales ( Kitani, 1986 en Bray & Lawrence, 1992). Los nauplios pasan a Zoea 1 cuyo estadio toma de 36 a 48 h. entre 29-30°C, y presentan boca y anus puesto que ya pueden consumir fitoplancton; nadan continuamente y sus fibras fecales son visibles a lo largo del animal (Treece & Yates, 1988).

Una adecuada nutrición juega un papel importante en el proceso de la maduración del camarón y en la movilización de los nutrientes que intervienen en la oogénesis, vitelogénesis y embriogénesis. Estos nutrientes a su vez serán la primera fuente de alimentación y energía de los nauplios; por lo que es determinante suplementar una dieta completa a los reproductores para satisfacer todas las demandas fisiológicas y metabólicas del camarón en estas etapas.



## 1.2. CONDICIONES DE OPERACION

El control de la maduración y el desove de camarones fue iniciado por Hudinaga (1942) con hembras silvestres de *P. japonicus* (en Bray & Lawrence, 1990), por lo que los sistemas de operación se originaron con él y con el paso de los años se han mejorado las condiciones de operación de los departamentos de maduración de las más de 24 especies de interés comercial existentes en el mundo. Los siguientes son los principales sistemas de operación mayormente usados.

a.- Captura de hembras completamente maduras de su medio natural y su posterior desove en cautiverio; éste sistema es extremadamente confiable en términos de calidad larval, dado que hembras saludables son colectadas en sus lugares naturales de desove donde tienen la ventaja de disponer de una apropiada nutrición y calidad de agua oceánica, han sido sujetas a los procesos de selección natural, y no han sido expuestas a estrés medioambientales los cuales ocurren en condiciones de cautiverio. Las desventajas que presentan son la disponibilidad regional de especies endógenas, los cambios estacionales y la disponibilidad diaria de hembras maduras. El mecanismo de este sistema es simplemente ubicar a la hembra silvestre madura en un tanque apropiado para su desove.

b.- Maduración de los ovarios y desove dentro de un laboratorio, que reúna las condiciones medioambientales requeridas; se utilizan camarones adultos silvestres o cultivados, luego de ser expuestos a condiciones medioambientales y una nutrición apropiada se estimula el desove. La ablación unilateral del pedúnculo ocular es usada invariablemente como un requerimiento para alcanzar adecuados niveles de desarrollo ovárico. Este sistema requiere de condiciones estandarizadas de calidad de agua y medioambientales, así como prevención de enfermedades y una adecuada nutrición. Múltiples desoves son producidos por las hembras, las que son reemplazadas en períodos

de 3 a 6 meses de acuerdo a su rendimiento reproductivo.

c.- Manejo de poblaciones de larvas cultivadas en camaroneras y la posterior transferencia de las hembras a laboratorio para su desove; este sistema es poco usado y provee de productividad natural, el estrés es bajo y puede ser usado sin la alteración fisiológica que acompaña la ablación del pedúnculo ocular. Este sistema reúne las mejores condiciones de maduración requeridas para este proceso.

### 1.3. ASPECTOS NUTRICIONALES

Las dietas frescas comúnmente usadas en el régimen alimenticio de reproductores, como calamar, mejillón, almeja, ostra, cangrejo, poliqueto, ofrecen buenos resultados, pero presentan varias desventajas: son costosas, la disponibilidad es impredecible, pueden deteriorar la calidad del agua y puede variar la calidad nutricional de éstas con la especie, edad, época y localización. Por otro lado, el desarrollo satisfactorio de dietas secas para reproductores y consecuentemente para una producción elevada de nauplios de buena calidad, ha sido muy restringida por la carencia de claras definiciones de los requerimientos nutricionales para la reproducción, en cuanto a proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales.

#### 1.3.1. **Proteínas**

Una dieta compuesta por proteína provee de aminoácidos esenciales y no-esenciales para el desarrollo y mantenimiento de los músculos, tejidos conectivos, y proteínas respiratorias para la hemolinfa. La síntesis de varias proteínas, incluyendo hormonas peptídicas, enzimas, y VPs (proteína de la yema del huevo), es de vital importancia en la maduración y reproducción. Dietas ricas en proteínas, también proveen de nitrógeno para la síntesis de coenzimas y material genético (ácidos nucleicos y nucleótidos) y pueden ser

metabolizadas como fuente de energía (4.5 Kcal. g<sup>-1</sup>) (Harrison, 1990).

El papel importante que juegan las proteínas en la maduración se ve reflejada en los cambios ocurridos en la composición del hepatopáncreas (la glándula gástrica) y en los ovarios durante la vitelogénesis (Lui *et al*, en Harrison, 1990). Como la maduración gonadal y la embriogénesis son períodos de intensa biosíntesis, es de esperarse que el requerimiento para la proteína sea alto durante la maduración; por lo que debe establecerse niveles recomendados para reproductores. Las dietas comerciales para maduración contienen 40 a 50% de proteína como base de alimentación, en comparación al 40 a 45% recomendado para post-larvas y juveniles y de 28 a 32% para adultos (Bray & Lawrence, 1992).

### 1.3.2. **Carbohidratos**

Una dieta de carbohidratos no es esencial para los crustáceos. Sin embargo, polisacáridos como almidón y dextrina son generalmente incluidos en la formulación de dietas como fuente barata de energía (4.5 Kcal. g<sup>-1</sup>), evitando así que el animal utilice proteína para energía.

Los carbohidratos son almacenados en los músculos y el hepatopáncreas como glicógeno, y son movilizados para servir como combustible durante procesos metabólicos. Su especificidad en la producción de ácidos nucleicos y como un componente en la pigmentación de los ovarios (carotenoglicoproteína) puede ser de vital importancia para la maduración en procesos tal como la oogénesis, vitelogénesis y embriogénesis (Harrison, 1990). Los carbohidratos cumplen un papel crítico en la producción de glucosamina que es el precursor de la quitina, la que es constituyente principal del exoesqueleto (Harrison, 1990).

### 1.3.3. **Lípidos**

La importancia de lípidos en la dieta de los reproductores es clara, porque el tejido ovárico contiene 19-20 % lípidos en base seca y durante la maduración el volumen de las gónadas aumenta hasta alcanzar el 10% del peso de la hembra. La suministración de lípidos en la dieta tiene que ser continua, debida que el hepatopáncreas tiene una función almacenadora limitada, existe una limitada capacidad del camarón de sintetizar largas cadenas de carbono y ácidos grasos poli-insaturados que predominan en los ovarios, y la incapacidad del camarón de sintetizar esteroides. Los lípidos neutrales, particularmente los triglicéridos, son una de las mayores fuentes de energía ( $9.8 \text{ Kcal.g}^{-1}$ ) y es la forma predominante de almacenar energía en los adultos, huevos y nauplios; en tanto que los fosfolípidos (lípidos compuestos) conforman la estructura celular y mantiene la integridad de las biomembranas (Middleditch *et al*, 1979 en: Harrison, 1990). Existen tres series de ácidos grasos poliinsaturados (Tabla 1), los linolénicos de la serie (n-3), los linoleicos de la serie (n-6) y los oleicos de la serie (n-9).

Tabla 1. Ácidos grasos de importancia (Tacon, 1987)

<b>Nombre común</b>	<b>Nomenclatura*</b>	<b>Nombre químico</b>
ácido oleico	18:1(n-9)	ácido 9-octadecaenoico
ácido linoleico	18:2(n-6)	ácido 9,12-octadecabinoico
ácido linolénico	18:3(n-3)	ácido 9,12,15-octadecatrinoico
ácido araquidónico	20:4(n-6)	ácido 5,8,11,14-eicosatetranoico
EPA	20:5(n-3)	ácido 5,8,11,14,17-eicosapentanoico
DHA	22:6(n-3)	ácido 4,7,10,13,16,19-docosahexanoico

\* Número de átomos de carbono, número de dobles enlaces y posición de el primer doble enlace después del grupo metilo del ácido graso.

### 1.3.3.1. Ácidos grasos

Estudios realizados en *P. japonicus*, *P. monodon*, y *P. merguensis* han establecido que los ácidos grasos esenciales linoleico C18:2(n-6), linolénico C18:3(n-3), eicosapentaenoico C20:5(n-3) y docosahexaenoico C22:6(n-3) son importantes para el crecimiento debido a que no pueden ser sintetizados por el camarón o son sintetizados en cantidades mínimas ( Kanazawa y Teshima, 1979). Middleditch *et. al.*, (1980) mostraron la necesidad de incrementar los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) en la dieta.

El tipo y nivel de ácidos grasos en la dieta afecta el metabolismo de lípidos (Xu, *et. al.*, 1993), y el balance de esos en la dieta parece jugar un papel importante en la función hormonal (Kinsella, 1988; en: Bray & Lawrence, 1992). El balance de los ácidos grasos n-3 y n-6 (Lytle *et. al.*, 1990) y el posible rol del ácido araquidónico C20:4 (n-6) como precursor de la prostaglandina (Middleditch *et al.*, 1980) han sido estudiados como factores limitantes. (Magarelli jr, 1981; en: Lytle *et.al.*, 1990) comparó el rendimiento reproductivo en *P. stylirostris* ablacionados y encontró correlaciones con varios niveles de ácidos grasos en los ovarios. Middleditch *et. al.*, (1980) comparó los perfiles de ácidos grasos de ovarios en *P. setiferus*, *P. stylirostris* y *P. vannamei*, y encontró que en los ovarios del camarón, C20:4(n-6), C20:5(n-3) y C22:6(n-3) predominaron. Luego indujo al desove a los reproductores de *P. setiferus* mientras los alimentaba con un suplemento de poliquetos ricos en estos PUFAs; encontrándose, que estos fueron los responsables de la estimulación del ovario.

### 1.3.3.2. Fosfolípidos

Los ovarios de hembras maduras son típicamente ricos en fosfolípidos (Kanazawa & Teshima, 1979) particularmente en fosfatidyl colina. Kanazawa & Teshima (1979) encontraron que la cantidad y calidad de lípidos es un limitante en el rendimiento reproductivo de los Penaeidos. Chappelle (1986), Kanazawa (1985), Galois (1984), y

O'leary & Matthews (1990) hallaron que la media de huevos por desove se relacionaba con el contenido de fosfolípidos en la dieta (en: Bray & Lawrence, 1992) .

Los fosfolípidos contribuyen al mejoramiento de la calidad del pellet, e incrementan su estabilidad en el agua, además juegan un papel importante como agente emulsificante (por ser una molécula con un componente hidrofílico y otro lipofílico) en sistemas biológicos; Kanazawa (1993) halló que pueden ser esenciales para la absorción de lípidos polares, así como también de colesterol y triglicéridos en crustáceos (en: Schwarz, 1995).

King *et. al.* ,(1992 a,b) indicó que los fosfolípidos (lípidos polares) han sido ampliamente usados comercialmente como emulsificadores y demostró su efecto antioxidante cuando se combinó con aceite de salmón en concentraciones de 2.5% y 5% como lípidos polares totales o 0.01% a 1% como fosfatilcolina (en: McEvoy, *et. al.*, 1996). Esta propiedad antioxidante es muy importante , ya que se ha observado la autoxidación de emulsiones con aceites marinos durante el proceso de enriquecimiento de *Artemia* (McEvoy, *et. al.*, 1996).

#### 1.3.3.3. Colesterol

El colesterol es un nutriente esencial para crustáceos (los cuales no pueden sintetizar este componente), conocido como componente importante en todas las membranas celulares. También es otro de los principales componentes de los ovarios. El colesterol representa del 19 al 24% de los lípidos en los huevos de los crustáceos y de pigmentos complejos de los ovarios maduros (Zagalsky *et. al.*, 1967, en Harrison, 1990). El colesterol almacenado en los huevos puede también servir como precursor de hormonas esteroideas y como reserva para el embrión y sus primeros estadios larvales.

#### 1.3.4. Carotenoides

Los carotenoides son acumulados de varias maneras en los crustáceos, como pigmentos libres, esterificados con ácidos grasos, asociados con proteínas y carbohidratos como carotenoglicolipoproteína o simplemente ligados a proteínas. Varias funciones cumplen los carotenoides y los complejos de carotenoproteínas, relacionados con el transporte de la hemolinfa, en el huevo como antioxidante, protector de nutrientes de reserva (lípidos) y tejidos embrionarios del peligro de oxidarse o de la radiación solar.

##### *Astaxantina*

Un carotenoide de mayor importancia es la astaxantina, una larga cadena de hidrocarburo poliinsaturado, que puede ser considerada como un lípido ó una vitamina liposoluble. Estudios fisiológicos sugieren que la astaxantina interviene en funciones celulares esenciales, mejoran la tolerancia al estrés y aumenta la respuesta inmune (Miki, 1991). Varios estudios realizados con peces y camarones alimentados con astaxantina en su alimento suplementado, revelaron mejoras significativas en el rendimiento del crecimiento, supervivencia, eficiencia de la conversión alimenticia (Latscha *et al.* 1991; Menasveta *et al.* 1991; Yamada *et al.* 1990; Bordner *et al.* 1986; Chien 1989, en: Merchie *et al.*, 1996).

Dall *et al.* , (1995) halló en *P. esculentus* que la mayoría de los carotenoides en la cutícula son astaxantina esterificada, mientras que en los ovarios maduros la astaxantina es mayormente no-esterificada. Esta diferencia quizás se deba a los diferentes roles específicos de los carotenoides en esos órganos específicos.

El sitio de conversión de astaxantina ovariana ha sido descubierto. Así, dietas conteniendo  $\beta$ -caroteno son convertidas en astaxantina en el hepatopáncreas, desde el cual

son inmediatamente transportadas al ovario; esto podría explicar las bajas concentraciones de astaxantina en el hepatopáncreas, especialmente en la vitelogénesis tardía en las hembras (Sagi *et. al.*, 1995).

### 1.3.5. **Vitaminas**

Son nutrientes esenciales, necesarios para el normal crecimiento, mantenimiento y reproducción del animal. La mayoría de las vitaminas no son sintetizadas por el cuerpo de los animales o si bien lo son, es a una tasa muy inferior, que no permite cubrir los requerimientos del animal. En general todos los animales muestran distintos signos morfológicos y fisiológicos por deficiencia, cuando alguna vitamina está ausente de la dieta. Kanazawa (1995) determinó los requerimientos para el *P. japonicus* de vitaminas que son las siguientes: vitamina E, ácido nicotínico, colina, piridoxina, biotina, ácido fólico, ácido ascórbico, cianocobalamina, vitamina D, inositol, riboflavina, tiamina, y beta caroteno. Pruebas realizadas con larvas pueden ser usadas como una guía para la suplementación de vitaminas en la dieta de reproductores. Las vitaminas que son requeridas en cantidades mayores en dietas para reproductores son las vitamina E y C.

#### ***Vitamina E***

La vitamina E es un antioxidante, compuesta por tocoferoles; su función primaria es de proteger los lípidos de las membranas biológicas contra la oxidación. Su deficiencia puede reducir el crecimiento, aumentar la mortalidad, pérdida de pigmentación y tejidos grasos. He *et. al.*, (1992) observaron que los camarones alimentados sin el suplemento de vitamina E mostraron una sobrevivencia baja y la mayoría de éstos exhibían un hepatopáncreas opaco. Se observó que existe un alto requerimiento de vitamina E en *P. indicus* cuando la hembra tiene múltiples desoves (Cahu y Fakhfakh, 1990). Se realizó un estudio que indica que la deficiencia de vitamina E produce una baja significativa en el



porcentaje de esperma (Chamberlain, 1988; en: Bray & Lawrence, 1992.). He & Lawrence (1993) observaron un incremento significativo de peso en *P. vannamei* alimentados con una dieta que contenía 99 mg. kg<sup>-1</sup> de vitamina E.

### ***Vitamina C***

El ácido ascórbico (soluble en solventes orgánicos y agua) es un importante antioxidante y es fácilmente oxidado. Su principal función es la formación de colágeno, es un componente esencial de capilares y tejido conectivo, se encuentra también en la síntesis de hormonas esteroides. Su deficiencia se caracteriza por un pobre crecimiento, reducción en la conversión alimenticia, reducción de la frecuencia de muda o muda incompleta, decrece la resistencia al estrés, presenta melanización en el exoesqueleto. ( Shigueno & Itoh, 1988). Dhert *et . al.*, (1995) observó en lenguados que la incorporación de vitamina C puede ser detectada en los huevos de los reproductores tratados, indicando que el ascorbil palmitato es una buena fuente de ácido ascórbico (en: Schwarz, 1995)

#### **1.3.6. Minerales**

El estudio de los requerimientos nutricionales de minerales en animales acuáticos, incluyendo los crustáceos, es complicada por su habilidad de absorber componentes minerales del agua. Existe una posible relación entre los niveles de vitamina y la absorción de minerales y el metabolismo (Hilton, 1984, en Harrison, 1990). Los desbalances minerales particularmente de los macroelementos, pueden afectar la reproducción de los crustáceos de dos maneras. Primeramente, causando un estrés fisiológico marcado por la reabsorción de los oocitos y por otro lado reduciendo las condiciones reproductivas de los reproductores: causando desbalance electrolítico, induciendo a un estrés osmoregulatorio y a una consecuente deshidratación, pérdida del apetito, alteración del metabolismo y una dispareja función respiratoria y excretora. La

segunda forma es un efecto directo de la mala nutrición con minerales, alterando la calidad de los huevos, y como resultado se observa un impacto en la embriogénesis y viabilidad de la larva.

### 1.3.7. Dietas prácticas

La nutrición es de suma importancia para la reproducción de *Penaeus*, y el éxito de la reproducción se encuentra estrechamente relacionado con la ingestión de nutrientes que a su vez acompañan el desarrollo gonadal. Una adecuada formulación de la dieta seca es requerida para suplementar un alimento de calidad constante a reproductores.

#### 1.3.7.1. Dietas naturales

Dietas naturales comúnmente utilizadas son calamar, almeja, mejillón, krill, cangrejo, poliquetos, ostra, entre otros. Chamberlain & Lawrence (1981) encontraron que el crecimiento y maduración de *P. vannamei* y *P. stylirostris* fueron mayores con una combinación que consistía de calamar, camarón, poliquetos y almejas sobre cualquier dieta sola de cada uno de los anteriores.

Teshima (1982) halló que la frecuencia de cópulas así como también la producción de nauplios es incrementada con la alimentación del poliqueto de Maine, debido a su alto nivel protéico y lipídico especialmente de ácidos grasos los que posiblemente contribuyen a la maduración del ovario (Garriquez, 1996); además el poliqueto puede ser reemplazado por la biomasa de *Artemia* enriquecida y no enriquecida como suplemento para el rendimiento reproductivo de los camarones (Naessens *et. al.*, 1997).

Resultados de análisis indican que las ostras, calamar y ciertos gusanos marinos (poliqueto de Panamá) tienen perfiles similares de ácidos grasos que el poliqueto de

Maine (Lytle *et. al.*, 1990). Kanazawa (1990) reportó que las sustancias en la carne de la almeja indujeron el desarrollo ovárico en *P. japonicus* y consistieron en fracciones lipídicas y protéicas. Gómez & Arellano (1990) reportaron que la adición de 11% de poliquetos en dietas de calamar, ostras y pellets mejora el rendimiento reproductivo del *P. vannamei*.

#### 1.3.7.2. Artemia.

Recientemente, el interés ha sido enfocado en la suplementación de dietas para reproductores con *Artemia* adulta (Naessens *et. al.*, 1997) debido a la sorprendente acogida que ha mostrado la suplementación de biomasa de *Artemia* en el sector privado.

Experiencias con *Artemia* adulta como componente de la dieta en la maduración de camarones ha sido documentado por Bray *et. al.*, (1990) quienes demostraron que la administración de una dieta fresca-congelada de calamar, poliquetos, camarón y *Artemia* adulta en una proporción 4:2:2:1 para *P. stylirostris* mostraron buenos rendimientos reproductivos. Browdy *et. al.*,(1989) encontraron un aumento en el rendimiento reproductivo cuando usó *Artemia* congelada como suplemento en la dieta para *P. semisulcatus*.; constituyentes de la *Artemia* adulta enriquecida (lípidos, vitaminas, carotenoides) estimulan la actividad reproductiva y la maduración del ovario a más de contener propiedades que mejoran la calidad del desove (Wouters *et. al.*, 1997). Posiblemente también presente altos niveles de hormona reproductiva la *Artemia* adulta ó la presencia de ácidos grasos esenciales, carotenoides u otros factores nutricionales podrían ser causantes potenciales de un efecto inductor en la maduración del ovario (Browdy, 1989).

Es posible enriquecer la *Artemia* con compuestos liposolubles (Sorgeloos *et. al.*, 1987), como por ejemplo nutrientes que pueden estimular el rendimiento reproductivo y/o calidad de los nauplios en los camarones. Los productos enriquecedores pueden incluir ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), vitaminas liposolubles, astaxantina, entre otros. Por ser

también una vía de suministro para tratamientos terapéuticos, profilaxis y facilitar la manipulación de su composición nutricional es muy usado en estudios científicos.

Además, con una técnica de bio-encapsulación se podría reducir la variabilidad nutricional de los lotes de *Artemia* y aumentar su calidad nutricional, por ejemplo con DHA, el cual es un ácido graso que no está presente en la *Artemia*. Técnicas de bioencapsulación pueden ser aplicadas en todos los estadios de *Artemia* (de instar I hasta adulto reproductivo) para ser usados como vector de nutrientes esenciales y otros componentes a camarones juveniles, peces juveniles y larvas de langostas.

#### 1.3.7.3. Dietas artificiales

Las dietas artificiales-comerciales (pellets) para reproductores de camarón sin duda alguna es la forma más práctica y sencilla de utilizar, a largo plazo de seguro reemplazarán a las dietas naturales. Las dietas artificiales que existen actualmente, se encontraron disponibles a mediados de los ochenta; las formulaciones de los requerimientos de nutrientes para reproductores solo eran aproximadas, porque hasta esa época habían pocas investigaciones y casi nada publicado (Harrison, 1990). Las dietas eran formuladas con varios nutrientes de presumible importancia para la maduración, desafortunadamente, resultados de pruebas de campo (Harrison, 1990) demostraron que no pueden reemplazar en más del 50% a la dieta natural (fresca-congelada).

Verstraete, *et. al.*, (1995) encontró resultados satisfactorios comparando los resultados de rendimiento reproductivo entre el tanque control (calamar y almeja congelado) y el tratamiento con la sustitución del 50% de la dieta con pellet formulado por INVE. Encontró además que la dieta suplementada con pellet incrementó en un 25% las hembras desovadas por tanque por día y la cantidad de huevos se incrementó en un 5% pero no así su eclosión que decreció en un 21,5%.

Los resultados de la sustitución parcial de la dieta natural son alentadores; es necesario mejorar la formulación de estas dietas con respecto al efecto que puedan tener en la calidad del desove, ya que ésta sin duda alguna es el alimento más práctico, de fácil almacenaje, con una disponibilidad y calidad constante, a más de reducir significativamente el uso de alimento natural.

Actualmente se encuentra en el mercado dietas para maduración de reproductores como Frippak, Rangen, Neo-novum, Nicovita, Zeigler, Murex, INVE entre otros.

#### 1.4. ASPECTOS MEDIOAMBIENTALES

A continuación se describirán unos parámetros medio ambientales que influyen en el comportamiento y que son comúnmente observados en experimentos, y tienen efectos en la reproducción en cautiverio.

- Columna de agua en tanques de maduración.- La altura de la columna de agua usada en los tanques de maduración varía de 35 a 50 cm , esta columna de agua parece la adecuada para el apareamiento de todas las especies *Penaeus* ( Gómez & Arellano, 1990 ).
- Densidad de cautiverio.- La densidad de cautiverio para adultos en tanques de maduración es de 4 a 5 ind. m<sup>-2</sup> .
- Proporción de machos para hembra.- El rango óptimo para especies de télico abierto es de 1:1 a 1.5:1.
- Color de tanques.- Existen algunos reportes que indican que los tanques negros pueden ser beneficiosos.

- Intensidad de luz.- Se ha venido utilizando una amplia variedad de intensidades de luz. De 10 a 300 lux se recomienda (Gómez & Arellano, 1990).
- Ruido y estrés medio-ambiental.- El proceso de maduración y reproducción necesita llevarse a cabo en lugares aislados y alejados de cualquier fuente de ruido.
- Fotoperíodo.- Varios regímenes de luz:oscuridad han sido utilizados en experimentos de maduración. Para mejorar considerablemente los niveles de maduración se utiliza un fotoperíodo de 14:10 luz:oscuridad. El fotoperíodo invertido es aplicado, ya que con el uso de luz artificial se disminuyen las labores nocturnas (Arellano *et. al.*, 1984).
- Recambio de agua.- El recambio de agua depende de muchos factores como la talla del animal, densidad de animales, tipo de alimento, número de raciones de alimento/día, carga orgánica y otros factores relacionados con la carga biológica en el sistema de cultivo (Misamore & Browdy, 1996). Aunque el rango utilizado en sistemas abiertos es de 150 a 300% diario (com. pers. J. Maridueña, J. Macías).

La literatura indica que el pobre apareamiento puede ser debido al estrés medio ambiental, por el uso de machos inmaduros o impotentes, tamaño inadecuado de tanques, mala calidad de agua y parece ser también por metabolitos o sustancias en el agua de cultivo.

Está claro que algunas especies son más tolerantes a las fluctuaciones medio ambientales y de calidad de agua que otras. Especies como el *P. vannamei* son susceptibles a la calidad del medio ambiente y el apareamiento es fácilmente interrumpido .

## 2. MATERIALES Y METODOS

El experimento realizado fué desarrollado en las instalaciones del departamento de maduración del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (Fundación Cenaim-Espol). El experimento fue evaluado durante Marzo-Mayo de 1997.

### 2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Tres tratamientos fueron evaluados (ver 2.2 dietas alimenticias), cada tratamiento fue llevado a cabo en un tanque de maduración, sin réplicas. Las unidades experimentales la constituyeron las hembras marcadas con un número de identificación, cada desove o cada día según el parámetro evaluado (ver 2.6).

### 2.2. DIETAS ALIMENTICIAS

#### 2.2.1. Dieta base

La dieta base estaba compuesta de Ostra (*Crassostrea sp*), Almeja (*Tagelus sp*), Mejillón (*Mytella sp*), y Calamar (*Loligo sp*); que es la dieta comúnmente usada a nivel comercial.

La ostra y el mejillón fueron recolectados en Posorja, el calamar fue capturado en la zona de Ayangue y la almeja provino de la zona de Villamil playas. Los proveedores suministraban la pulpa en el caso de los bivalvos y el calamar entero fresco, luego se eliminaba el agua acompañante y se empaquetaba el alimento en fundas de 5 lb para almacenarlo en un congelador a -10°C.

Previo a la suministración de las materias frescas arriba señaladas, fueron traceadas en

pequeños pedazos que el camarón si podía digerir.

### 2.2.2. **Dieta experimental: *Artemia* adulta enriquecida**

Junto a la dieta base también se suministraba *Artemia* como un suplemento alimenticio y por sus características sería considerada como el vector que nos ayudaría a evaluar el efecto de la dieta en el rendimiento reproductivo de los camarones. La *Artemia* adulta provino de SFBB, California la que es cosechada en San Francisco Bay. El enriquecedor fue tipo emulsión; el proceso de enriquecimiento consistió en suministrar a la *Artemia* 0.3 g.l<sup>-1</sup> de emulsión durante cuatro horas, para luego ser rápidamente congelada en "fluidijed bed freezer" en paquetes de 0.01 m de espesor.

Tabla 2. Dietas experimentales.

	Tratamientos		
	PV	P	V
<b>Dieta base</b>	X	X	X
<b>Artemia enriquecida con:</b>			
Vitaminas-astaxantina	X		X
PUFAs	X	X	

En el tratamiento PV, la *Artemia* es enriquecida con un producto "completo" que incluye PUFAs, colesterol, vitaminas (niveles altos de vitaminas C y vitamina E, cantidades mínimas de vitaminas A y D3, y niveles altos de astaxantina). El producto enriquecedor contiene lecitina (fosfolípidos) debido a que este componente es el que le da la característica de emulsión y su uso es inevitable para la bioencapsulación de la *Artemia* adulta. La eficacia de esta dieta ha sido comprobada en un experimento anterior (Wouters *et al*, 1997), mostrando buenos resultados (producción de 14 millones de huevos, 7



millones de nauplios en un tanque de maduración en 77 días).

El tratamiento P, es igual en su composición nutricional al tratamiento PV, pero se le suprimió la ración de vitaminas y astaxantina en el producto enriquecedor.

El tratamiento V, es igual en su composición nutricional al tratamiento PV, pero la parte PUFAs y colesterol fueron reemplazadas por aceite de coco (rico en ácidos grasos saturados de cadena corta).

### 2.2.3. Régimen alimenticio

Durante la fase de aclimatación y mantenimiento se alimentó con una tasa de 14% (peso húmedo) diario de la biomasa de reproductores, asumiendo que las hembras tenían un peso promedio de 55g y los machos 45g (ver tabla 3).

Tabla 3. Composición porcentual de la dieta

	<u>Artemia</u>	<u>Artemia É</u>	<u>Ostra</u>	<u>Almeja</u>	<u>Mejillón</u>	<u>Calamar</u>
Compra de reproductores	10 %	-	12 %	12 %	16 %	50 %
Aclimatación	-	30%	12 %	12 %	16 %	30 %
Durante el bioensayo	-	30%	12%	12%	16%	30%

É: enriquecida (ver 2.2.2)

Durante el experimento se alimentó con una tasa de 17 % de la biomasa (peso húmedo) diario.

Para evitar el consumo preferencial de los alimentos frescos en vez de la dieta y

viceversa, cada uno fue suministrado en horarios diferentes (ver tabla 4).

Tabla 4. Horario de alimentación

<b>Hora de alimentación</b>	<b>Alimento</b>
04h00	Ostra
10h00	Artemia enriquecida
15h00	Almeja y Mejillón
21h00	Artemia enriquecida
24h00	Calamar

### 2.3. ANIMALES EXPERIMENTALES

Se utilizaron reproductores silvestres de *Penaeus vannamei*, capturados en la costa ecuatoriana, a lo largo de la zona de Manglaralto, localizada entre Ayangue y Olón.

#### 2.3.1. Captura y Transporte

Para la captura de los reproductores se utilizó el arte de pesca conocido como trasmallo, que proporciona las mejores capturas y animales en buenas condiciones (Gómez y Arellano, 1990). El trasmallo era ubicado al atardecer y recogido dos o tres horas después en la noche, para la posterior venta de los reproductores en la playa. Para el transporte de los mismos, eran colocados en tubos perforados de PVC de 0.20 m. de longitud.

Los reproductores eran transportados al CENAIM durante la noche en tanques cuadrados de 500 l de capacidad, de fibra de vidrio color azul, 400 l de agua, a una temperatura de 23°C y aireación con oxígeno puro. El tiempo de transporte desde su captura hasta su

recepción era aproximadamente de dos horas.

### 2.3.2. **Recepción y Selección**

Los reproductores se recibían en la sala de maduración del Cenaim por la noche, y ubicados en tanques ovalados-negros con una capacidad de 18T, a una temperatura de 23°C. Para una buena selección se realizaba una observación anatómica del animal (rostrum, apéndices, ojos, antenas y anténulas completas). Se adquirieron sólo los reproductores que tuvieran sus partes completas, un peso entre 50g y 70g en el caso de las hembras, y no menores a 45g para los machos, que no presentaran signos externos de estrés (coloración amarillenta y necrosis) y que no se fondearan al momento de ubicarlos en el tanque. Se receptaron un total de 182 hembras y 153 machos en un período de dos semanas.

### 2.3.3. **Aclimatación de reproductores**

Debido a que las condiciones del laboratorio no fueron similares a las medioambientales de donde provenían los camarones, un período de aclimatación de 15 días (28 febrero al 14 de marzo) fue necesario. Una vez recibidos los reproductores eran ubicados en tanques de 18 T, separando hembras de machos.

El alimento era suministrado a partir del día siguiente a su recepción.

La aclimatación de la temperatura en los tanques de cultivo se la realizó gradualmente, incrementándose hasta 28°C gracias a las buenas condiciones climáticas que mantuvieron esas temperaturas en el mar.

Al tercer día de aclimatación los animales fueron expuestos a un tratamiento con

Oxitetraciclina a 25 ppm.

#### 2.4. CONDICIONES DE MADURACION, REPRODUCCION Y DESARROLLO LARVAL

Por razones logísticas no pudimos contar con el caldero desde el primer día del experimento y siendo utilizado a partir de la tercera semana del experimento con una temperatura mínima de 28.5°C. Para facilitar el proceso de maduración, se mantuvieron en el sistema ciertas condiciones, tales como un recambio constante de agua del 200%, ruido y estrés medio-ambiental mínimo y una columna de agua en tanques de maduración 0.55 m. La densidad de cultivo utilizada en el experimento fue de 4 individuos por metro cuadrado con una proporción de machos:hembra es 1.1:1 .

##### **2.4.1. Suministro de aire**

Cada tanque tenía dos difusores de aire siendo el suministro de 3 - 4 l/aire/min/difusor. Tales difusores fueron dispuestos de tal manera que se evitaba perturbar en lo posible al camarón, sobretodo durante la cópula de los camarones.

##### **2.4.2. Tratamiento de agua**

El agua previo a su almacenamiento en el tanque reservorio pasa a través de dos filtros de arena, desde el reservorio principal fue bombeada constantemente y tratada por un sistema de lamparas U.V, antes de ingresar a los tanques de proceso y a la sala de desove era calentada hasta 28.5°C en un caldero Vacotin-heater, japones, eléctrico modelo KSAN-80HL con quemadores a diesel; luego pasaba por segunda vez por lamparas U.V.

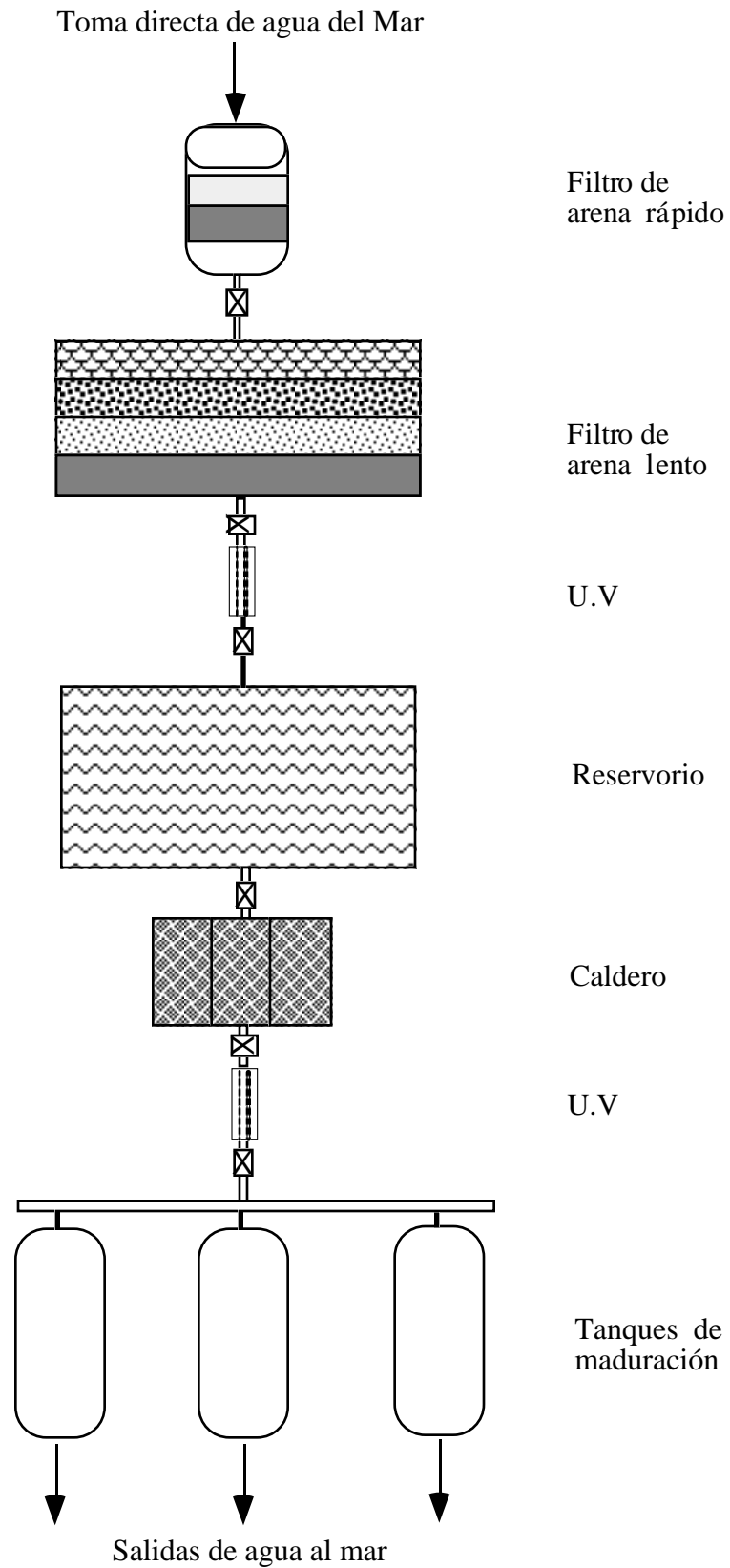


Fig 7. Tratamiento del agua usada en el sistema experimental.

#### **2.4.3. Parámetros físicos - químicos**

Durante el experimento, la temperatura, los niveles de oxígeno y el pH fueron monitoreados diariamente.

La temperatura durante el mantenimiento de los reproductores fue de 23°-24°C y durante la aclimatación y el experimento se mantuvo entre 27° -29°C. Se utilizó un termómetro OTA KEIKI. Para las mediciones de oxígeno y el pH se utilizó un medidor portátil Kagaku UC-12DO y Kagaku UC-23 respectivamente.

La Intensidad de luz fue medido con un luxómetro marca YOKOHAMA de 300 a 400 lux proporcionada por 15 fluorescentes de 40 watt y ubicadas a 1.5 metros de altura sobre la superficie del agua del tanque. El fotoperiodo invertido de 14h día:10h noche horas día:noche, fue gradual.

#### **2.4.4. Infraestructura y proceso general**

Para el experimento se contó con tanques de diferentes volúmenes y especificaciones de acuerdo a la necesidad requerida por cada proceso.

Los tanques de cultivo fueron conectados a un sistema de circulación abierto (detalles más adelante) asegurando las condiciones con respecto a temperatura, aireación y purificación de agua.

#### 2.4.4.1 Sistema de maduración

Consistió de 3 tanques de fibra de vidrio, ovalados, color negro de 18T de capacidad máxima instalada, con un área de 18.52 m<sup>2</sup> y una altura de 1.0 m. El drenaje de cada tanque se realizaba por medio de un tubo colocado en el centro del tanque a razón de 15 litros/min. La columna de agua fue de 0.55 m. lo cual proporcionó un volumen de trabajo de 10.18 T. En estos tanques se llevó a cabo la maduración.

#### 2.4.4.2. Sistema de Desove

Se contó con una sala de desove con 15 tanques de policarbonato, cilíndricos, color negro, de fondo cónico con sobrepiso perforado y tapa plástico negro, de 600 l de capacidad con un volumen de 300 l para el desove. La aireación y el sobrepiso fueron instalados mientras las hembras permanecían en el tanque de desove, después del desove se retiraba el sobre piso y se suspendía la aireación, para la posterior cosecha de huevos.

#### 2.4.4.3. Sistema de eclosión

La sala de eclosión consistió de 9 eclosionadores cilíndricos de 0.30 m de profundidad y un diámetro de 0.25 m con fondo de malla Nytex® de 100 micras, los cuales van ubicados dentro de módulos individuales. Cada eclosionador tiene una tapa con un orificio en la parte superior por el que penetra la luz cerca de la salida del módulo que permite cosechar por fotoxasismo los nauplios eclosionados, que son cosechados en un tanque de PVC de 0.30 m de diámetro con malla Nytex® de 100 micras y con aeración. Dos tanques de 500 litros proveen a la sala de eclosión con agua temperada. Mientras que uno de éstos está conectado al sistema, se desinfecta el otro.

#### **2.4.5. Limpieza de tanques y renovación del agua**

La limpieza se la realizó diariamente con un sifón de 3 m. de largo y 0.05 m de diámetro en forma de una aspiradora para remover la suciedad del fondo, desechos de alimento, heces, mudas, y sedimentos.

#### **2.4.6 Tratamientos curativos**

Los camarones fueron expuestos a tratamientos con oxitetraciclina (3 de marzo) a una concentración 30 ppm, en 2 T de agua. Dicho volumen se mantuvo estático por dos horas para combatir la necrosis que presentaban algunos camarones. También se usó formol a una concentración 75 ml/T., en 2 T. de agua, estático por 2 h. cuando por observación microscópica se determinaba la presencia excesiva de Vorticella. Por esta razón se realizaron 4 tratamientos (14 y 24 de marzo; 2 y 25 de abril), durante el experimento. Posterior a la aplicación de los tratamientos el parásito desaparecía.

#### **2.4.7. Sistema experimental**

Para evaluar la eclosión , la condición de huevos y nauplios, se sembraron 100 huevos en tarrinas de 400 ml por duplicado y en botellas de 900 ml se evaluaba la metamorfosis de N5 a Z1. La temperatura se mantuvo a 30°C mediante sistema de baño Maria.



## 2.4.8 **Protocolo:**

### 2.4.8.1. Ablación

La ablación unilateral del pedúnculo ocular de la hembra se la realizó por el proceso de corte y punción (17 de marzo). En el pedúnculo ocular restante se le ubicó el anillo numerado para la identificación de la hembra.

### 2.4.8.2. Búsqueda de la hembra copulada

Al apagarse las luces, después de una a dos horas (07h15 - 08h00 - 08h30), comienza la búsqueda de la hembra copulada en los tanques de maduración, con la ayuda de una linterna (marca Toshiba). Usando una vara de madera de un metro de longitud, con el extremo de la vara se ejerce una leve presión encima del cefalotórax de la hembra y al girar el cuerpo de la misma se observa si está o no el espermátforo adherido al télico de la hembra. De ser así se captura la hembra con un chayo y se la lleva a los tanques de desove.

### 2.4.8.3. Desove y remaduración

Las hembras copuladas fueron colocadas individualmente en los tanques de desove, para poder llevar un mejor control. Después del desove eran devueltas al tanque de cultivo original.

#### 2.4.8.4. Cosecha de huevos

Los desoves ocurrieron entre las 09h00 y 15h00. Las hembras desovadas fueron pesadas en una balanza digital con exactitud 0.01 g, se establecía el tipo de desove obtenido (total, parcial) y se las regresaba inmediatamente al tanque de maduración. Después los huevos eran cosechados y desinfectados con Argentyne por espacio de un minuto a una concentración de 100 ppm, con aeración fuerte y recambio y llevados a los eclosionadores.

A fin de determinar el número de huevos por desove, se tomaron 3 a 5 alicuotas de 1 ml cada una, de un recipiente de 10 l provisto de aeración fuerte y agitación manual. Se contaba el número de huevos presentes en cada alicuota y mediante el valor promedio se realizaban los cálculos respectivos

#### 2.4.8.5. Fecundidad, condición de huevos y porcentaje de eclosión

De cada desove 50 huevos, fueron medidos en el Proyector de Perfiles (marca MITUTOYO) con exactitud de  $0.001\mu\text{m}$  se fijó con lugol.

Después de 24 horas de ocurrido el desove, se observa la cantidad de nauplios eclosionados; la deformidad de nauplios, % huevos infértiles y % huevos no-viables (número de nauplios que todavía se encuentran dentro de los huevos, que no han podido eclosionar) mediante el uso de microscopios marca OLIMPUS modelos CD11 Y BO71. La observación fue por duplicado en muestras de 100 huevos contenidos en tarrinas de 250 ml de agua de mar.

#### 2.4.8.6. Cosecha de nauplios

La cosecha de los nauplios se realizó, utilizando los eclosionadores descritos en el punto 2.4.4.3 (los nauplios muy débiles se quedaban en el eclosionador). Una vez cosechados los nauplios son desinfectados con 100 ppm de Argentyne por un minuto (aeración fuerte) y se los cuenta con el mismo método con que se contó los huevos. Todo este proceso de eclosión hasta cosecha dura alrededor de 14 horas (desde las 22h00 hasta las 11h00 del siguiente día).

#### 2.4.8.7. Desarrollo larval

El porcentaje de metamorfosis es determinado por la cantidad de N5 que llegan a Z1. Se toma una muestra de 100 nauplios y se siembran en una botella de vidrio de 500 ml, para el desarrollo a Zoea 1. Los estadios naupliares duran cerca de 40 h. Si el desove ocurrió el día 1 (en la mañana), la eclosión ocurre el día 2 (en la madrugada), y la metamorfosis a Zoea 1 empieza el día 3 (en la noche). Se alimenta con 100.000 células de *Chaetoceros sp./ml* en la tarde del día 3 y se cosecha el día 4, para determinar el estadio larval y medir la longitud de las larvas mediante un muestreo de 30 individuos en estadio zoea 1.

Se realizó una desinfección total de los tanques de desove, del sistema de eclosión e instrumental utilizado, antes y después del cultivo con cloro a 30 ppm (Trecce & Yates, 1988), se enjuagó con agua dulce y luego se llenó nuevamente los mismos con agua filtrada.

#### 2.4.8.8. Evaluación de la calidad de espermatóforos en camarones

Al finalizar el experimento (11 de mayo) se procedió a la extracción de los espermatóforos de 10 machos por tratamiento, y se los pesó por separado. Luego se los colocó en un tubo eppendorf, se les agregó 1,0 ml de solución salina y se los maceró. Después se tomó 0,2 ml de ésta mezcla, se la colocó en otro tubo y se le añadió 0,8 ml de Trypan blue (tiñe el citoplasma del espermatozoide muerto) lo que permitió la diferenciación entre células vivas y muertas. También se determinó la cantidad de espermatozoides deformes y el número total de espermatozoides por camarón por medio de un hemocitometro.

#### 2.4.8.9 Rutina diaria

<i>Hora</i>	<i>Actividad</i>
03h00	Colocar mallas 100 micras en la salida de cada tanque
04h00	Corte de flujo; Alimentación (Ostra)
04h30	Conteo de hembras en estadio III y IV
05h00	Preparación de tanques de desove (agua temperada)
07h00	Apagado de luces; Corte de aeración; Pesca, primera ronda
08h00	Captura, segunda ronda; registro del número de cópulas y desoves por tanque;
<b>08h00</b>	Contar Zoea 1, fijar con alcohol y medir la longitud*
08h45	Captura, tercera ronda
09h00	Abrir válvulas de agua y aire

<b>09h15</b>	Desinfección, cosecha y conteo de nauplios; Muestrear 100 nauplios para llevarlos hasta Zoea 1; fijar muestra con lugol para estimar % deformes*;
09h45	Registro del número de nauplios por hembra desovada
<b>10h00</b>	Alimentación ( <i>Artemia</i> ); contar nauplios en las tarrinas del día anterior; Contar huevos infértiles y no-viables
10h30	Bajar sobretubos (anexo 1) en tanques de proceso; retorno de hembras a proceso, primera ronda;
10h45	Registro del número de huevos por hembra desovada, primera ronda
<b>11h00</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muestrear huevos, primera ronda (1 hora después del desove); fijar 100 huevos con lugol y medir diámetro*;</li> <li>• Ubicar por duplicado 100 huevos en tarrinas (<i>Como respaldo del resultado obtenido</i>)</li> </ul>
12h00	Almuerzo operarios
<b>12h45</b>	Almuerzo técnicos y estudiantes
13h00	Alzar sobretubos; Retorno de hembras a proceso, segunda ronda;
13h30	Desinfección, cosecha y conteo de huevos y cambio a eclosionadores, primera ronda
<b>13h45</b>	Determinar el porcentaje de fertilidad (% huevos "malos") con los huevos fijados en la mañana (2 veces unos 50 huevos);
<b>14h30</b>	Medir diámetro de huevos; medir longitud Zoea 1; cálculo del porcentaje de deformidad de los nauplios.
15h00	Alimentación (Mejillón + Almeja);
15h30	Desinfección, cosecha y conteo de huevos y cambio a eclosionadores, segunda ronda

<b>16h00</b>	Verificar mallas en la salida de cada tanque: conteo huevos + muestra para observación en microscopio
16h45	Revisión general del área
17h00	Encendido de luces (pasillo)
20h00	Encendido de luces (centrales)
<b>20h00</b>	Muestrear fondos de tanque + observación con microscopio
20h30	Sifoneo + (pasando un día se hace un recambio fuerte)
21h00	Alimentación ( <i>Artemia</i> )
<b>21h00</b>	Pasar datos a programa Excel: diámetro, longitud, control general;
22h00	Encendido de luces (laterales internos)
24h00	Encendido de luces (laterales externos); Alimentación (Calamar)
continuo	Pesar y medir los animales muertos, anotar identificación;

\* Muestras fijadas con lugol ó alcohol: observaciones y mediciones pueden esperar hasta la tarde/noche.

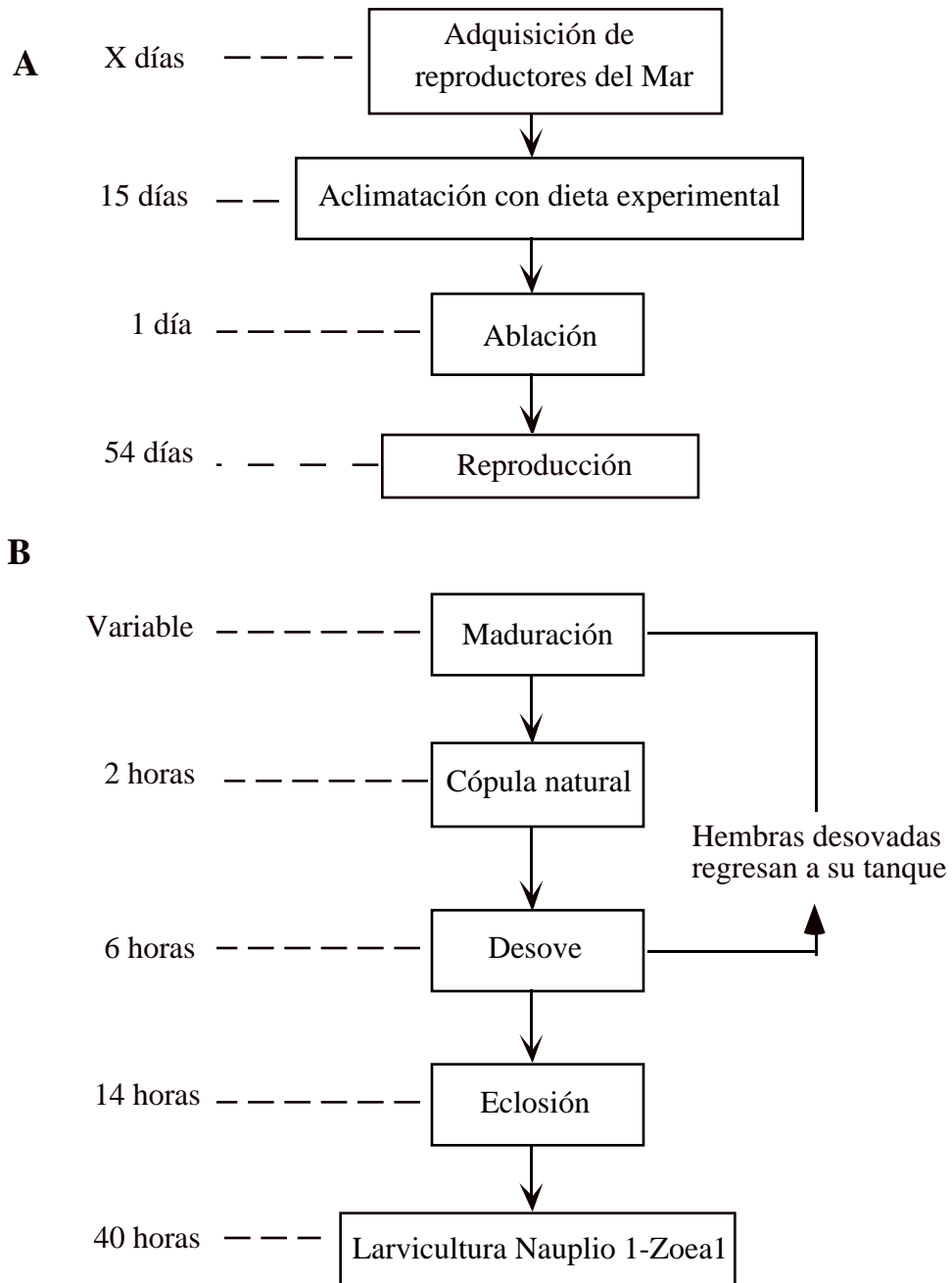
2.4.8.10. Esquema del experimento.

Fig. 8 (A). Fases del experimento, (B). Procesos presentados dentro del experimento con sus tiempos de duración aproximados.

## 2.5 ANÁLISIS DE LA ARTEMIA ENRIQUECIDA

Se realizó un análisis del contenido calórico de las dietas con una bomba calorimétrica, además se observaron muestras de las tres dietas al estereoscopio para verificar el contenido del enriquecedor emulsificado en el tracto digestivo.

## 2.6 PARÁMETROS DE EVALUACIÓN Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO CORRESPONDIENTE

Los posibles efectos causados por la variación individual de los animales experimentales, fue reducido con la distribución de los camarones por peso por tanque por tratamiento, de tal manera que los tres tratamientos tengan camarones con un peso promedio inicial similar. Otros factores a más de la dieta como los medioambientales y del sistema que podrían afectar la reproducción de los camarones que son muchos y son revisados por Bray & Lawrence (1992), son factores que en éste experimento son considerados como una constante para todos los tanques (calidad de agua, temperatura, fotoperíodo, intensidad de luz, tamaño y forma del tanque), además los tanques fueron aislados en lo posible de ruidos causados por los procesos operativos, por consiguiente es poco probable que hayan contribuído en las diferencias observadas.

Durante el experimento se registraron varios parámetros con diferentes formas de replicación que sirvieron para la evaluación del mismo y fueron los siguientes:

Para la supervivencia y la producción total de huevos, nauplios y zoea 1 sólo contamos con un tanque de maduración por tratamiento, por lo que no fueron analizadas estadísticamente.



Los reproductores hembras se consideraron como réplicas al evaluar tiempo de vida útil, producción individual de huevos, nauplios y zoea 1, y peso tanto en hembras y machos.

Los días se consideraron como réplicas para evaluar la tasa de maduración y tasa de desove.

Los desoves se consideraron como réplicas para evaluar los porcentajes de fertilidad, de viabilidad y de eclosión, diámetro de huevos, deformidad, porcentaje de metamorfosis a zoea1, longitud de zoea1 y producción de huevos, nauplios y zoea1.

Los datos replicados como reproductores o días fueron analizados por ANOVA (una vía). El análisis de regresión lineal fue necesario para comprobar o excluir la influencia del peso de la hembra y el orden del desove como covariantes en el análisis estadístico. Los datos replicados con desoves fueron analizados con ANCOVA para tomar en cuenta la influencia de las covariantes orden del desove o peso de la hembra.

Al final del experimento se muestrearon 10 reproductores machos de cada tratamiento para evaluar peso de espermatóforos, cantidad de esperma, porcentaje de células deformes y muertas que fueron evaluados mediante un análisis con ANOVA.

La determinación de diferencias significativas entre tratamientos fueron detectadas por medio de la prueba de rango múltiple de DUNCAN. El programa de análisis estadístico utilizado fue STATISTICA (Microsoft corp.).

Se realizó una prueba de  $X^2$  (Mead *et al*, 1993), para observar el efecto de la dieta en la probabilidad de producción o no de una hembra.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. DIETAS EXPERIMENTALES

En la observación estereoscópica de las muestras de *Artemia* enriquecida de cada tratamiento, se encontró el cuerpo de la *Artemia* intacto, con su tracto digestivo completamente lleno del emulsificante para cada tratamiento, por lo tanto el enriquecimiento fue total, el transporte y almacenaje aparentemente no afectaron la calidad de la *Artemia*.

Se determinó el contenido calórico para cada tratamiento obteniéndose los siguientes resultados: 4.875, 4.867, 4.732 cal/g para los tratamientos PV, P y V, respectivamente; estableciéndose que las dietas eran isocalóricas. Por lo tanto, las diferencias observadas entre tratamientos son debidas a diferencias en la composición nutricional, más no en el contenido calórico de las mismas.

#### 3.2. PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS

El pH y oxígeno no presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos en el período comprendido del 21 de marzo al 12 de mayo, sus promedios fueron  $7,90 \pm 0,04$  y  $6,28 \pm 0,09$  mg/l respectivamente. La temperatura promedio durante el experimento (20 de febrero al 12 de mayo) fue de  $28,1^{\circ}\text{C} \pm 0,8$  para todos los tratamientos, debido a que el agua provenía de la misma fuente (ver 2.4.2). La temperatura promedio de  $27,6^{\circ}\text{C} \pm 0,7$  se mantuvo hasta el día 8 de marzo; a partir del 9 de marzo (C) se trabajó con el caldero hasta finalizar el experimento por lo que la temperatura promedio fue de  $28,8^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ .

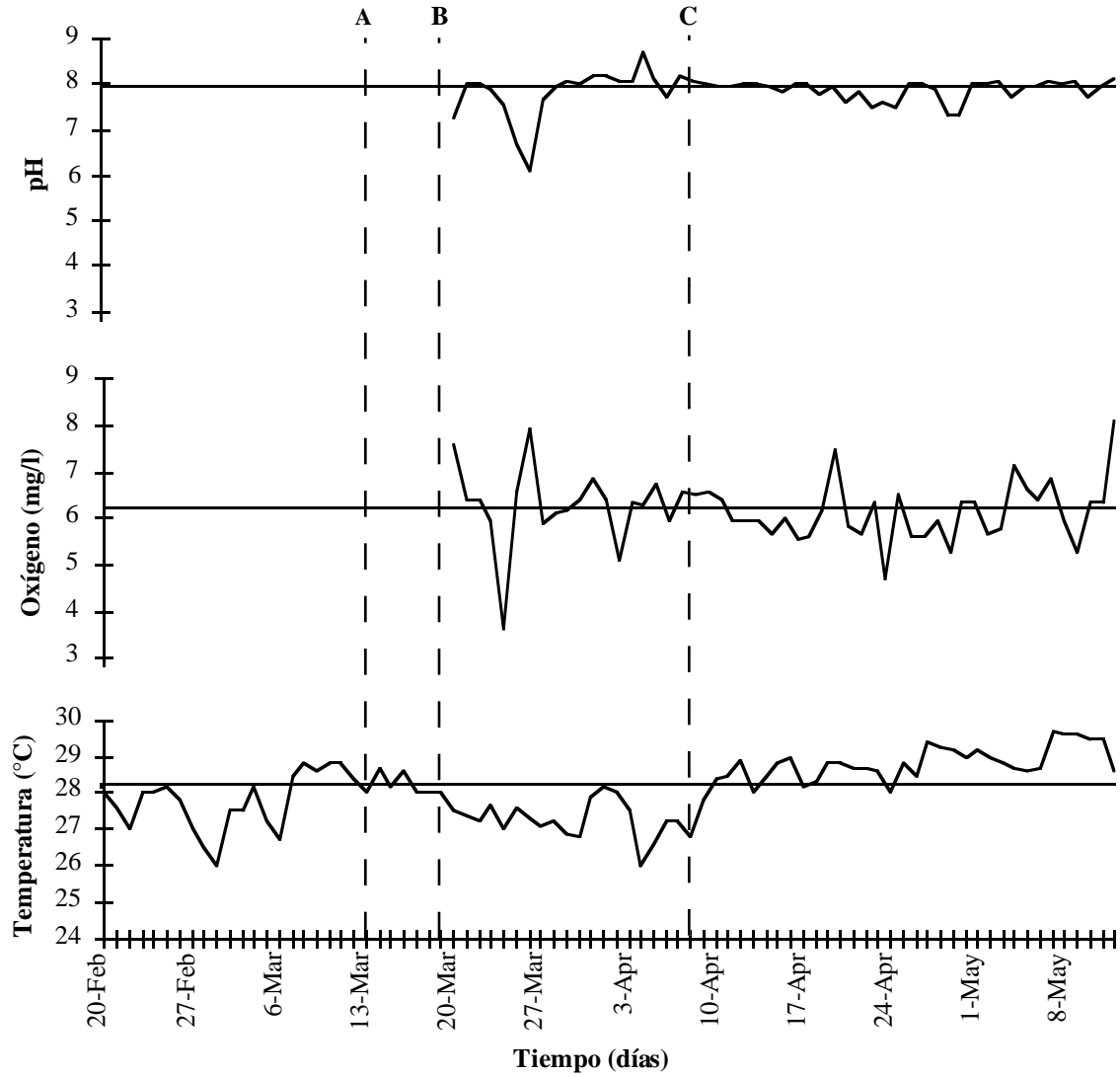


Fig 9. Temperatura, Oxígeno y pH durante el bioensayo; las líneas segmentadas indican la fecha en que se realizó: ablación de hembras (A), mezcla de hembras y machos (B) y puesta en marcha del caldero (C). Las líneas horizontales llenas indican el promedio en cada parámetro.

### 3.3. SUPERVIVENCIA Y PESO DE REPRODUCTORES

La supervivencia final para los machos se registró 83, 84 y 64% en tanto que para las hembras se observó 64, 53 y 57% para los tratamientos PV, P, V, respectivamente.

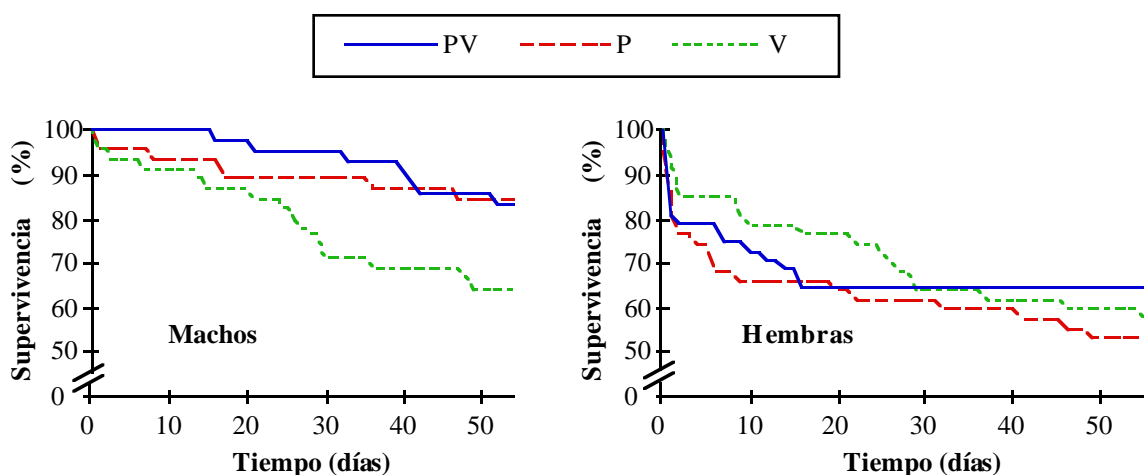


Fig. 10 Evolución de la supervivencia de machos y hembras post-ablación.

La figura 10 muestra la evolución de la supervivencia. En machos, la mortalidad en el tratamiento V fué más alta durante la cuarta y quinta semana.

Para poder evaluar estadísticamente la supervivencia se calcula un dato individual (hembras marcadas por tratamiento) denominado "Tiempo de vida útil" de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Tiempo de vida útil} = \frac{\text{Días de supervivencia post-ablación}}{\text{Días del experimento (54 d)}} * 100$$

Tanto en el peso inicial como en el peso final, no se observaron diferencias entre tratamientos (tabla 5).

Tabla 5. Tiempo de vida útil de hembras y peso de reproductores (promedio±desviación estándar)

	<b>Tratamientos</b>		
	<b>PV</b>	<b>P</b>	<b>V</b>
Tiempo de vida útil de hembras (%)	82,75±33,96 <sup>a</sup> (54)	79,23±35,71 <sup>a</sup> (54)	82,36±29,27 <sup>a</sup> (54)
Peso inicial de hembras (g)	64,03±9,52 <sup>a</sup> (39)	64,53±7,18 <sup>a</sup> (38)	65,10±6,05 <sup>a</sup> (40)
Peso final de hembras (g)	65,82±8,82 <sup>a</sup> (28)	64,94±6,64 <sup>a</sup> (27)	66,85±6,49 <sup>a</sup> (27)
Peso inicial de machos (g)	55,61±7,62 (38)	55,61±7,62 (38)	55,61±7,62 (38)
Peso final de machos (g)	53,87±5,62 (34)	54,49±5,71 (37)	52,53±6,42 (27)

Valores dentro de una fila con letras diferentes son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

El número de observaciones que sirvieron para el cálculo se muestra entre paréntesis.

### **3.4. TENDENCIAS DE LAS COVARIANTES**

La regresión lineal fue usada para examinar las relaciones entre las variables independientes (peso de la hembra y orden del desove) versus las variables dependientes (fecundidad, tasa de eclosión, y supervivencia larval). Se observó una tendencia positiva entre el peso de la hembra y la fecundidad (cantidad de huevos), mostrando su influencia sobre los parámetros de producción (fig 12), determinándose a el peso de la hembra como covariante en un análisis de covariantes en los parámetros de producción por desove de huevos, nauplios y zoea 1 a pesar que su tendencia no fué muy fuerte (ver 3.5.3).

La supervivencia larval (N5-Z1) y la tasa de eclosión (fig 11) mostraron una correlación negativa con el orden del desove, por lo que fue considerado como una covariante en un análisis de covariantes en los parámetros de calidad del desove (ver 3.5.4).





### 3.5. RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE HEMBRAS

#### 3.5.1. Maduración ovárica

El tratamiento P fue significativamente superior ( $p < 0.02$ ) al tratamiento PV con respecto a la frecuencia de maduración (promedio del porcentaje de hembras en estadios III y IV de madurez/tratamiento/día).

Tabla 6. Frecuencia de maduración y desove (promedios±desviación estándar)

	<b>Tratamientos</b>		
	<b>PV</b>	<b>P</b>	<b>V</b>
Maduración/día	0,141±0,066 <sup>a</sup> (54)	0,173±0,079 <sup>b</sup> (54)	0,140±0,080 <sup>ab</sup> (54)
Desove/día	0,064±0,052 <sup>a</sup> (54)	0,048±0,052 <sup>a</sup> (54)	0,025±0,035 <sup>b*</sup> (54)

Valores dentro de una fila con letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )\*. El número de observaciones se muestra entre paréntesis.

#### 3.5.2. Cópula y desove

La frecuencia de desove del tratamiento V, fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) a los tratamientos P y PV (tabla 6).

El total de desoves fértiles por tratamiento fué de 91 en el tratamiento PV, 61 en el tratamiento P y 24 en el tratamiento V; en tanto que la frecuencia diaria promedio de desove por tratamiento fue de 6% en el tratamiento PV, 4% en el tratamiento P y 2% en el tratamiento V.



La eficiencia de maduración fué calculada de la siguiente manera:

$$\text{Eficiencia de maduración} = \frac{\text{hembras desovadas}}{\text{hembras maduras}} * 100$$

La eficiencia de maduración para el tratamiento V fué de 13%, 23% en el tratamiento P, y 39% en el tratamiento PV.

Usando la prueba de  $X^2$  y teniendo como réplicas a las hembras que produjeron o desovaron, se encontró que la probabilidad de que una hembra produzca es afectada por la dieta, de tal manera que en el tratamiento PV las hembras tenían más probabilidad de producir que las hembras del tratamiento V, es decir que al aplicar la dieta PV se incrementó la incidencia de producción por hembra en comparación con la dieta V ( $p < 0.01$ ).

Las hembras que desovaron más de una vez por tratamiento fueron 9 (22,5%) en el tratamiento V, 20 (52,6%) en el tratamiento P y 29 (74,3%) en el tratamiento PV.

### 3.5.3. **Producción**

No se observaron diferencias significativas entre tratamientos (tabla 7) en cuanto a la cantidad de huevos y nauplios producidos por desove. La cantidad de Zoea1 por desove, (calculado así: nauplios por desove x la supervivencia N5-Zoea1; ver 3.2.4) fue superior ( $p < 0,05$ ) en el tratamiento PV que en el tratamiento V.

Tabla 7. Cantidad de huevos, nauplios y zoea1 por desove (valores medios±desviación estándar)

	<b>Tratamientos</b>		
	<b>PV</b>	<b>P</b>	<b>V</b>
Huevos/desove	288.144±98.448 <sup>a</sup> (91)	296.557±100.091 <sup>a</sup> (61)	278.541±68.994 <sup>a</sup> (24)
Nauplios/desove	148.423±108.594 <sup>a</sup> (91)	131.944±108.594 <sup>a</sup> (61)	92.951±77.679 <sup>a</sup> (24)
Zoea1/desove	87.241±84.429 <sup>a</sup> (91)	69.178±75.515 <sup>ab</sup> (61)	40.636±42.236 <sup>b</sup> (24)

Valores dentro de una fila con letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).  
El número de observaciones se muestra entre paréntesis.

La producción total promedio por hembra se presenta en la tabla 8 y las producción total por tratamiento en la figura 13.

Tabla 8. Producción total por hembra durante los 54 días post-ablación (promedios±desviación estándar)

	<b>Tratamientos</b>		
	<b>PV</b>	<b>P</b>	<b>V</b>
Cantidad de huevos/hembra	865.766±577.340 <sup>a</sup> (30)	717.600±467.389 <sup>a</sup> (25)	371.388±142.917 <sup>b</sup> (18)
Cantidad de nauplios/hembra	446.603±361.013 <sup>a</sup> (30)	320.984±295.889 <sup>a</sup> (25)	123.935±92.480 <sup>b</sup> (18)
Cantidad de Zoea 1/hembra	262.698±255.050 <sup>a</sup> (30)	168.065±178.279 <sup>a</sup> <sup>b</sup> (25)	54.182±43.551 <sup>b</sup> (18)

Valores dentro de una fila con letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).  
El número de observaciones se muestra entre paréntesis.

La producción en el Tratamiento V fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) que los demás tratamientos, tanto en la cantidad de huevos como en la cantidad de nauplios.

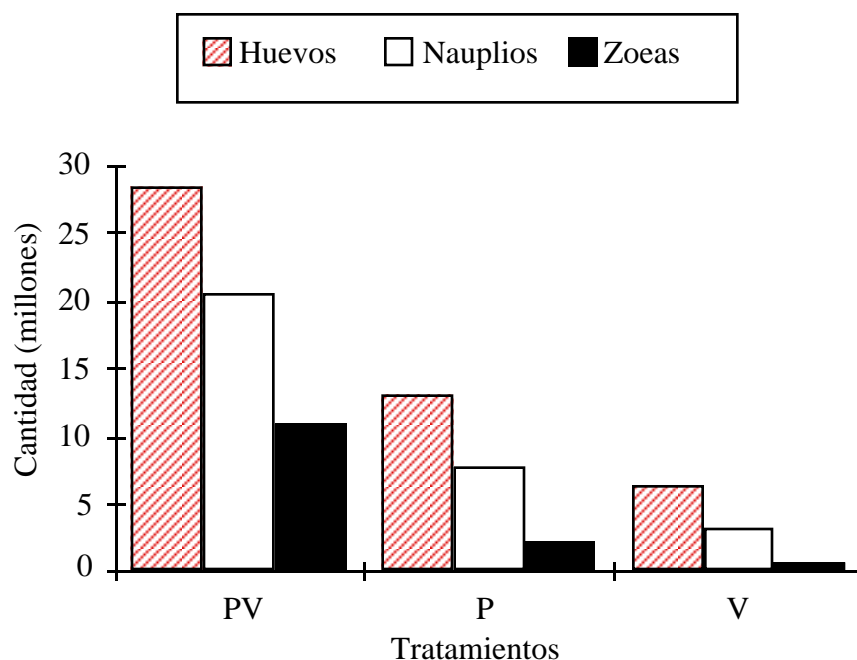


Fig 13. Producción total de huevos, nauplios y zoeas por tratamiento.

#### 3.5.4. Calidad de huevos y larvas

En la tabla 9 se muestran los parámetros de calidad del desove, no encontrándose diferencias ( $p > 0,05$ ) entre tratamientos en cuanto al diámetro de huevos, tasa de eclosión, deformidad de nauplios, porcentaje de Zoea 1\* y longitud de zoea1. En lo que a porcentaje de fertilización de los huevos se refiere se encontró diferencias significativas ( $p = 0.03$ ) entre los tratamientos V y PV, siendo mayor en el tratamiento PV.

Tabla 9. Parámetros de calidad del desove (valores medios±desviación estandar)

	Tratamientos		
	PV	P	V
Diámetro de huevos (µm)	267.20±7.77 <sup>a</sup> (91)	264.37±15.45 <sup>a</sup> (61)	266.13±5.73 <sup>a</sup> (24)
Fertilización de huevos (%)	71±27 <sup>a</sup> (91)	64±24 <sup>ab</sup> (61)	41±16 <sup>b</sup> (24)
Eclosión (%)	50.94±33.65 <sup>a</sup> (91)	44.44±29.39 <sup>a</sup> (61)	32.21±24.61 <sup>a</sup> (24)
Nauplios deformes (%)	13±20 <sup>a</sup> (91)	11±15 <sup>a</sup> (61)	13±16 <sup>a</sup> (24)
Zoea1* (%)	62±24 <sup>a</sup> (91)	54±30 <sup>a</sup> (61)	47±27 <sup>a</sup> (24)
Longitud de Zoea1 (mm)	0.8957±0.1163 <sup>a</sup> (91)	0.8626±0.1935 <sup>a</sup> (61)	0.7999±0.2649 <sup>a</sup> (24)

Valores dentro de una fila con letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

\* Porcentaje de nauplios (N5), que llegan al estadio Zoea1.

El número de observaciones se muestra entre paréntesis.

### 3.6. RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE MACHOS

La tabla 10 muestra los porcentajes de esperma muertas y esperma deformes que no revelan diferencias significativas. A pesar de tener el espermatozoides de igual peso, la cantidad de espermatozoides en los espermatozoides fué mayor ( $p < 0.05$ ) en los machos del tratamiento P que en los machos del tratamiento V.

Tabla 10. Calidad de espermatozoides (valores medios±desviación estandar)

	Tratamientos		
	PV	P	V
Peso de los espermatozoides (g)	0.0956±0.0172 <sup>a</sup> (10)	0.0879±0.0422 <sup>a</sup> (10)	0.0836±0.0175 <sup>a</sup> (10)
Cantidad de esperma (10 <sup>6</sup> )	11.05±4.24 <sup>ab</sup> (10)	28.72±2.40 <sup>a</sup> (10)	12.37±4.50 <sup>b</sup> (10)
Células deformes (%)	14.25±11.42 <sup>a</sup> (10)	9.39±5.13 <sup>a</sup> (10)	7.45±6.61 <sup>a</sup> (10)
Células muertas (%)	7.87±7.28 <sup>a</sup> (10)	18.96±18.09 <sup>a</sup> (10)	3.83±3.96 <sup>a</sup> (10)

Valores dentro de una fila con letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

El número de observaciones se muestra entre paréntesis.

## **DISCUSION TECNICA**

La nutrición de reproductores ha demostrado en varios estudios (Aquacop, 1979; Kanazawa, 1995) ser determinante en la reproducción de camarones, lo que fue confirmado con los diferentes tratamientos en este estudio. Hasta la fecha, los estudios realizados con reproductores han usado diferentes dietas y enfocado diferentes aspectos del rendimiento reproductivo; observando que diferentes dietas aparentemente afectan diferentes aspectos de la reproducción, por lo que ha sido dificultoso hacer comparaciones entre estudios (Marsden *et al* , 1997). Por lo tanto se expondrán y discutirán, las investigaciones que hayan tomado criterios similares a los medidos en la presente investigación.

Alfaro & Lozano (1993), determinaron que la producción de espermatozoides es mejorada con la ablación del pedúnculo ocular en el macho y usando una dieta de maduración fresca congelada; en nuestro experimento no hubo necesidad de ablacionar a los machos, puesto que se obtuvieron conteos normales en la producción de espermatozoides en el tratamiento P suplementado con PUFAs, mientras que los tratamientos restantes (PV y V) aparentemente fueron afectados de una manera negativa por las vitaminas y/o la astaxantina que posiblemente fueron tan altas que pudieron ser tóxicas. Naessens *et al.*, (1997), demostraron claramente que la maduración y fertilización es mejorada con la adición de poliquetos o biomasa de *Artemia* en la dieta, lo cual es confirmado en el presente estudio en donde la calidad de los espermatóforos pareció estar influenciada por la biomasa de *Artemia* enriquecida en las dietas experimentales suplementadas con PUFAs mostrando un efecto positivo en la fertilización de los huevos (71%). Esto nos indica que la dieta influye tanto en la cantidad como en la calidad de los espermatóforos de los machos.



La capacidad de producción de un laboratorio de maduración depende del rendimiento de ambos sexos: potencia del macho para transferir los espermatozoides, así como la tasa de maduración de las hembras, grado de fertilización, cantidad y calidad del desove. La proporción macho:hembra en todos los tratamientos fue de 1.1:1 y se enmarcó dentro del rango óptimo recomendado 1-1.5:1 (Bray & Lawrence, 1992) durante todo el experimento en todos los tratamientos.

La buena calidad de la nutrición ha sido determinada repetidamente como un factor clave para una exitosa maduración de *Penaeidos* en cautiverio (revisiones de Harrison, 1990; Bray & Lawrence, 1992; y Browdy, 1992). Se han recomendado regímenes alimenticios que consisten de una combinación de dietas secas (pellets) con alimento fresco o fresco-congelado. Una dieta compuesta de calamar, ostra, camarón, poliqueto y almeja rinde buenos resultados (crecimiento, tasa de muda, tasa de maduración) en *P. vannamei* y *P. stylirostris*, (Chamberlain & Lawrence, 1981). En un laboratorio en Ecuador se obtienen excelentes resultados alimentando con poliqueto, calamar y biomasa de *Artemia* (com. pers. J. Macías). En nuestro experimento se suministró una dieta similar al régimen alimenticio utilizado por los investigadores anteriormente nombrados, por lo que confirmamos que los resultados de producción obtenidos en el presente estudio se enmarcan dentro de los límites aceptables tanto en el área de investigación como en el área de producción.

Previo a la presente investigación en el CENAIM, se realizaron dos experimentos (Naessens *et al*, 1997 y Wouters *et al*, 1997) que se desarrollaron bajo las mismas condiciones experimentales y midieron parámetros de rendimiento reproductivo similares a los del presente experimento; por lo tanto es de interés discutir objetivamente las diferencias o similitudes encontradas entre los experimentos (anexo 2).

Naessens *et al* (1997), observó que siempre que una dieta de maduración esté conformada de alimentos naturales, con biomasa de *Artemia* adulta congelada se podrá incrementar el rendimiento reproductivo. Wouters *et al* (1997) hallaron un incremento en la frecuencia de maduración y una alta reproducción en camarones alimentados con dieta natural fresca-congelada (calamar, ostra, mejillón y almeja) suplementado con *Artemia* o *Artemia* enriquecida. En el presente experimento se observó una superioridad de éstos mismos parámetros además de una mayor producción total en el tratamiento con dieta natural fresca-congelada (calamar, almeja, mejillón y ostra) suplementado con *Artemia* enriquecida (PV) .

La composición de la dieta afecta la tasa de eclosión (Bray & Lawrence, 1990). Wouters *et al* (1997) establecieron que un suplemento de biomasa de *Artemia* enriquecida o no enriquecida incrementa la tasa de eclosión. En este experimento no se halló diferencias en la tasa de eclosión entre tratamientos, los mismos que fueron ligeramente inferiores a las tasas de eclosión mencionada por Wouters *et al*, (1997). Por otro lado la tasa de maduración y desove fueron más altas en este experimento que en el de Wouters *et al*, (1997); las diferencias observadas posiblemente fueron causadas por el hecho de que en el presente experimento se mezclaron machos y hembras, lo cual no fue realizado en el estudio de Wouters *et al* (1997). Además existen diferencias entre reproductores que pueden afectar ciertos aspectos de la reproducción por provenir de diferentes lugares y ser capturados en diferentes épocas del año, lo cual ha sido observado por Marsden *et al.*, (1997), que hallaron un impacto en varios aspectos de la reproducción de camarones *P. monodon*, entre lo que destaca la variación que existe entre individuos y entre grupos (camarones capturados en diferentes épocas del año).

Muchos estudios se han enfocado en la fracción lipídica como una fuente de energía y proveedora de nutrientes necesarios para la continua maduración (acumulación de lípidos en el ovario previo a la maduración) y síntesis de tejidos reproductivos (Kanazawa



&Teshima, 1979; Middletich *et al*, 1980); Lytle *et al*, (1990) demostraron que un balance entre EPA y DHA, puede ser un importante factor a considerar en la dieta de reproductores, por otro lado se ha observado que los HUFAs pueden jugar un papel específico en la reproducción de crustáceos por lo cual es necesario incluirlos en la dieta (Xu *et al*, 1994). La capacidad de la glándula digestiva de actuar como un almacenador de lípidos es considerada limitada, lo que sugiere una fuerte dependencia de lípidos en la dieta, este experimento confirma lo anterior puesto que los tratamientos suplementados con PUFAs muestran un aumento en la frecuencia de desove conduciendo por ende a una mayor cantidad de hembras desovadas y nauplios producidos por hembra, además que se aumentó la incidencia de la producción en PV confirmado mediante la prueba  $X^2$ .

El ácido ascórbico y la vitamina E son importantes antioxidantes de lípidos en la dieta. Se observó que existe un alto requerimiento de vitamina E en *P. indicus* cuando la hembra tiene múltiples desoves (Cahu & Fakhfakh, 1990), lo que no concuerda con nuestro estudio en el cual estas altas concentraciones no estimularon la frecuencia de desove que fue significativamente más baja en el tratamiento V.

Mangor-Jensen *et al*. (1993) observaron en el bacalao (*Gadus morhua* L.) que altas dosis de vitamina C no afectaron significativamente la producción y fertilización de huevos, aunque en nuestro experimento no se observaron diferencias significativas entre tratamientos en la producción de huevos por desove, pero se observó un descenso significativo en el tratamiento con altas dosis de vitaminas en la fecundidad y en la fertilización.

Cahu *et al*. (1995) demostraron que existe un efecto positivo en la tasa de eclosión con altas dosis de vitamina C. En contraste, en el presente estudio altas dosis de vitaminas sin la presencia de altos niveles de PUFAs (V) mostró una baja tasa de eclosión, aunque no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. La deficiencia de vitamina E,

conduce a un descenso en la cantidad de esperma en *P. vannamei* (Chamberlain, 1988 en: Bray & Lawrence, 1992), lo que indica que las vitaminas juegan un rol en la espermatogénesis. En el presente estudio la producción de espermatozoides fue mayor en el tratamiento con altos niveles de PUFAs (P) que en el tratamiento con altos niveles de vitaminas (V).

En la mayoría de los parámetros comparados, las altas concentraciones de vitaminas sin presencia de altas concentraciones de PUFAs (tratamiento V) no realizan ningún tipo de mejora en los resultados; mejores resultados fueron obtenidos con PUFAs solamente (tratamiento P). Por otro lado en varios de los parámetros determinados se observó un aumento significativo cuando las vitaminas son combinadas con la fracción de PUFAs (tratamiento PV). Pensamos que los resultados superiores obtenidos con la combinación PUFAs-vitaminas fueron debidos a un mejor conservación de los PUFAs (protegidos por las vitaminas), más no al efecto directo de las vitaminas sobre los reproductores. En efecto, Cahu *et al*, 1995 halló que altos niveles de PUFAs en los huevos de *P. indicus* indujeron al descenso de los niveles del antioxidante vitamina E. Un efecto similar de la relación PUFAs- vitaminas pudo haber ocurrido en las dietas.

Por lo anteriormente expuesto, se demuestra que existe una interdependencia de las fracciones PUFAs y vitaminas-astaxantina que se refleja en un incremento de la producción en el mejor tratamiento que fué PV ( 28.4 millones de huevos, 20.6 millones de nauplios y 10.8 millones de zoea 1) comparada con P (13.0 millones de huevos, 7.8 millones de nauplios y 2.8 millones de zoea 1) y con la fracción que contiene sólo vitaminas y astaxantina (6.3 millones de huevos, 3.1 millones de nauplios y 600 mil zoea 1). Sin embargo, la interacción de estas dos fracciones en el enriquecedor no influyó significativamente en la calidad del desove.

El deterioro de la calidad del desove (agotamiento de la hembra cuando permanece mucho

tiempo en cautiverio), ha sido observado en estudios previos con hembras ablacionadas, en los cuales se atribuye que el deterioro pudo quizás ser debido en parte al proceso de ablación (Aquacop, 1979; Primavera, 1982; Bray & Lawrence, 1990; Harrison 1990). Marsden *et.al*, (1997) observó en *P. monodon* que una óptima dieta para reproductores puede anular el deterioro de la calidad de los desoves. Al igual que en el presente trabajo, la dieta PV (cuando se la comparó con las dietas enriquecidas con las fracciones por separado) no sólo incrementó el número de desoves, si no que: a) previno el decremento de la fecundidad (de los desoves sucesivos, mostrando una tendencia a mantener el tamaño del desove hasta el quinto desove en la dieta PV), b) en tanto que en el tratamiento V el porcentaje de eclosión y supervivencia larval se reducen totalmente a cero en el cuarto y tercer desove respectivamente. Mientras que en PV y P la declinación de la "calidad" no es tan acelerada como en V.

## CONCLUSIONES

- Se comprobó que la manipulación de la composición nutricional de la *Artemia* adulta enriquecida influye en el rendimiento reproductivo de *Penaeus vannamei*.
- La adición de altos niveles de vitaminas en la dieta afecta de manera negativa la producción de esperma en los machos y posiblemente sea el causante de la disminución en la frecuencia de maduración en las hembras.
- Los PUFAs incrementan la frecuencia de desove y la probabilidad de producir de una hembra.
- Una dieta suplementada con PUFAs incrementa la tasa de fertilización, y al parecer una alta cantidad de PUFAs es conveniente para una buena producción de espermatozoides en los machos.
- No se encontró ningún efecto o diferencia en cuanto a calidad del desove entre tratamientos, pero si se halló un indicio en el cual la adición de PUFAs tiende a disminuir el deterioro de la calidad del desove y la fecundidad a través del tiempo.
- En general, en los parámetros medidos se observó una interdependencia de las fracciones PUFAs y vitaminas-astaxantina, incrementando la producción por desove
- La *Artemia* a más de tener un excelente valor nutricional y servir como vector de nutrientes importantes, sirvió como un indicador de diferencias entre dietas, puesto que enriquecida con diferentes productos se obtuvieron diferentes resultados. Por lo tanto puede ser considerada como una herramienta útil para la investigación.

## **RECOMENDACIONES**

- Es necesario hacer estudios cuantitativos sobre los requerimientos de PUFAs, vitaminas y astaxantina y las posibles interacciones entre ellos.
- La *Artemia* adulta a más de servir como vector de nutrientes importantes y ser usado como vía de administración de nutrientes que estimulen la maduración y la calidad del desove; posiblemente puede ser usado como contenedor de otros productos como antibióticos y hormonas.
- El uso de *Artemia* adulta enriquecida completamente (PUFAs, colesterol, vitaminas y astaxantina) suministrada a camarones de maduración a un 5% de la biomasa (peso húmedo), conlleva a buenas producciones, a más de resultar económica en comparación con el uso de poliqueto (es importado), por lo tanto puede ser recomendado para el uso en el sector privado.
- Comprobada la eficiencia de la *Artemia* adulta enriquecida completamente (PV) y congelada, sería conveniente utilizarla como ingrediente principal en una dieta peletizada para camarones de maduración. El producto sería un producto con el mismo valor nutricional, pero más práctico en su uso y comercialización.

# **ANEXOS**

**ANEXO # 1****Experimentos que midieron parámetros similares.**

	<b>Poliq/ A. E</b>	<b>Art./ A. E</b>	<b>Actual Exp.</b>
	<b>Naessens, 1997</b>	<b>Wouters, 1997</b>	<b>Exp. 2</b>
<b>Supervivencia de hembras (%)</b>	89.7	45.5	64.0
<b>Supervivencia de machos (%)</b>	100	82.5	83.0
<b>Frecuencia de maduración</b>		0.082	0.141
<b>Exito de madurez (%)</b>	21.3	58.8	45
<b>Cantidad de desoves</b>	40	68	91
<b>Tasa de eclosión (%)</b>	46.3	61.6	50.94
<b>Nauplios/desove (miles)</b>	120	129	148
<b>Deformidad N5 (%)</b>		5.62	13
<b>Supervivencia N5-Zoea 1 (%)</b>		69.4	62
<b>Longitud Zoea (mm)</b>		0.8844	0.8957

**ANEXO # 2**



## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**ADIYODI, R.** 1985. Reproduction and its control. En: Bliss, D. and Mantel, H. (eds), *The Biology of Crustacea*, Vol 9, Academic Press, New York, 147-215

**AIKEN, D.** 1990. Shrimp farming in Ecuador, an aquaculture success story. *World Aquaculture Society*, Vol 21,1, 7-16.

**ALFARO, J., & LOZANO, X.** 1993. Development and deterioration of spermatophores in pond-reared *Penaeus vannamei*. *World Aquaculture Society*, Vol 24, 522-529.

**ARANGO, J.** 1995. Principios básicos del uso de astaxantina en la nutrición de camarones, *Acuicultura del Ecuador*, 32-34.

**ARELLANO, A., AKAMINE, Y., GOMEZ, L.** 1984. Maduración y desove en cautiverio del camarón *Penaeus vannamei*. En: Calderón, J. y Sonnenholzner, S., 1992. *En Memoria de Edgar Arellano M.: Once años dedicados a la investigación y el desarrollo de la acuicultura en el Ecuador*. CENAIM, San Pedro de Manglaralto, Ecuador, 179-194.

**AQUACOP.** 1979. Penaeid broodstock: closing cycle of the *P. monodon*, *P. stylirostris* and *P. vannamei*. *Proceedings World mariculture Society* 10: 445-452

**BRAY, W. & LAWRENCE, A.** 1990. Reproduction of eyestalk-ablated *Penaeus stylirostris* fed various levels total dietary lipids. *World Aquaculture Society*, Vol. 21, 1, 41-52.

**BRAY, W. & LAWRENCE, A.** 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. In: Fast, A. and Lesters, J. (eds), *Marine Shrimp Culture: Principles and practices*. Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam, 93-170.

**BROWDY, C.** 1989. An evaluation of frozen *Artemia* as a dietary supplement for the stimulation of reproduction in Penaeid shrimp. *Journal of European Aquaculture Society*, 1-4.

**BROWDY, C.** 1992. A review of the reproductive biology of *Penaeus* species: perspectives on controlled shrimp maturation system for high quality nauplii production, *Journal World Aquaculture Society*, 23-50

**BUENO, S. & LUIZ DE SIQUEIRA.** 1989. Técnicas, procedimientos e manejos para a produção de pós-larvas de camarões peneídos. PSRM, Maricultura da Bahia, Brasília, 21-54.

**CAHU, C., CUZON, G., QUAZUGUEL, P.** 1995. Effect of highly unsaturated fatty acids,  $\alpha$  - tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus*. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 112A, Nos 3/4, pp417-424.

**CAHU, C. & FAKHFAKH, M.** 1990. Effect of dietary Vitamin E on reproduction of penaeid shrimp. I-Zoototechnical results. (Abstract). *World Aquaculture Society, 21st Annual Conf.* 7p.

**CASTILLE, L. & LAWRENCE, L.** 1991. Reproductive studies concerning natural shrimp populations: A description of changes in the size and biochemical composition of the gonads and digestive glands in penaeid shrimp. In: *Developments in aquaculture and fisheries science*, Vol 22, 17-31.

**CHAMBERLAIN, G. & LAWRENCE, A.** 1981. Maturation, reproduction, and growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* fed natural diets. *World mariculture Society* Vol 12, 209-224.

**CHEN, H.** 1993. Requirements of marine shrimp, *Penaeus monodon*, juveniles for phosphatidylcholine and cholesterol, In: *Aquaculture*, Vol 109, 165-176.

**CLARK, Jr., LYNN, W., YUDIN, J., PERSIN, H.** 1980. Morphology of the

cortical reaction in the eggs of *Penaeus aztecus* . Biol. Bull. Vol 159,175-186.

**CNA.** 1996. Evolución de las exportaciones del camarón ecuatoriano en 1996, Acuicultura del Ecuador, Vol 17, 10-11.

**CORDOVEZ, J. X.** 1996. Tribunal del camarón en la ONU, en: Santos, T. (ed), Acuicultura del Ecuador, Vol 15, 3-7.

**CPC.** 1993. Libro Blanco del Camarón, 2nd edn. CODEMET, Guayaquil, 69.

**DALL, W.,** 1995. Carotenoids versus retinoids (Vitamin A) as essential growth factors in penaeid prawns (*Penaeus semisulcatus*). Marine Biology , Vol 124, 209-213.

**DAVY, B.** 1991. Mariculture in Japan; Biotechnology and the future, In: World aquaculture, Vol 22, 19-22.

**GARCIA, F., CALDERON, J., PALACIOS, M., SAGI, A.** 1993. Identificación de los estadios de maduración ovárica en *Penaeus vannamei*, en: Acuicultura Tropical, Vol 1, 23-26.

**GARRIQUEZ, D.** 1996. Técnicas de maduración, en: Acuicultura del Ecuador, Vol 13, 22-28.

**GOMEZ, L., Y ARELLANO, E.** 1990. Guías práctica preliminares para la maduración y desove en cautiverio del camarón Penaeido en el Ecuador. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador, p 45.

**GOMEZ, L., ARELLANO, A., YAGUACHI, M.** 1993. Pruebas preliminares para maduración de *Penaeus vannamei* en laboratorio, en: Calderón, J. y Sonnenholzner, S.,1992. En Memoria de Edgar Arellano M.: Once años dedicados a la investigación y el desarrollo de al acuicultura en el Ecuador. CENAIM, San Pedro de Manglaralto, Ecuador, 33-38.

**GUARTATANGA, R.** 1993. Comparacion de los niveles de acidos grasos esenciales

en las larvas silvestres *P. vannamei* en las zonas de Santa Elena (San Pablo) y Esmeraldas (Tonchigue). Tesis de Acuicultor, Escuela Superior Politecnica del Litoral, 64p.

**HARRISON, K.**, 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans. A review. *J. Shellfish Res.*, 9 (1): 1-28

**HE, H., LAWRENCE, A. AND LIU, R.** 1992. Evaluation of dietary essentiality of fat-soluble vitamins, A,D,E and K for shrimp (*Penaeus vannamei* ), In: *Aquaculture*, Vol 103, 177-185.

**HE, H. AND LAWRENCE, A.** 1993. Vitamin E requirement of *Penaeus vannamei*, Shrimp Mariculture Project, Texas A & M University System, Port Aransas, TX, USA, In: *Aquaculture*, Vol 118, 245-255.

**HOLTHUIS, L.B.**, 1980. *FAO Species Catalogue: Vol. 1, Shrimp and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries.* Rome, FAO. *Fao Fisheries Synopsis*, No 125, 269 p.

**KANAZAWA, A. AND TESHIMA, S.** 1979. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids, In: *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 63B, 295-298.

**KANAZAWA, A.** 1995. Recent developments in shrimp nutrition and feed industry, Presented in the Technical session of INDAQUA 95, Madras; January 27-30, 1995, 17p.

**KAWAHIGASHI, D.**, 1992. A survey of commercial maturation technology in the western hemisphere, *Journal of World Aquaculture Society*, 52-54.

**KURMALY, K.** 1995. Astaxanthin and its role in animal performance. *Roche Aquaculture News*, Vol. 4, 1, 1-4.

**LAVENS P., LEGNER, P., & SORGELOOS.** 1986. Production, utilization and

manipulation of *Artemia* as a food source for shrimp and fish larvae. J. World Maricult. Soc., 12 (4): 229-248.

**LEE, D., & WICKINS, J.** 1992. Crustacean farming. Oxford, Great Britain, 392p.

**LYTLE, J., LYTLE, T., & OGLE, J.** 1990. Polyunsaturate fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of *Penaeus vannamei*, Aquaculture, Vol 89, 287-299.

**MANGOR-JENSEN, A., LIE, O., HOLM, J., ROSENLUND, G., SANDNES, K.** 1993. Effects of dietary vitamin C on maturation and egg quality of cod (*Gadus morhua* L), Institute of Marine Research, Austevoll Aquaculture Research Station, 28p.

**MARSDEN, G., MCGUREN, J., HANSFORD, S., BURKE, M.** 1997. A moist artificial diet for prawn broodstock: its effect on the variable reproductive performance of wild caught *Penaeus monodon*, Aquaculture, Vol 149, 145-156.

**MEAD, R., CURNOW, R., HASTED, A.,** 1993. Statistical methods in agriculture and experimental biology, Second edition, Chapman & Hall, London, 415p.

**McEVOY, L.A., NAVARRO, J.C., HONTORIA, F., AMAT, F., SARGENT, J.R.,** 1996. Two novel *Artemia* enrichment diets containing polar lipid, Aquaculture, Vol 144, 339-352.

**MENASVETA, P.** 1993. Biological benefits of carotenoids: Astaxanthin. Chulalongkorn University, Arri, Thailand, 1-11.

**MERCHIE, G., LAVENS, P., DHERT, P., KONTARA, E., RAMOS, X., LEON, A., VAN HAUWAERT, A., PEDRAZZOLI, A., NAESSENS-FOUCQUAERT, E., NELIS, H., DE LEENHEER, A., AND SORGELOOS, P.** 1996. Supplementation of ascorbic acid 2-phosphate during the early postlarval stages of penaeid shrimp (*Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon*), Journal, Reviews in Fisheries Science, (submitted).

**MERUANE, J. & RIVERA, M.**, 1992. Maturation, fertilization and larval culture of *Penaeus vannamei* in Chile, Journal of World Aquaculture Society, Vol 23, 58-60.

**MIDDLEDITCH, B., MISSLER, S., HINES, H., McVEY, J., BROWN, A., WARD, D., AND LAWRENCE, A.**, 1980. Metabolic profiles of penaeid shrimp: dietary lipids and ovarian maturation. Journal of Chromatography, Vol. 195, 359-368.

**MIKI, W.** 1991. Biological functions and activities of animal carotenoids. Pure & Applied Chem., Vol. 63, 1, 141-146.

**MIKI, K. & SANO M.** 1992. Aquaculture in Japan, In: I Chiu Liao, Chung-Zen Shyu, and Nai-Hsien Chao (Editors), Aquaculture in Asia, Proceedings of the 1990 Symposium in aquaculture.

**MISSAMORE, & BROWDY, C.** 1996. Mating behavior in the white shrimp *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei* a generalized model for mating in *Penaeus*, Journal of crustacean biology, Vol. 16, 61-70.

**MONTAÑO, M. & NAVARRO, J.** 1996. Fatty acids of wild and cultured *Penaeus vannamei* larvae from Ecuador, Aquaculture, Vol 142, 259-268.

**NAESSENS, E., LAVENS, P., GOMEZ, L., BROWDY, C., McGOVERN-HOPKINS, K., SPENCER, A., KAWAHIGASHI, D., AND SORGELOOS, P.** 1997. Maturation performance of *Penaeus vannamei* co-fed *Artemia* biomass preparations or a formulated pellet diet. Aquaculture, ( in press).

**OGLE, J.** 1992. A review of the current (1992) state of our knowledge concerning reproduction in open thelycum Penaeid shrimp with emphasis on *Penaeus vannamei*, Invertebrate Reproduction and Development, Vol 22:1-3, 267-274.

**PRIMAVERA, J.** 1982. Studies on broodstock of sugpo *Penaeus monodon* Fabricius and other penaeids at the SEAFDEC Aquaculture Department. Proc. Symp. Coastal Aquacult., Cochin, India, 1: 28-36.

**SAGI, A., RISE, M., ISAM, K., & ARAD, M.** 1995. Carotenoids and their derivatives in organs of the maturing female crayfish *Cherax quadricarinatus*. Comp. biochem. physiol. Vol 112B, No 2, pp 309-313.

**SCHWARZ, LORENA.** 1995. Phospholipid requirements for Sea Bass *Dicentraachus labrax* (L.) and Turbot *Scophthalmus maximus* (L) during weaning and first ongrowing. Master of Science in aquaculture thesis, University of Ghent, 79p.

**SHIGUENO, K. & ITOH, S.** 1988. Use of MG-L-Ascorbil-2-Phosphate as a vitamin C source in shrimp diets, Journal of World Aquaculture Society, Vol 19, 4, 168-173.

**SORGELOOS, P., BENGTON, D., DECLEIR, W., JASPERS, E.** 1987. *Artemia* , research and its applications. State University of Ghent, Vol 3, 357-515.

**SUPARDAN A.** 1992. Aquaculture development in Indonesia, In: I Chiu Liao, Chung-Zen Shyu, and Nai-Hsien Chao (Editors), Aquaculture in Asia, Proceedings of the 1990 Symposium in aquaculture, 59-67.

**TACON, A.** 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados, manual de capacitación, Brasilia, 65-67.

**TACON, G.J.,** 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp-a training manual 1. the essencial nutrients. FAO, field doc. 2:21-28.

**TESHIMA, S.** 1982. Variation in lipid composition during ovarian maturation of the prawn. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 49 (6): 957-962

**TREECE, G., & YATES, M.,** 1988. Laboratory Manual for the culture of Penaeid shrimp larvae, Marine advisory service Sea Grant College Program Texas A&m university, 3-68.

**VAN HERP, F.** 1992. Inhibiting and stimulating neuropeptides controlling reproduction in Crustacea, Invertebrate Reproduction and Development, Vol 22: 1-3, 21-

30.

**VERSTRAETE, P., DE LA MORA, E., LAVENS, P.,** 1995. Maturation of *Penaeus vannamei* by using dry pellets as a partial substitute of the natural diet. In: Larvi 1995, Ghent, Belgica, 76p.

**WEIDNER, M.** 1985a. A view of the latin american shrimp culture industry. In: Aquaculture Magazine, 16-24.

**WEIDNER, M.** 1985b. A view of the latin american shrimp culture industry. In: Aquaculture Magazine, 19-33.

**WOUTERS, R., GOMEZ, L., LAVENS, P., CALDERON, J.,** 1997. Improved reproductive performance of *Penaeus vannamei* by co-feeding with frozen (enriched) adul *Artemia*, In: Island aquaculture and tropical acuaculture, Martinique, 325p.

**WYBAN, J. & SWEENEY, J.** 1991. The Oceanic Institute Shrimp Manual - Intensive Shimp Production Technology. The Oceanic Institute, Honolulu, Hawaii, 158 p.

**XU,X., JI,W., CASTELL, J.AND O'DOR, R.** 1993. The nutritional value of dietary n-3 and n-6 fatty acids for the Chinese prawn (*Penaeus chinensis*). In: Aquaculture, Vol 118, 277-285.

**YAGUACHI, M., ARELLANO, E., GOMEZ, L.** 1993. Elaboración y análisis de dietas de maduración de camarones *Penaeidos*, en: Calderón, J. y Sonnenholzner, S.,1992. En Memoria de Edgar Arellano M.: Once años dedicados a la investigación y el desarrollo de al acuicultura en el Ecuador. CENAIM, San Pedro de Manglaralto, Ecuador, 25-32.

**YANO, I., TSUKIMURA, J., SWEENEY, J. Y WYBAN, J.** 1988a. Induced ovarian maturation of *P. vannamei* by implantation of lobster ganglion.. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 19, 204-209.



**YANO, I., KANNA, R., OYAMA, N., Y WYBAN, J.** 1988b. Mating behavior in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei* . In: Marine Biology, Vol 97, 171-175.