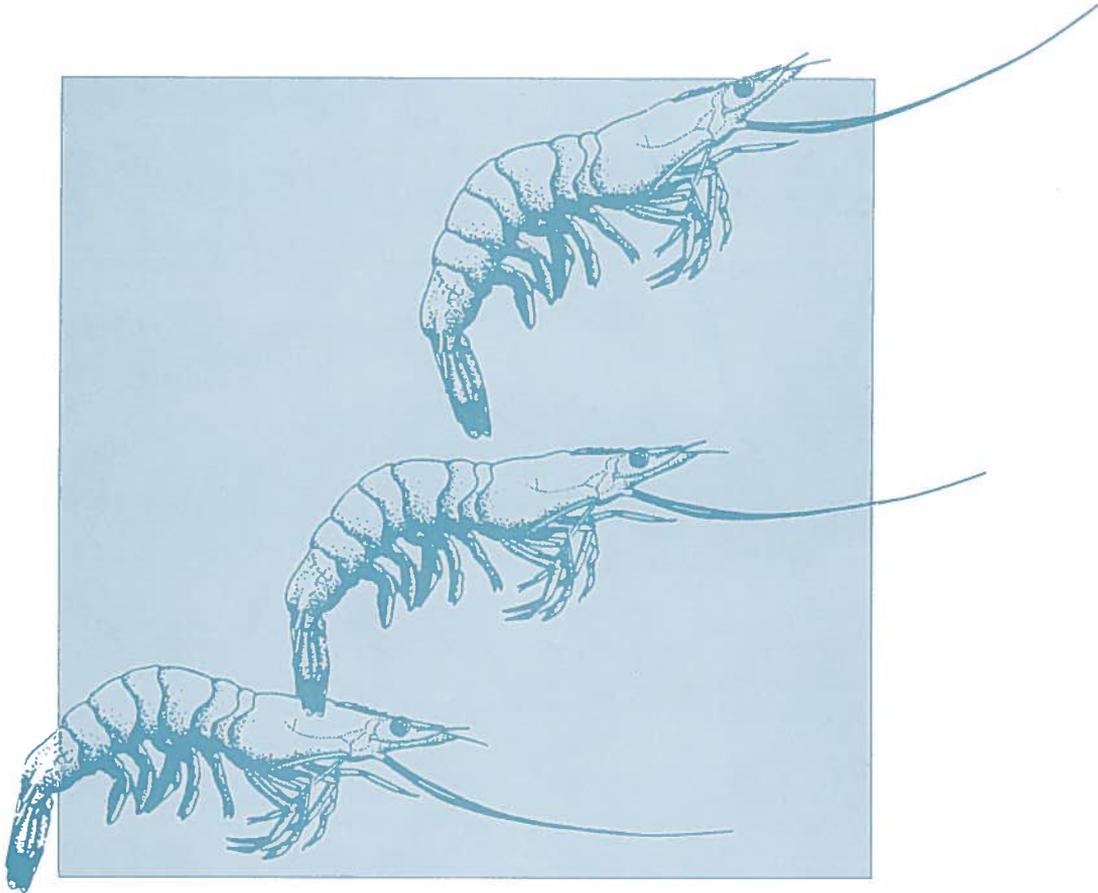


MANUAL DE LABORATORIO PARA EL CULTIVO DE

LARVAS DE CAMARON PENEIDO



POR GRANVIL D. TREECE Y MICHAEL E. YATES

MARINE ADVISORY SERVICE
SEA GRANT COLLEGE PROGRAM
TEXAS A&M UNIVERSITY

EN COOPERACIÓN CON



Centro de Investigación Científica
y de Educación Superior de Ensenada, B.C.



**MANUAL DE LABORATORIO PARA EL
CULTIVO DE LARVAS DE CAMARON PENEIDO**

Por

Granvil D. Treece

y

Michael E. Yates

**Marine Advisory Service
Sea Grant College Program
Texas A&M University
College Station, TX 77843-4115**

**TAMU-SG-93-504
Julio 1993**

Copyright © 1993
Texas A&M University
Sea Grant College Program

Todos los Derechos Reservados
Impreso en los Estados Unidos de America

PRECIO: \$30.00 U.S.

SOLICITE A:
Texas A&M University
Sea Grant College Program
Marine Advisory Service
1716 Briarcrest, Suite 702
Bryan, Texas, USA 77802
Tel: 409-845-7527
Fax: 409-845-7525

A/F-4
TAMU-SG-93-504
500 JULIO 1993

TABLA DE CONTENIDOS

Capítulo	Página
I. INTRODUCCION.....	1
II. INTRODUCCION AL LABORATORIO.....	3
III. CULTIVO DE LARVAS.....	10
IV. FISILOGIA.....	24
V. EXTIRPACION DEL PENDUNCULO OCULAR.....	34
VI. ALGAS.....	36
VII. ARTEMIA.....	52
VIII. ENFERMEDADES LARVALES.....	65
IX. GLOSARIO DE TERMINOS SELECTOS.....	81
X. AGRADECIMIENTOS.....	83
XI. REFERENCIAS SELECCIONADAS.....	83

EJERCICIOS

I. INSPECCION DIARIA DEL TCL.....	19
II. IDENTIFICACION-TRANSFERENCIA Y CULTIVO DE ALGAS.....	45
III. CONTEO, MANTENIMIENTO Y ALIMENTACION DE ALGAS.....	48
IV. PREPARACION Y USO DE LA ARTEMIA.....	57
V. REMOCION DEL SACO EMBRIONICO (DESCAPSULACION) DE LA ARTEMIA.....	63

HOJAS TECNICAS

I. EL USO DEL HEMATOCITOMETRO.....	70
II. ESTERILIZACION.....	73
III. OPERACION DE LA AUTOCLAVE.....	79

FIGURAS

	Página
1. ASPECTOS PRINCIPALES DEL MARICULTIVO DEL CAMARON	2
2. CICLO DE VIDA DEL CAMARON PENEIDO	2
3. TANQUE DE CRIANZA DE LARVAS	4
4. REGISTRO DE DATOS SOBRE EL TANQUE DE CRIANZA DE LARVAS.....	7
5. REGISTRO DE DATOS DE MADURACION/INCUBATION DEL HUEVO NAUPLIO.....	8
6. ESTADO DE SALUD LARVAL	9
7. ETAPAS LARVALES DEL CAMARON	14
8. SUBETAPAS NAUPLIARES DEL <i>PENAEUS DUORARUM</i>	15
9. SUBETAPAS ZOEAL DEL <i>PENAEUS DUORARUM</i>	16
10. SUBETAPAS MYTIS Y POSTLARVAL del <i>PENAEUS DUORARUM</i>	18
11. VISTA LATERAL DE LA HEMBRA <i>PENAEUS SETIFERUS</i>	25
12. VISTA DORSAL DE EL CAMARON ADULTO.....	26
13. VISTA VENTRAL DE UN CAMARON MACHO JOVEN.....	27
14. DETALLES DE LOS SISTEMAS REPRODUCTORES DEL MACHO Y LA HEMBRA.....	28
15. DETALLES DE LOS SISTEMAS REPRODUCTORES DEL MACHO Y LA HEMBRA.....	29
16. DETALLES DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE EL CAMARON MACHO.....	30
17. DESARROLLO DEL HUEVO.....	31
18. IDENTIFICACION "RAPIDA" DE ESPECIES SELECCIONADAS.....	32
19. ALGUNAS ALGAS DE USO COMUN EN LOS CULTIVOS.....	39
20. CRECIMIENTO TIPICO DE EL CULTIVO FITOPLANCTON.....	40

FIGURAS, cont.

	Página
21. CICLO TIPICO USADO EN CULTIVO DE ALGAS	41
22. GARRAFON DE VIDRIO	42
23. ESTANTE TIPICO DE CULTIVO DE ALGAS.....	43
24. TIPICO ARREGLO DE UN CUARTO PARA EL CULTIVO DE ALGAS.....	50
25. ETAPAS DEL DESARROLLO DE ARTEMIA.....	55
26. CONOS DE INCUBACION DE ARTEMIA.....	56
27. CONTANDO LA ARTEMIA CONCENTRADA.....	62
28. PIPETA HENSEN-STEMPLE	62
29. HEMATOCITOMETRO.....	72

TABLAS

I. DATOS SOBRE LAS LARVAS DEL CAMARON.....	11
II. REGIMEN ALIMENTICIO DE LA CRIANZA DE LARVAS.....	23
III. ENFERMEDADES ENCONTRADAS EN LAS ETAPAS DEL DESARROLLO DE LA LARVA PENEIDA Y SUS METODOS DE CONTROL	67
IV. SUGERENCIAS PARA LAS SEQUENCIAS DE EL CULTIVO DE LARVAS, REGIMEN ALIMENTICIO POSTLARVAL Y PLAN PREVENTIVO DE ENFERMEDADES PARA UN CRIADERO COMERCIAL DE P. MONODON, JEPARA, INDONESIA.....	69

I. INTRODUCCION

Este manual no pretende ser un texto de cultivo de camarón, ni tampoco de cultivo de larvas. Está diseñado como una ayuda para un curso corto general introductorio de laboratorio acerca del cultivo de camarón. Con este fin, varias fuentes fueron utilizadas, en algunos casos, en su totalidad. Deseamos extender nuestro agradecimiento a todos aquéllos que nos ayudaron. Al final de este manual se incluye una bibliografía y se otorgan agradecimientos.

En la acuicultura comercial mundial del camarón, los peneidos son cultivados primordialmente. Estas especies incluyen *monodon*, *japonicus*, *vannamei*, *stylirostris* y otros. Debido a que el *P. vannamei*, es por el momento, la especie más cultivada en el hemisferio occidental y es la que está más accesible a nosotros, hemos decidido concentrarnos en su cultivo en este manual de laboratorio. Sin embargo, en su gran mayoría, las técnicas generales presentadas aquí pueden ser usadas en el cultivo de cualquiera de las especies arriba mencionadas. Se mencionarán las diferencias entre especies cuando sea necesario.

Para aprender las condiciones requeridas para la sobrevivencia del camarón, zoólogos han estudiado las condiciones de los ambientes naturales durante las variadas etapas de metamorfosis y maduración. Por lo tanto, han aprendido a cultivar el camarón a través de todas las etapas de su desarrollo, incluyendo: maduración, desove, incubación, crianza larval y crecimiento. (ver Figuras 1 y 2, Página 2). Son éstas naturales e ideales condiciones ambientales las que quisiéramos emular en el laboratorio e instalaciones comerciales.

FIGURA 1
ASPECTOS PRINCIPALES DEL MARICULTIVO DEL CAMARON

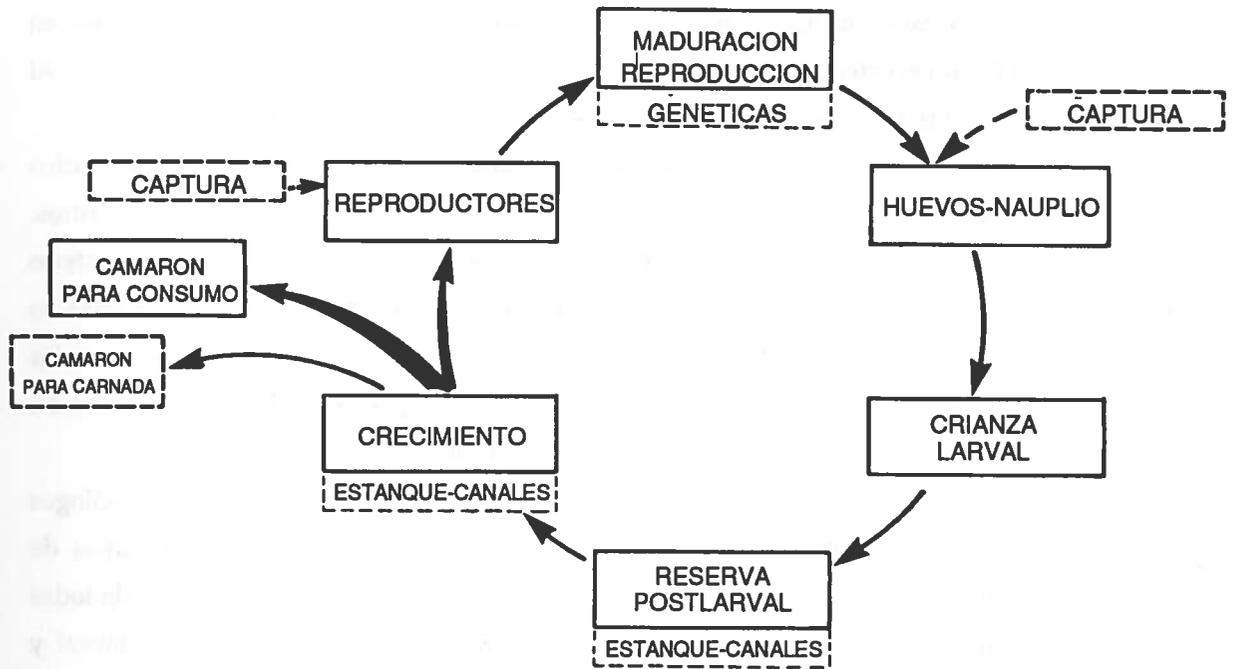
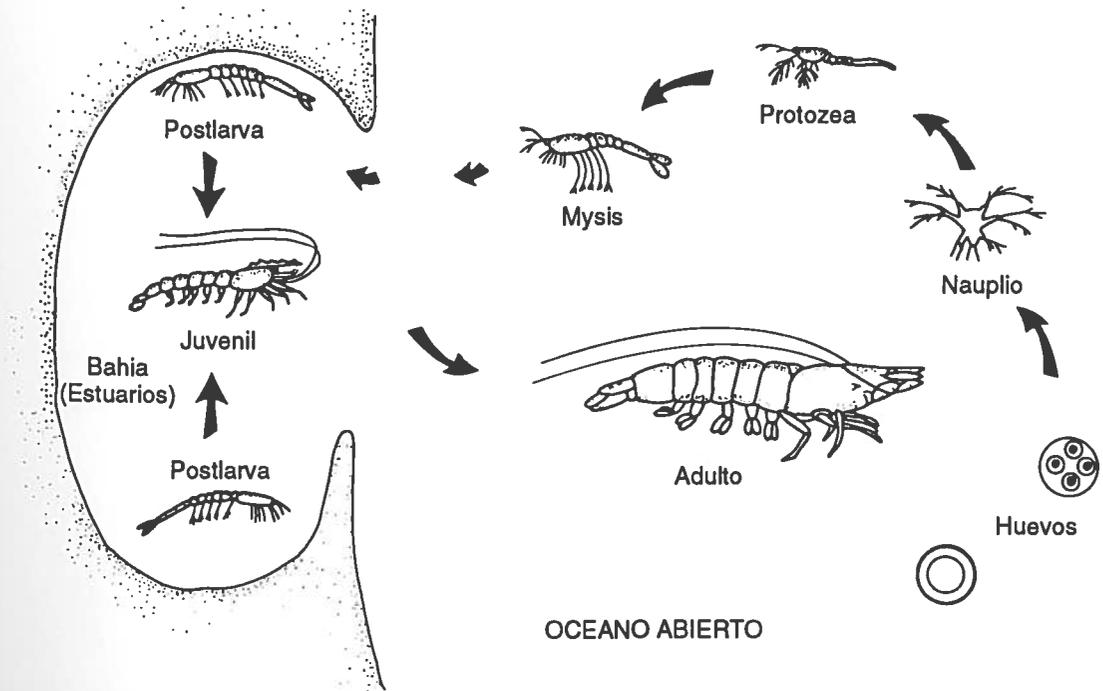


FIGURA 2
CICLO DE VIDA DEL CAMARON PENEIDO



II. INTRODUCCION AL LABORATORIO

Durante este curso, estaremos en el laboratorio por un tiempo considerable. Cada participante tendrá una experiencia práctica en la crianza de larvas. Se te pedirá que trabajes en grupo, cada grupo trabajará en un tanque de crianza de larvas.

Se pretende que cada grupo almacene sus propias larvas y las críe a través de sus etapas "más críticas" de metamorfosis. Esto requerirá inspección diaria y mantener un registro de sus etapas y condiciones. La calidad del agua (incluyendo temperatura, salinidad, pH y contaminación) y la disponibilidad de comida (primeramente las algas y luego la *Artemia*) será monitoreada, anotada y controlada. Participaremos en la crianza de algas y *Artemia* (camarón) preparándolas para su uso. Cada equipo evaluará los requisitos de sus larvas y las alimentará apropiadamente.

Nos familiarizaremos con el uso de instrumentos, equipos y procedimientos utilizados con más frecuencia en la crianza de larvas. La mayoría serán tratados en este manual de laboratorio.

Laboratorio Húmedo

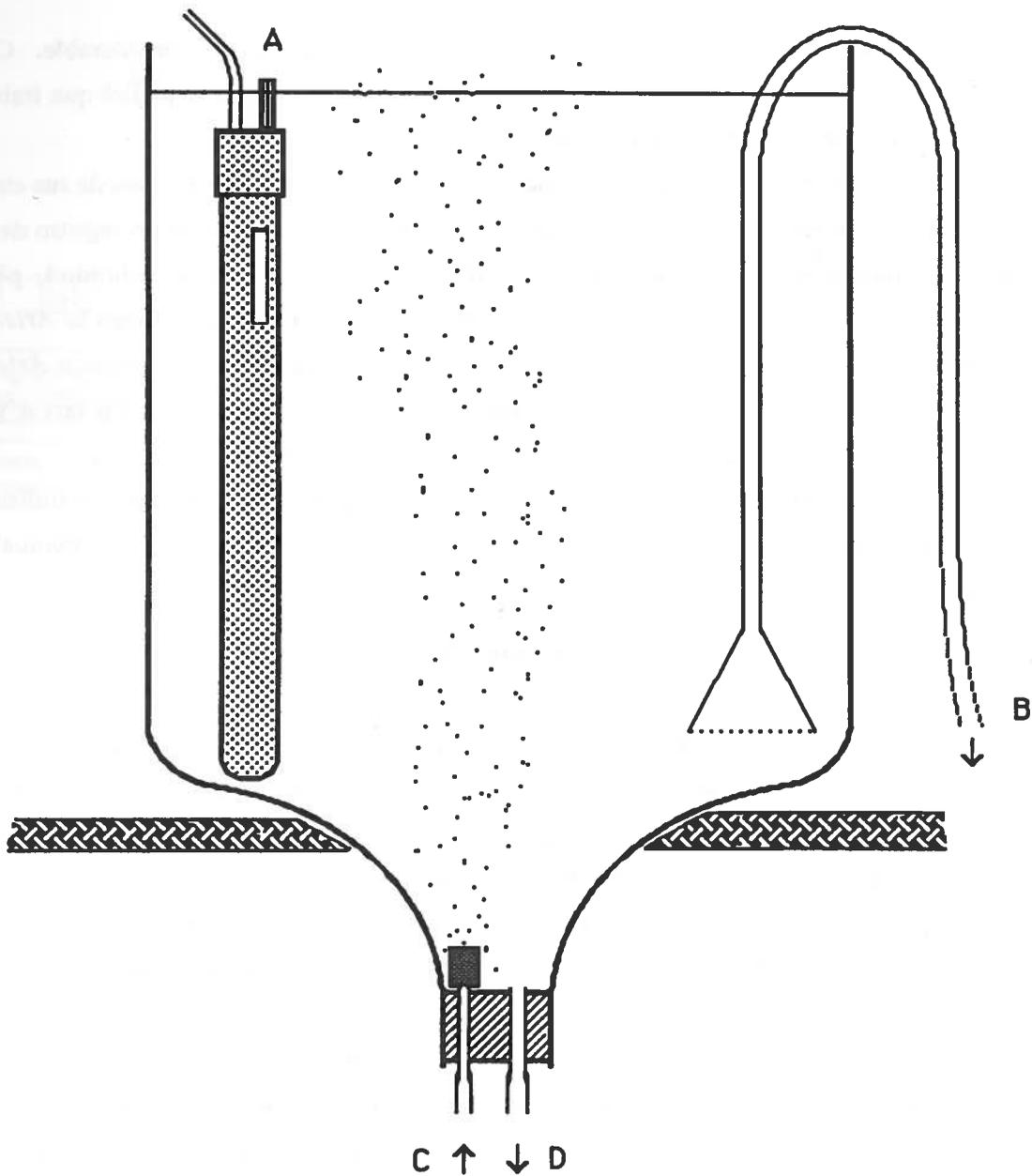
SISTEMAS:

Tanques de Crianzas de Larvas (TCL): Los TCL son garrafones de 12 por 16 litros (5 galones) con fondo cónico. Son de un plástico transparente y están cubiertos de tal manera que permita una fácil inspección y manejo. El tapón en el fondo tiene dos penetraciones. Una es para drenaje y la otra para aereación (ver Figura 3, Página 4).

Agua de mar: El agua de mar con una salinidad entre 28 a 36 ‰ (partes por mil) esta almacenada en tanques de deposición. Aquí se permite que las partículas gruesas en suspensión se precipiten antes que el agua sea filtrada y bombeada hacia un reservorio. En el laboratorio la pasamos a través de un filtro de cartucho con algodón de 10- a 1-micras, para remover las partículas finas y finalmente por un filtro ultravioleta para su esterilización. Al agua tratada se le permite que recicle continuamente a través de el filtro de agua hasta que sea utilizada. La cloronización del agua de mar puede ser necesaria dependiendo de la localización del laboratorio.

El drenaje en los taponés de los tanques no debe ser utilizado, ya que la larva podría perderse. Cuando se cambie el agua se utiliza un sifón con un filtro Nitex®, para drenar el medio excluyendo así las larvas. La malla del filtro Nitex® debe ser lo suficientemente fino, de modo que excluya la larva (entre un rango de 100 µm, en la etapa N1, a 300 µm, en la etapa mysis).

Electricidad: La electricidad es transmitida por los tomacorrientes montados arriba de los tanques.



- A CALENTADOR TERMOSTATICAMENTE CONTROLADO
- B SIFON, CON MALLA
- C AERACION CON FILTRO DE PIEDRA
- D TUBO DE DRENAJE: NO USAR

FIGURA 3: TANQUE DE CRIANZA DE LARVAS

ADVERTENCIA: POR FAVOR ASEGURESE QUE LAS MANOS, TOMA CORRIENTES, ETC., ESTEN SECOS ANTES DE TRABAJAR CON EL EQUIPO ELECTRICO.

Luz: La luz es suministrada continuamente por dos tubos de neón a una intensidad de 950 a 1,200 LUX.

Temperatura: La temperatura del medio es mantenida aproximadamente a 28°C por calentadores sumergibles controlados con termostatos. El botón en la parte superior del calentador permite ajustes al termostato (la rotación en el sentido de las manecillas del reloj aumentará la temperatura mientras que la rotación en dirección contraria la disminuirá). Esto se deberá hacer inicialmente por medio de la inmersión del calentador en agua a 28°C. El termostato es entonces ajustado hasta que la luz oscile encendiéndose y apagándose. Luego deberá ser monitoreado constantemente por 15 minutos y después a intervalos de dos horas. Si la temperatura está a más de 1°C por arriba o abajo de 28°C, un ajuste mínimo debe de ser hecho, proseguido por un monitoreo cuidadoso. Los termostatos pueden fluctuar y la falta de paciencia pudiera rápidamente resultar que los camarones terminen "hervidos".

NOTA: CUANDO NO ESTAN COMPLETAMENTE SUMERGIDOS EN LIQUIDO, LOS CALENTADORES SE QUEMARAN. ESTOS DEBERAN SER DECONECTADOS ANTES DE REMOVERLOS DE LOS TANQUES.

Aire: El aire es proporcionado por un compresor localizado más arriba del TCL por medio de tubería PVC y una válvula de aguja PVC. Manguera de plástico (Tygon®) es utilizada entre la válvula y los filtros de piedra.

La aereación debe de ser fijada a una lenta, continua, corriente de burbujas. La aereación deberá ser lo suficientemente fuerte para facilitar una circulación suave en el tanque, pero no lo suficientemente fuerte para que agite la larva o impida que se alimenten. Cuando inspeccione la larva, doble o presione el tubo de plástico en vez de cerrar la válvula.

INSTRUMENTOS: Los instrumentos que usaremos en el laboratorio son primordialmente aparatos para medir la calidad del agua. Estos incluyen el termómetro, el medidor de pH (para medir la acidez y alcalinidad) y el refractómetro (para medir la salinidad).

Más adelante, seremos introducidos al "kit" de análisis químicos (con esto realizaremos varias titulaciones para amonio, nitratos, etc.).

Laboratorio Seco

SISTEMAS: El único elemento adicional que usaremos aquí es agua destilada.

INSTRUMENTOS: En el laboratorio seco usaremos microscopios compuestos y de disección y el hematocitómetro (para contar células de algas) y varios instrumentos de uso general en el laboratorio. Información básica sobre el uso de los instrumentos más importantes se puede encontrar en las Hojas Técnicas, comenzando en la Página 70.

REGISTROS: El sistemático proceso de mantener registros puede ser una ayuda útil en el cuidado de larvas. Sirve como medio de comunicación entre los miembros del equipo a cargo del criadero. Cuando varios tanques han de ser cuidados, ya entrada la noche, es fácil olvidarse de varias medidas y aún pasos completos en el proceso. Tablas bien formuladas para el mantenimiento de registros puede minimizar errores y también puede ayudar en el entrenamiento de nuevos miembros del equipo.

Los registros pueden ser utilizados no tan solo para la planificación diaria, sino también para hacer ajustes, pedidos de mercancía, planificación a largo plazo y expansión. También pueden ser utilizados para señalar específicamente un problema o problemas potenciales. Una manera para mantener registros, los cuales han probado su utilidad en una operación comercial, es por medio de anotar los datos reunidos diariamente en un "Registro de la Crianza de Larva en Tanques" (ver Figura 4, Página 7). Otro registro importante es el de "Maduración del Reproductor para Crianza de Huevo-Naupli" (ver Figura 5, Página 8). El formulario titulado "La Larva-Estado de Salud" (ver Figura 6, Página 9) provee un formato para subjetivamente categorizar nuevos lotes de larva. Se categoriza cada lote tomando en cuenta cierto criterio que se utiliza para establecer una nota numérica general para ese lote. El formulario puede ser utilizado para entrenar al nuevo personal del criadero en técnicas de evaluación. Más tarde, su uso puede ser descontinuado, pero los principios se mantienen al evaluar un lote.

FIGURA 6
ESTADO DE SALUD LARVAL

Lote # _____

Fecha _____

Hora _____

Nombre _____

ACTIVIDAD
APARIENCIA GENERAL
AUSENCIA DE DEFORMIDADES
AUSENCIA DE MUCOSIDAD
DESECHO BACTERIAL EXTERNO
SETA DESARROLLADA
AUSENCIA DE SETA INCLINADA
MUERTOS

OBS:

Comentarios

Muestra larval

OBSERVACIONES MICROSCOPICAS

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

PROMEDIO TOTAL

PUNTUACION

RANGO DE LAS PUNTUACIONES:

#3 Excelente, Más alto, más

#2 Promedio - rango medio

#1 Pobre, más bajo, menos

III. CULTIVO DE LARVAS

Introduction

En su ambiente natural, el camarón adulto emigra hacia aguas costeras limpias y estables (ver Figura 2, Página 2). Aquí maduran, se aparean y las hembras desovan sus huevos. Los huevos se hunden, pero dentro de 14 horas los huevos maduran y el nauplio, siendo tan fototrópico, nada hacia la superficie.

Esas larvas atravesarán tres etapas distintas: naupliar, protozoal o zoeal y mysis, antes de su metamorfosis a camarón post-larval. Su dieta varía desde el hereditario saco vitelino durante la temprana etapa naupliar, a fitoplancton (plantas microscópicas) y luego a zooplancton (animales microscópicos). Finalmente en la etapa mysis, el camarón puede comer una gran variedad de organismos incluyendo *Artemia*.

Durante este período, la larva es arrastrada con las corrientes. Un porcentaje pequeño de ellas es llevada a las bahías y estuarios por estas corrientes. Aquí las postlarvas permanecen mientras maduran a juveniles hasta que ellos también maduran y buscan su area de desove mar adentro (ver Figura 2, Página 2). Se estima que tan sólo el uno por ciento de los huevos desovados en el medio ambiente natural llegan a una etapa madura.

ETAPAS LARVALES Y SU IDENTIFICACION (Yang, 1975): Es importante que el acuacultor sea capaz de evaluar no tan sólo las etapas principales de la metamorfosis, sino también sus sub-etapas. Esto permite anticipar los requisitos de comida, tanques, etc., con precisión y que se calcule la tasa de alimentación correcta.

Etapas Naupliar: Las especies Indo-Pacíficas (*monodon*, *indicus* y *japonicus*) tienen 6 subetapas naupliares, mientras que las especies del Nuevo Mundo (*vannamei* y *stylirostris*) tienen solamente 5 subetapas. Un patrón general de 3 subetapas para cada una de las etapas Zoea y Mysis, es universalmente reportado, con tan sólo unas excepciones. La duración de cada etapa varía dependiendo de la especie y la temperatura de crianza.

Información acerca del desarrollo larval del camarón peneido es presentada en la Tabla I, Página 11 y 12. Para cada subetapa, esto incluye la duración aproximada de la subetapa, el tamaño de la larva y la alimentación y condiciones ambientales requeridas. Comentarios adicionales de valor para el acuacultor también son incluidas.

El nauplio, sale del huevo en una posición doblada, pero rápidamente se endereza. Después de varios minutos comienzan a nadar, lentamente al principio, pero después de media hora más vigorosamente. Logran nadar por medio de el movimiento de los tres pares de apéndices semejante a un remo, lo cual produce un movimiento del cuerpo en forma de zig-zag (Hundinaga, 1942). Los nauplios nadan brevemente y luego descansan. También, son muy

TABLA I
DATOS SOBRE LAS LARVAS DE CAMARON
(en Treece, 1985)

Formas o Etapas y Nombres Variados	Duración de la Etapa	Tamaño al final de la Etapa*	Alimento Común	Parámetros (Opt.)	Comentarios adicionales y Observaciones
1 Huevo	Approx. 14 hrs. a 28°C	Aprox. 220 micrones en diámetro (0.22 mm)		Agua lo más limpia posible. El área de la superficie del recipiente es importante ya que poca aeración es necesaria para mantener alto DO (5 ‰) pero que prevenga la abrasión de la membrana del huevo. pH 8.0. Los huevos se hunden y no deben amontonarse (capas). Temp. 28°C Opt.	Los huevos son flexibles, elásticos y pueden ser forzados a través de un filtro de 202 micrones si están bajo algún tipo de presión de agua. Para eliminar la posibilidad de pérdida de huevos un filtro #155 Nitex es usado.
2 Nauplio (N) (Plural Nauplii) NI, NII, NIII, NIV, NV	48 hrs a 28°C Rango 36-51 hrs	NV Promedio total largo = 0.50 mm rango (0.43-0.58 mm). Promedio ancho = 0.20 mm rango (0.18-0.22 mm)	Vitelo	Agua lo más limpia posible. Aeración suave para mantener un alto DO (5 ‰) y una corriente de agua para mantenerlos suspendidos, si no subirán a la superficie. Foto-positivo en esta etapa. Temp. 28° C.	Nadan sólo en ocasiones pero con más frecuencia conforme se desarrollan. (Ej. Etapa NI puede nadar 3 brazadas, permanecen quietos por 30 segundos, luego nadar 3 brazadas, reposan 5 seg. para luego nadar nuevamente (#155 Nitex).
3 Protozoa I (PI) (P1) También llamado Zoea I o ZI	40 hrs promedio. Rango 36-48 hrs. a 28°C	Promedio total de largo 1.0 mm. Promedio caudal (cola) largo 0.3 mm	Fitoplankton 3-5 µ en tamaño	Conteo mínimo de algas celulares a los cuales están expuestos los animales es 1 x 10 ⁵ células de algas/ml. pH 8.0 (Opt.) Temp. 28°C. Amonia menos de 25 microgramos átomo/litro.	Continuamente nadando y consumiendo fitoplancton. Hilos fecales visibles y son frecuentemente más largos que el animal. #202 Nitex usado para retener animales.
4 Protozoa II (PII) (P2) También llamado Zoea II o ZII	40 hrs promedio. Rango 36-48 hrs. a 28°C	Promedio total de largo 1.71 mm. Rango 1.28-2.01 mm. Promedio. Caudal (cola largo 0.80 mm. Rango 0.12-0.87 mm)	" 5-10 µ en tamaño	" "	Presencia de ojos pedunculados. #202 Nitex usado para retener animales.
5 Protozoa III (PIII) P3 (también conocida como Zoea III o ZIII)	40 hrs Promedio (28°C rango 36-46 hrs.	Promedio total de largo 2.59 mm (2.4-2.59 mm rango. Caudal medio (cola) largo 1.06 mm. Rango 0.93-1.40 mm.	Fitoplankton. Especies mixtas	pH 8.0 (Opt.) Igual al PI & PII. Amonia menos de 25 µg a/l Temp. 28°C.	Urópodos birrosos y espinas en segmentos abdominales. #202 Nitex utilizado para retener animales.

	Formas o Etapas y Nombres Variados	Duración de la Etapa	Tamaño al final de la Etapa*	Alimento Común	Parámetros (Opt.)	Comentarios adicionales y Observaciones
6	Mysis I (MI) (M ₁)	24 hrs. (28°C)	Promedio total de largo 3-5 mm Medio caudal (cola) largo 1-2 mm	<i>Artemia</i> y Fito-planc-ton	Se le alimenta la combinación de fitoplancton y <i>Artemia</i> . pH 8.0. Los mismos parámetros de la protozoa. Temp. 28°C. Amonia - menos de 25 µg a/l	Pequeños pleópodos comenzando a salir de los segmentos abdominales. Los animales son capaces de voltearse y de ventralmente nadar hacia adelante. Un filtro efluente #202 Nitex se usa para retener la <i>Artemia</i> nauplii.
7	Mysis II (MII) (M ₂)	24 hrs.	Promedio total de largo 3-8 mm. Rango 3.3-4.2 mm Medio caudal (cola) largo 1.3 mm. Rango 1.2-1.4 mm	<i>Artemia</i> y fito-planc-ton	pH 8.0. Temp. 28°C. Amonia - menos de 25 µg a/l	Pleópodos no segmentados pero más pronunciados y curvados al interior. #202 Nitex usado para retener <i>Artemia</i> nauplii.
8	Mysis III (MIII) (M ₃)	24 hrs.	Promedio total de largo 4.3 mm (rango 3.9-4.7 mm) Caudal medio (cola) largo 1.4 mm (rango 1.3-1.5 mm).	<i>Artemia</i> y fito-planc-ton	pH 8.0. Temp. 28°C. Amonia - menos de 24 µg a/l	Pleópodos compuestos de segmentos y 2-3 seta terminales. #202 Nitex para retener <i>Artemia</i> .
9	Post larva I (PI I) (PI ₁)	24 hrs.	Promedio total de largo 4.6 mm (rango 4.2-5.0 mm). Medio caudal (cola) largo 1.5 mm (rango 1.4-1.6 mm)	<i>Artemia</i> y fito-planc-ton	pH 8.0. Temp. 28°C. Amonia - menos de 25 µg a/l	Generalmente - post larva pasan aproximadamente 6 días suspendidas en la columna de agua pero prefieren residir en el fondo a partir de este estadio. #202 Nitex para retener <i>Artemia</i> (alimento #500 Nitex para retener animales)

*Estos tamaños están basados en medidas de *P. aztecus*. *P. sty.* y *P. vann.* son un poco más grandes (ejemplo: medimos varios *P. sty.*, y la PI₁ es de 6 mm largo total).

fototrópicos y nadan en dirección a la fuente de luz. Una respuesta rápida de los nauplios a la fuente de luz indican que están saludables. Cuando en reposo, los nauplios están suspendidos en una posición perpendicular con el lado dorsal del cuerpo hacia abajo y los apéndices en sesgo hacia arriba. Durante esta última etapa naupliar, el cuerpo se aplana ligeramente.

La Figura 7, Página 14, ilustra las subetapas de las etapas larvales del camarón, haciendo énfasis en las características que puedan ser usadas para su identificación. Más características detalladas de las cinco subetapas naupliares de *P. duorarum* son mostradas en la Figura 8, Página 15. Las características usadas en la identificación de las subetapas individuales están anotadas en la leyenda e indicadas en las figuras por medio de flechas.

Etapla Protozoa: En la etapa zoeal, logran nadar con la primera y segunda antena, como en la etapa naupliar, pero ahora con la ayuda de los ya bien desarrollados primero y segundo maxilípedos. El movimiento natatorio es más lento que el del nauplio y parece menos brusco. Una característica de la zoea, es su continua alimentación. El acuicultor puede juzgar que tan bien se está aumentando la zoea por medio de las contracciones del sistema digestivo y la presencia de un rastro largo de heces. Una alimentación activa y una respuesta continua e inmediata a la fuente de luz son indicadores de una zoea saludable. Entrando a la última subetapa de zoea el cuerpo se encorva levemente.

Las características detalladas de las 3 subetapas de zoea de *P. duorarum* se muestran en Figura 9 Página 16 (en Dobkin, 1961). Así como en las ilustraciones del nauplii, las características utilizadas en la identificación de las subetapas de zoea son indicadas por medio de flechas. Los rangos de tamaño que se dan a continuación para el diagnóstico están basados en medidas de *P. japonicus*.

- Z1: 1. Longitud del cuerpo 0.86 - 1.32 mm.
2. Cuerpo aplanado, carapacho marcado
3. Ojos sésiles presentes
4. Primer y segundo maxilar y primer y segundo maxilípedos funcionales
5. Proceso furcal presente
6. Sistema digestivo visible
- Z2: 1. Longitud del cuerpo 1.33 - 2.13 mm.
2. Ojos pedunculados presentes
3. Rostro desarrollado
4. Espinas supraorbitales desarrolladas
5. Segmentación abdominal aparente
- Z3: 1. Longitud del cuerpo 2.14 - 2.70 mm.

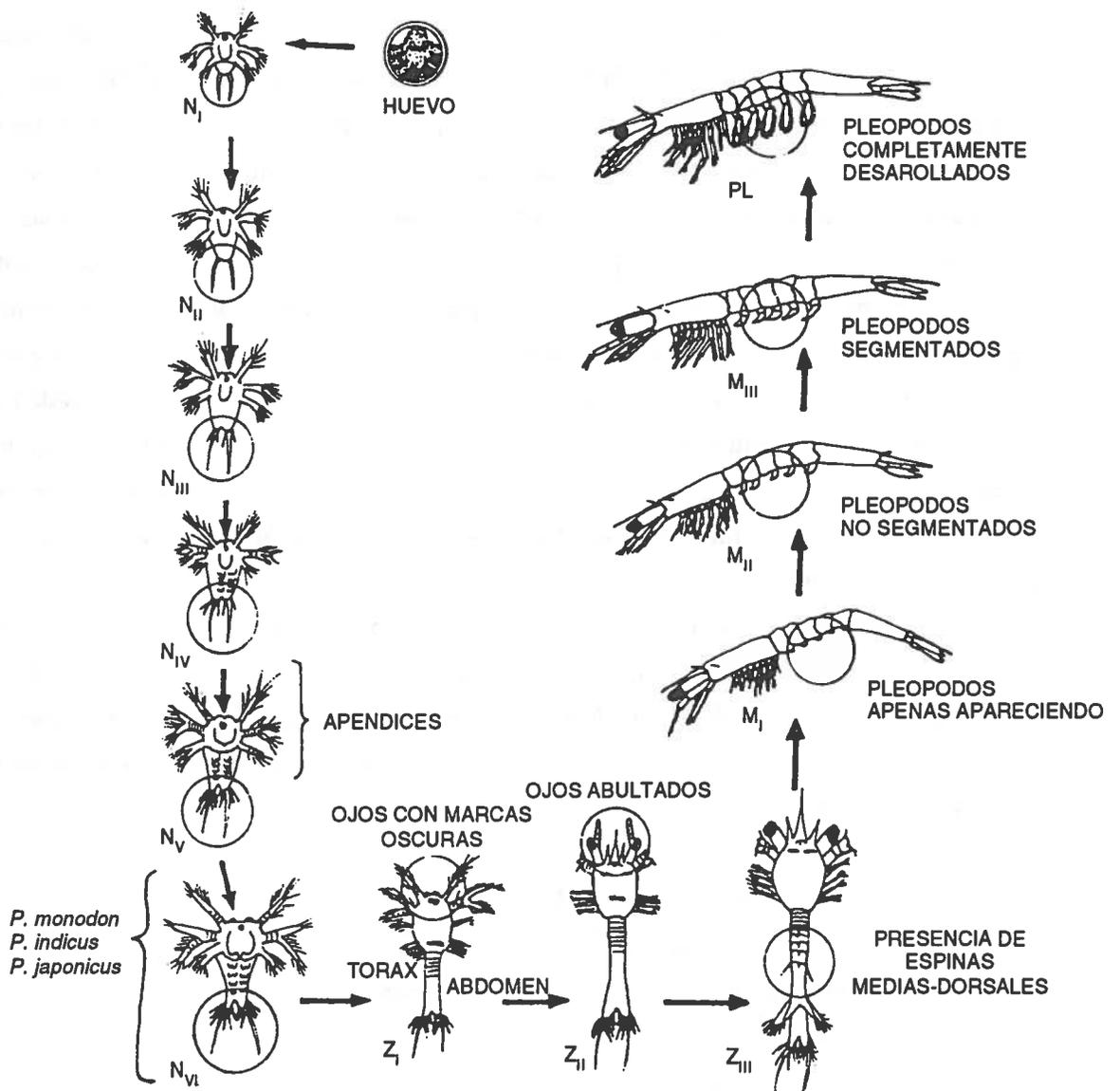


FIGURA 7: ETAPAS LARVALES DEL CAMARON
(en Motosh, 1979)

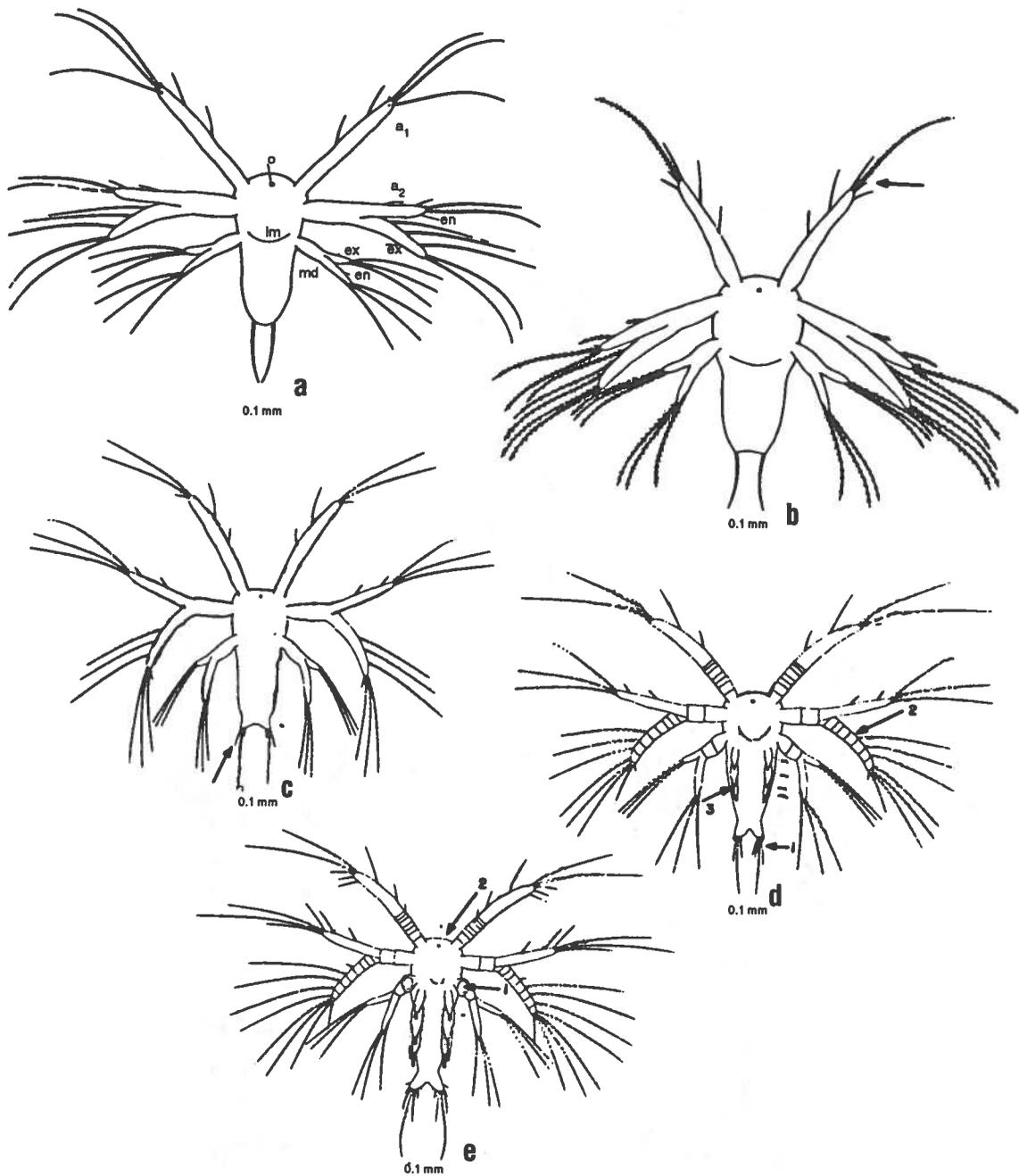


FIGURA 8: Subetapas naupliares del *Penaeus duorarum*: a₁—primera antena; a₂—segunda antena; en—endópodo; ex—exópodo; fr—organos frontales; fu—furca; lm—labio; md—mandíbula; mx1—primera maxila; mx2—segunda maxila; mxp1—primer maxilipedo; mxp2—segundo maxilipedo; o—oscellus; sc—scaphognathite (en Dobkin, 1961).

- a) Nauplio I: Cuerpo en forma de pera
- b) Nauplio II: 1 larga, 1 moderada y 1 corta; seta terminal en la 1a. antena
- c) Nauplio III: 2 procesos furcales distintivos con 3 espinas cada uno
- d) Nauplio IV: Cada proceso furcal con 5 espinas (1); Segmentación de apéndices aparente (2); 1er y 2o. maxila y maxilipedos presentes (3).
- e) Nauplio V: Cuerpo más o menos aplanado, estructuras hinchadas semejantes a perillas presentes en las bases de las mandíbulas (1); órganos presentes (2).

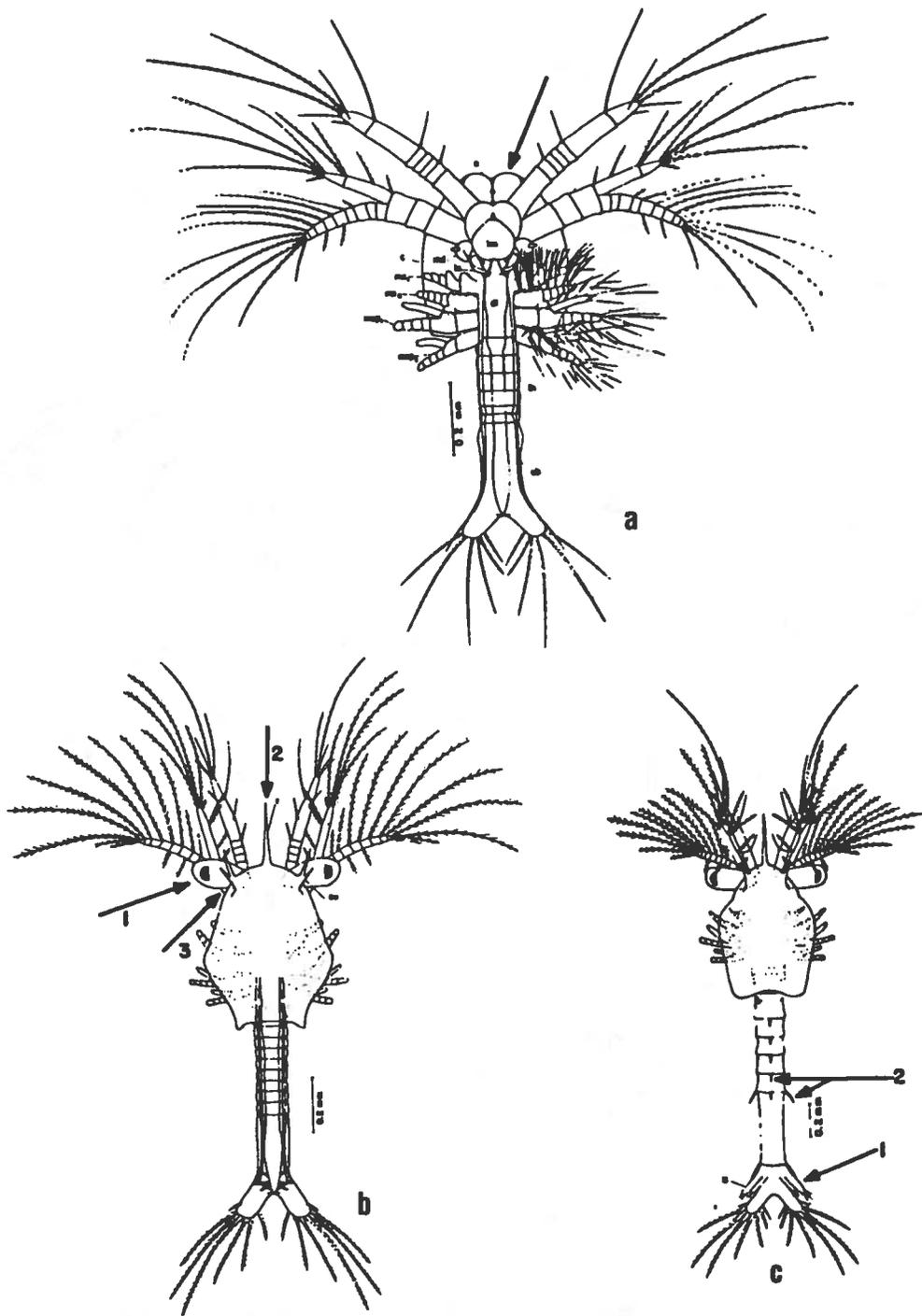


FIGURA 9: Subetapas zoea del *Penaeus duorarum*: ab—abdomen; c—carapacho; dt—tracto digestivo; e—ojo; la—labium; md—mandíbula; mx1—primera maxila; mx2—segunda maxila; mxp1—primer maxilipedo; mxp2—segundo maxilipedo; 4—rostró; su—espina supraorbital; th—tórax; u—urópodo (en Dobkin, 1961).

- a) Zoea I:
- b) Zoea II: Ojos pedunculados (1); rostró presente (2); espinas supraorbitales bífidas presentes (3).
- c) Zoea III: Par de urópodos biramosos desarrollados (con doble rama) (1); presencia de espinas en somito abdominal.

2. Segmentación abdominal marcada; espinas dorsales y/o laterales presente en la mayoría de metamerios
3. Urópodos no completamente desarrollados presentes

Etapa Mysis: En la etapa mysis, las antenas son reducidas y el nadar se vuelve una función del pereiópodo, con alguna asistencia de los tres pares de maxilípedos. Al nadar el cuerpo del mysis está encorvado, con la cabeza hacia abajo; el movimiento se da en una dirección contraria. En esta etapa hay menos tendencia a que el mysis sea atraído por la luz.

Características detalladas de las tres subetapas del mysis son mostradas en la Figura 10, Página 18 (en Dobkin, 1961), y están basadas en *P. duorarum*. Como en la ilustración del nauplii, las características utilizadas en la identificación de las subetapas del mysis son indicadas por flechas. Los tamaños dados en el siguiente diagnóstico están basados en medidas de *P. japonicus*.

- M1: 1. Longitud del cuerpo 2.67 - 3.40 mm.
 2. Cuerpo típico desarrollado en forma de camarón
 3. Pereiópodos bien desarrollados
 4. Primera y segunda antenas reducidas
 5. Urópodos bien desarrollados
 6. Vestigios del pleópodo principal presente
- M2: 1. Longitud de cuerpo 2.99 - 3.90 mm.
 2. Vestigios de pleópodos no segmentados presente
- M3: 1. Longitud de cuerpo 3.70 - 4.52 mm.
 2. Pleópodos segmentados desarrollados

POSTLARVA: Durante los primeros 4 o 5 días de la vida postlarval, los animales son planctónicos. En etapas posteriores, se les puede observar adheridos a las paredes de los tanques o asumir una vida completamente demersal. En la subetapa P1₇ (7-días postlarval), la larva de especies que permanecen dentro del sedimento son frecuentemente capaces de enterrarse en la arena. La alimentación postlarval es lograda por medio de los pereiópodos quelatados, los cuales son capaces de alcanzar y sujetar la comida. Los pleópodos son usados al nadar.

Las características detalladas de las subetapas postlarval son mostradas en la Figura 10, Página 18. El tamaño dado en el diagnóstico en esta página está basado en las medidas de *P. japonicus* y *P. duorarum*. Al igual que en la ilustración del nauplii, las características utilizadas en identificación de las subetapas del mysis están indicadas por flechas.

- P1₁: 1. Longitud del cuerpo 4.79 - 5.80 mm.
 2. Primeros tres pares de pleópodos quelatados
 3. Pleópodos con setas

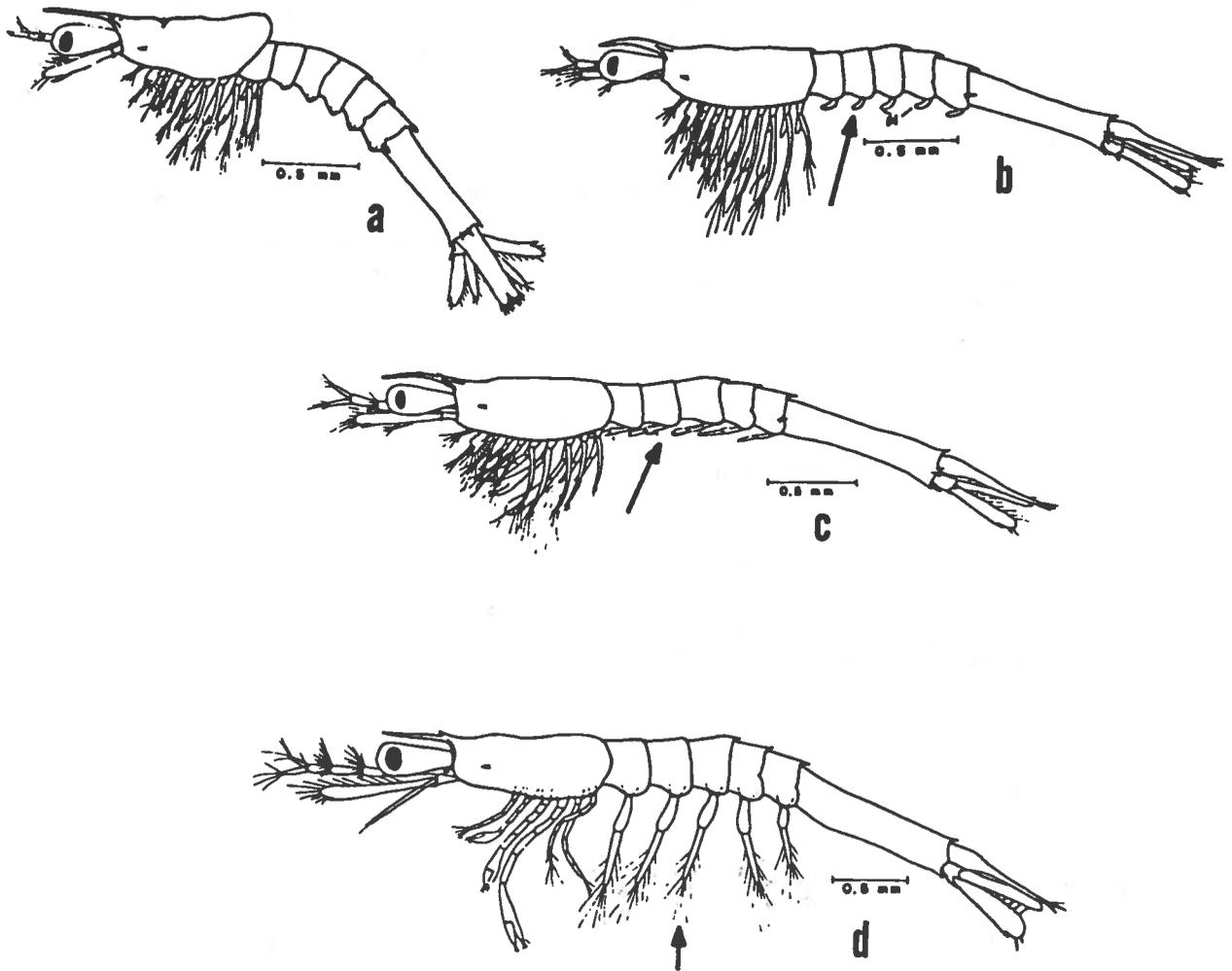


FIGURA 10: Subetapas mysis y postlarval del *Penaeus duorarum*: P1—pleópodo (en Dobkin, 1961).

- | | |
|----------------------|--|
| a) Mysis I: | Estructura semejante al camarón. |
| b) Mysis II: | Presencia de pleopodos no segmentados. |
| c) Mysis III: | Pleopodos alargados y segmentados. |
| d) Postlarva I (P1): | Las setas de natación presente en pleopodos. |

EJERCICIO I. INSPECCION DIARIA DEL TCL

OBJETIVOS

1. Realizar una inspección inicial de la larva, del tanque de crianza larval y de los sistemas de mantenimiento. Esto incluirá un juicio sobre la etapa larval y su salud, la calidad del agua y temperatura, la luz, calor y el suministro del aire y cantidad de comida en el tanque.
2. Inspección por lo menos tres de las larvas bajo el microscopio compuesto o de disección. Juzgue con precisión y anóte la subetapa. Inspeccione y anote cualquier deformidad o contaminación.
3. Lea y anote la temperatura del agua, salinidad y pH. Tome acción si estos factores son inaceptables.
4. Cambie el agua de acuerdo a la rutina.
5. Cuente y anote la comida para la larva que permanece en el TCL (densidad celular de algas y/o concentración de *Artemia*).
6. Calcúle, anote y administre la alimentación adicional requerida.

MATERIALES Y EQUIPO

- Tanque para la crianza de larva de 16 litros, incluyendo larva (100 por litro) y todos los sistemas de mantenimiento.
- Vaso de precipitado de 500 ml
- Gotero o pipeta
- Portaobjetos de vidrio y protector
- Microscopio de disección
- Microscopio compuesto
- Hojas de reporte diarias
- Termómetro
- Refractómetro
- Medidor de pH
- Tubo de sifón con filtro (ver Figura 3 [b], Página 4)
- Dos cubetas (una para desechar el agua usada y la otra para agua de mar fresca)
- Hematocitómetro

METODOS

(1) La inspección inicial no será fácil para el acuacultor neófito. Sin embargo, dentro de unos pocos días, una inspección muy rápida de todos los tanques le permitirá reconocer posibles

áreas problemáticas. Dado el momento se le podrá dar una inspección más cuidadosa y tomar la acción correspondiente.

Inspeccione la tasa de aireación. Está debe producir un continuo flujo de pequeñas burbujas pero sin que "hierva". Coloque su mano en el costado del tanque para juzgar la temperatura. Debe sentirse un poco más frío que su mano. Doble y presione el tubo del aire de tal manera que corte el flujo del aire. Inspeccione la calidad del agua. Debe estar clara con un leve color amarillento o verdoso si ha utilizado alga como alimento. No debe tener apariencia lechosa ni estar de color amarillo oscuro ni deben existir hileras de algas o bacterias desarrollándose alrededor del tanque.

Utilizando las tablas de identificación (Tabla I, Páginas 11 y 12 y Figuras 7-10 Páginas 14 a 18) y con un poco de experiencia la etapa primordial de metamorfosis (naupli, zoea o mysis) puede ser distinguida a simple vista. Observe el tamaño, forma y características de natación. La condición de la larva también puede ser juzgada. ¿Se encuentran nadando como deberían? (¡si es que están nadando!). Note la presencia o ausencia de hilos fecales, los cuales indicarán si están comiendo bien o no.

(2) Para remover una muestra del tanque saque agua con un vaso de precipitado limpio de 500 ml. Utilice el gotero o pipeta para sacar la larva y colocarla en gotas individuales de agua sobre el portaobjetos de vidrio. Es importante observar a los animales bajo el microscopio antes de matarlos ya que se pueden decolorar, distorcionar o dañar al matarlos. Una gota de lugol puede ser vertida sobre cada animal. Son extremadamente sensibles y mueren rápidamente.

La condición general del animal debe ser inspeccionada dándole una atención especial a los apéndices. Las setas deben estar rectas y enteras. Las setas o apéndices se consideran desfiguradas al encontrarse rizadas o crespas. Bacterias (una señal de pobre calidad de agua y contaminación) pueden estar presentes y aparecen en forma de desperdicio o como aparecen descritas en la sección de las enfermedades de las larvas. Los efectos de las bacterias sobre la larva pueden causar numerosos síntomas, incluyendo necrosis local, decoloración en cualquier apéndice o un amarillo bermejo y color rojo penetrando el sistema nervioso en su totalidad. Los músculos deben estar transparentes y no de color lechoso o decolorado. Tampoco deberían estar de color café ni tener pequeñas burbujas en ellos ya que esto es señal de alguna enfermedad. ¿Está el hepatopáncreas entero, y el vientre lleno y recto? A un alto aumento ¿existen señales de colonias de bacterias en las branquias, setas, etc?

De surgir anomalías se pueden tomar muestras adicionales para medir la magnitud del problema. El principiante pronto aprenderá la apariencia de un animal saludable y la experiencia le facilitará el identificar anomalías.

La etapa y subetapa de la larva ahora pueden ser determinadas (ver Tabla I, Páginas 11 y 12 y Figuras 7-10, Páginas 14 a 18). Anóte la información en el "registro de tanques de crianza de larvas" para cada tanque (Figura 4, Página 7).

(3) Mida y anóte la temperatura. Idealmente debe estar a 28°C. Si estuviera 1°C más arriba o por debajo de esto, se debe ajustar el termostato como aparece descrito en el Capítulo II "Introducción al Laboratorio" en la Página 3.

La salinidad es leída con un refractómetro y anotada. Esta debe ser 32 (± 4) ‰. Si estuviere fuera de el rango de 28 a 36 ‰, se debe cambiar el agua o realizar una lenta dilución con agua destilada.

Un medidor de pH es utilizado para detectar si la muestra del medio es ácida, básica o neutral. El pH óptimo es 8.0. Si está fuera de los parámetros 7.6 y 8.4 el cambie agua para corregirlo.

NOTA: PARA PREVENIR DAÑOS, DEBE TOMAR PRECAUCIONES PARA NO SUMERGIR EL ELECTRODO DEL pH A UNA PROFUNDIDAD MAYOR A LA INDICADA EN EL INSTRUMENTO.

Si el pH o los niveles de salinidad son inaceptables, se requiere cambiar el agua, lo cual puede exceder el 50 por ciento. El tanque, entonces, debe ser monitoreado constantemente en las próximas 24 horas.

(4) El cambio rutinario de agua es de el 25 al 33 por ciento al día.

NOTA: PARA PREVENIR QUE EL CALENTADOR DE IMERSION SE QUEME DEBE SER DESCONECTADO ANTES QUE EL TANQUE SE VACIE.

Antes de remover el agua, la aereación puede ser aumentada para agitar el agua y poner las partículas más pesadas en una suspensión. El extremo del sifon con el filtro es entonces bajado en el tanque y aproximadamente 5 litros son extraídos a través del sifón a la cubeta de "desecho". A continuación disminuya la aereación a niveles normales.

Antes de reabastecer el agua, la temperatura y salinidad del agua de mar fresca es revisada. Si estos estuviesen inaceptablemente muy altos o muy bajos comparados a la de el tanque, estos deben de ajustarse o se debe agregar el agua lentamente para aclimatar la larva. La velocidad de cambio no debe exceder 1°C o 1 ‰ cada 15 min. Regrese el calentador sumergible al tanque y conéctelo. Ajuste la aereación.

(5) Para evaluar la cantidad de comida que queda en el TCL después de el cambio de agua, refiérase a los siguientes ejercicios. Si el alga es el alimento, vea Ejercicio III, Página 48. Si *Artemia* es el alimento, vea Ejercicio IV, Métodos 3, 4 y 5, Página 59 y 60.

(6) Refiérase a la Tabla II, Página 23, para los requisitos de alimento de cada etapa larval. Para calcular la cantidad de alimento que debe agregarse al TCL, refiérase a los mismos ejercicios de el inciso 5.

Debe de llevarse un registro minucioso de todas las condiciones de la larva y el TCL. Esto no sólo mejora el manejo de ese lote de larvas en particular, sino también permitirá una mejor planificación previa y ajustes futuros en general.

Tabla II
REGIMEN ALIMENTICIO DE LA CRIANZA DE LARVAS
 (en Trecce, 1985)

Días de Cultivo	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29			
Larval			48 hrs (36-51)	48 hrs (36-48)	40 hrs (36-48)	40 hrs (36-48)	40 hrs (36-48)	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs	24 hrs			
Etapas Larval		Huevos eclosionan 14 hrs @ 28°C	N ₁ to N ₃	N ₄ to N ₅	P ₁	P ₂	P ₃	M ₁	M ₂	M ₃	PI ₁	PI ₂	PI ₃	PI ₄	PI ₅	PI ₆	PI ₇	PI ₈	PI ₉	PI ₁₀	PI ₁₁	PI ₁₂	PI ₁₃	PI ₁₄	PI ₁₅	PI ₁₆	PI ₁₇	PI ₁₈						
Fitoplancton (1 x 10 ⁵ células/mínimo)	Niveles Más Altos de Alimento Cuento de Células Mantenido Mínimo 1 x 10 ⁵ Células/ml																																	
Artemia/ml	0.25																	1 3 6 8 6 3 1 1																
Pellet Molido u Hojuela																		Dieta del pellet molido ó hojuela, es suministrada hasta que PL's son vendidos o almacenados (Cualquier exceso de Artemia es dado a PL's)																
Pellet de Tamaño Completo																																		
NOTA:	Casi siempre 11 días del N ₃ → PI ₁ (28°C), pero la periodicidad de cada estadio puede variar considerablemente durante este periodo de 11 días.																																	

IV. FISILOGIA

Detalles de todas las partes externas del camarón adulto se pueden ver en las Figuras 11, 12, y 13 en las Páginas 25, 26, y 27, respectivamente.

Detalles de los sistemas reproductores del macho y la hembra se pueden ver para los de téticos abiertos o animales sin ranura, en las Figuras 14, 15 y 16 (Páginas 28, 29, y 30) respectivamente. El desarrollo del huevo se puede ver en secuencias en la Figura 17, Página 31.

Una tabla de identificación rápida para especies seleccionadas puede también ser útil cuando se capturan para reproducción y se puede ver en la Figura 18, Página 32.

EL SISTEMA REPRODUCTOR DEL MACHO (en Motoh, 1981): El sistema genital masculino consiste de órganos internos; una gónada masculina, un par de "vasos deferentes", un par de ampollas terminales y órganos externos, una petasma y un par de apéndices masculinos.

El testis, un órgano transparente y sin pigmento está compuesto de lóbulos, uno anterior y cinco laterales localizados en la región cardíaca dorsal al hepatopáncreas debajo del carapacho. Los lóbulos están conectados unos a otros en sus puntas internas y conducen al próximo órgano, el "vasos deferentes". El "vasos deferentes" sale de los márgenes posteriores del eje principal del testis y se abre al exterior a través de los poros genitales localizados en la partemedia de el coxópodo de quinto pereiópodo (Figura 16-2 en Página 30). Cada "vasos deferentes" consiste de cuatro porciones distintivas: una corta, estrecha, una porción próxima media teniendo una doble fijación (vasos deferentes medio); un tubo relativamente largo y estrecho (vasos deferentes distal) y una porción muscular (ampolla terminal) (ver Figura 16-1 en la Página 30).

La ampolla terminal, una estructura bulbosa, posee una capa muscular gruesa forrada con células epiteliales columnares extremadamente altas. Tiene dos cámaras internamente, una contiene espermátóforos y la otra material calcáreo de un color grisáceo. El par de ampollas terminales se abren en la base del coxópodo del quinto pereiópodo. El espermatozoa, un diminuto cuerpo globular, se compone de dos partes, cabeza y cola (Figura 15-3 en la Página 29). La cabeza es grande y casi circular, teniendo aproximadamente un diámetro de 3 micrones mientras que la cola es relativamente ancha y corta. Aunque sea lógico asumir que el espermatozoa es capaz de movimiento, nunca ha sido observado.

El petasma es un par de endópodos de los primeros pleópodos. Está formado por el entrelazamiento de estructuras parecidas a ganchos diminutos (Figura 16-3 en la Página 30).

La forma del apéndice masculino, la cual está localizada en el endópodo del segundo pleópodo es generalmente ovalada (Figura 16-4 en la Página 30).

Los espermátóforos, uno por cada ampolla terminal, se unen longitudinalmente a la hora de extrusión y se conocen entonces como "espermátóforos compuestos".

FIGURA 11. VISTA LATERAL DE LA HEMBRA *PENAEUS SETIFERUS*
(en Young, 1959)

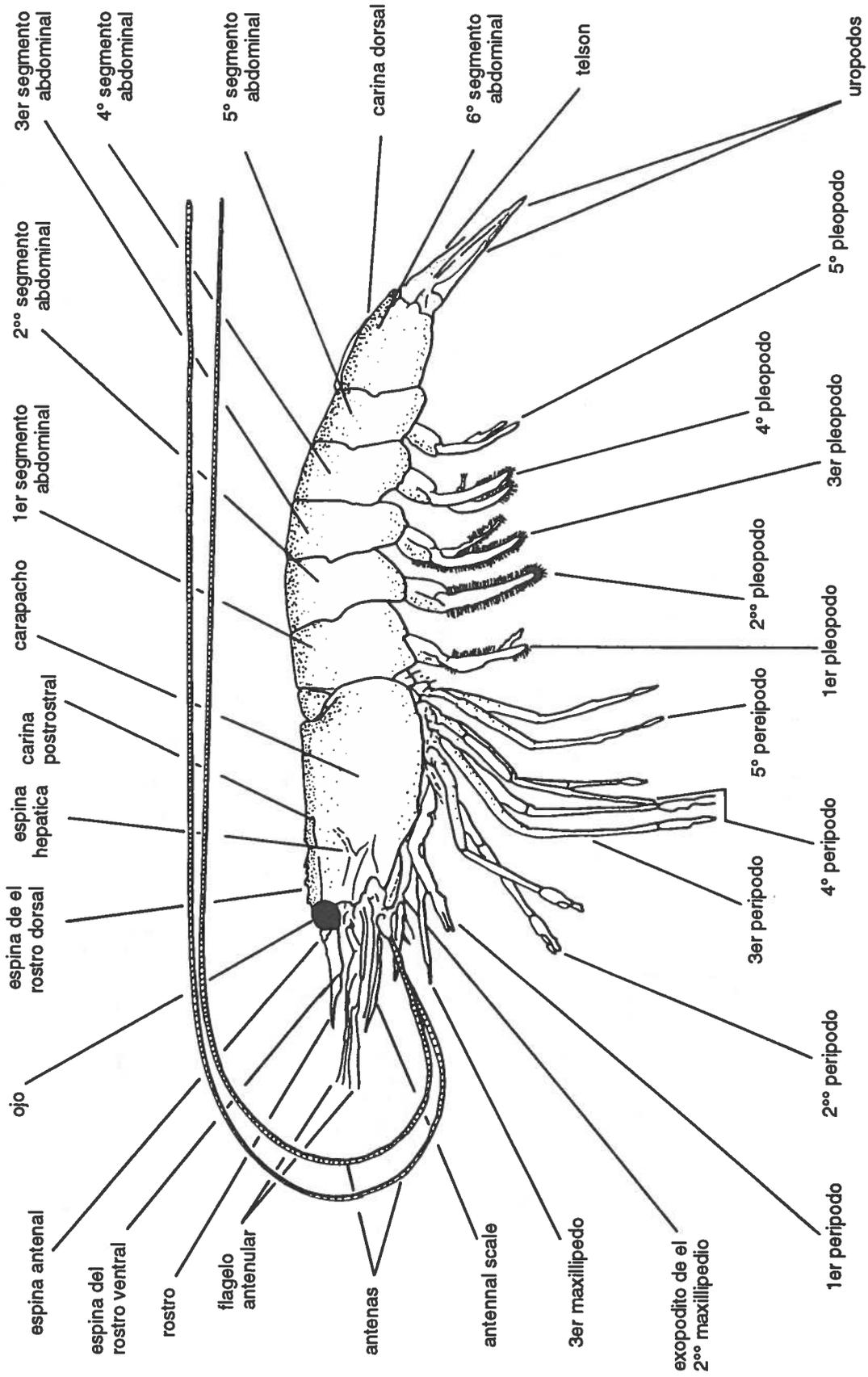


FIGURA 13. VISTA VENTRAL DE UN CAMARON MACHO JOVEN
(en Young, 1959)

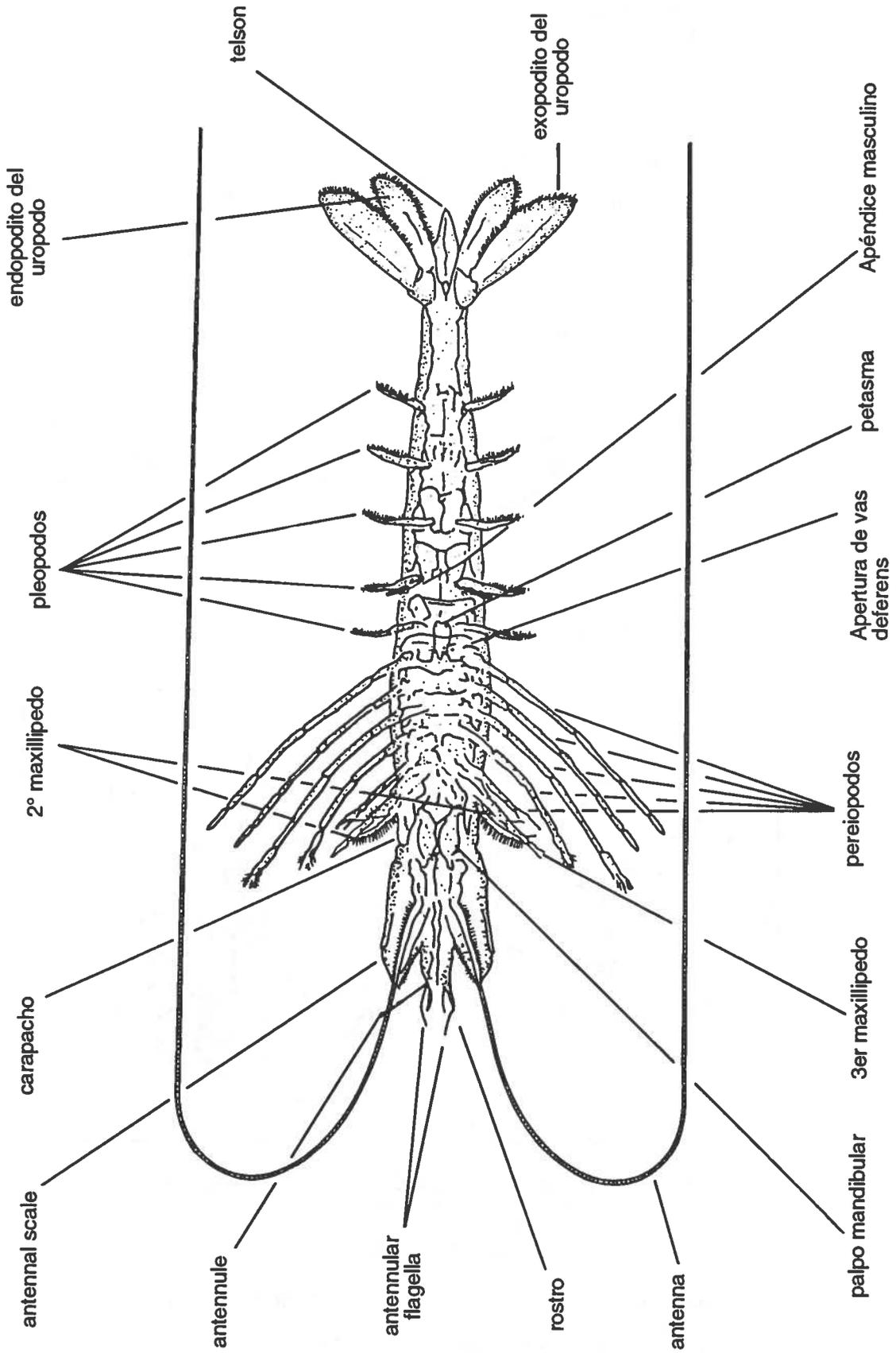
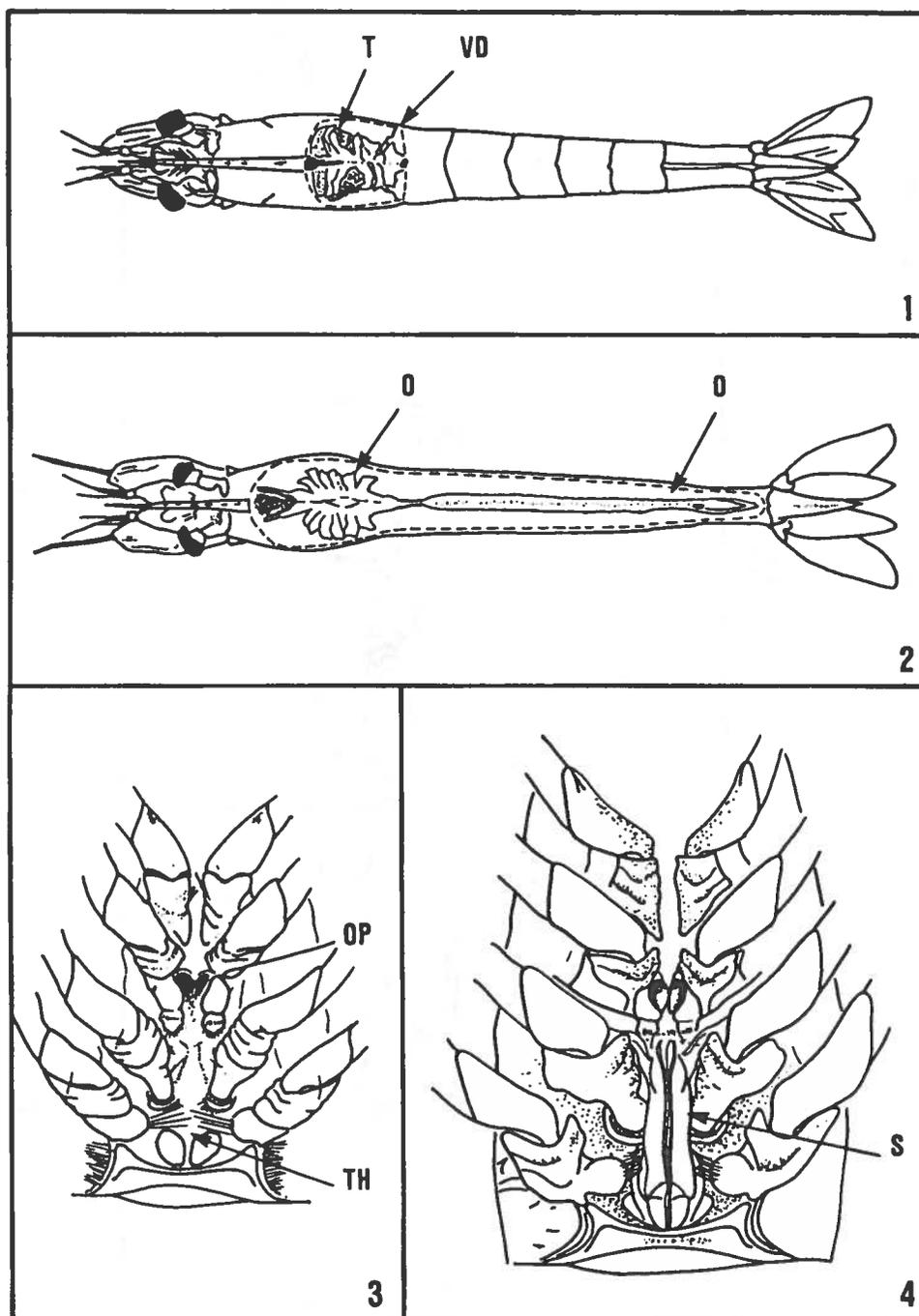
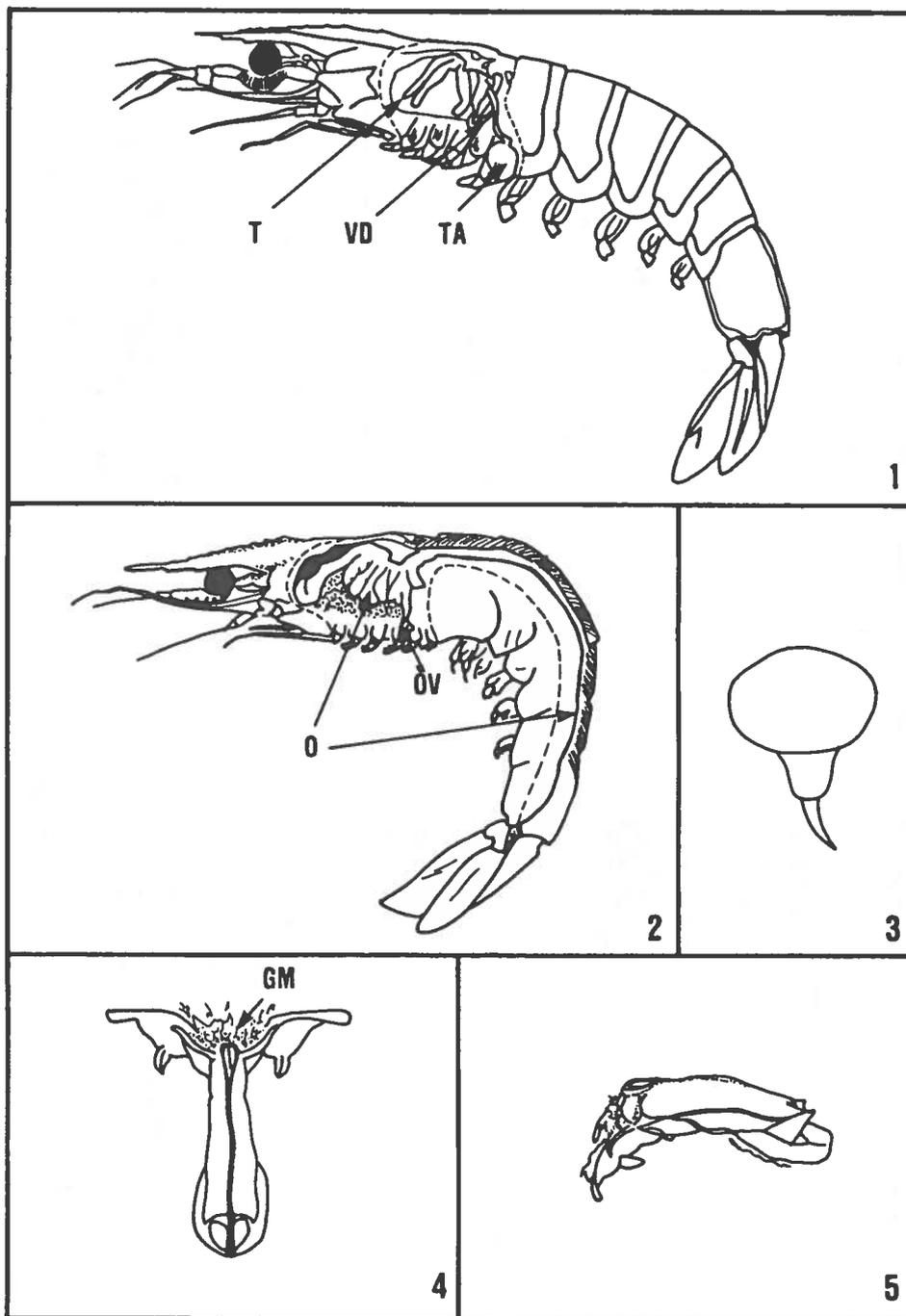


FIGURA 14. DETALLES DE LOS SISTEMAS REPRODUCTORES DEL MACHO Y LA HEMBRA (TELICO ABIERTO O CAMARON SIN INDENTADURA) (en King, 1948)



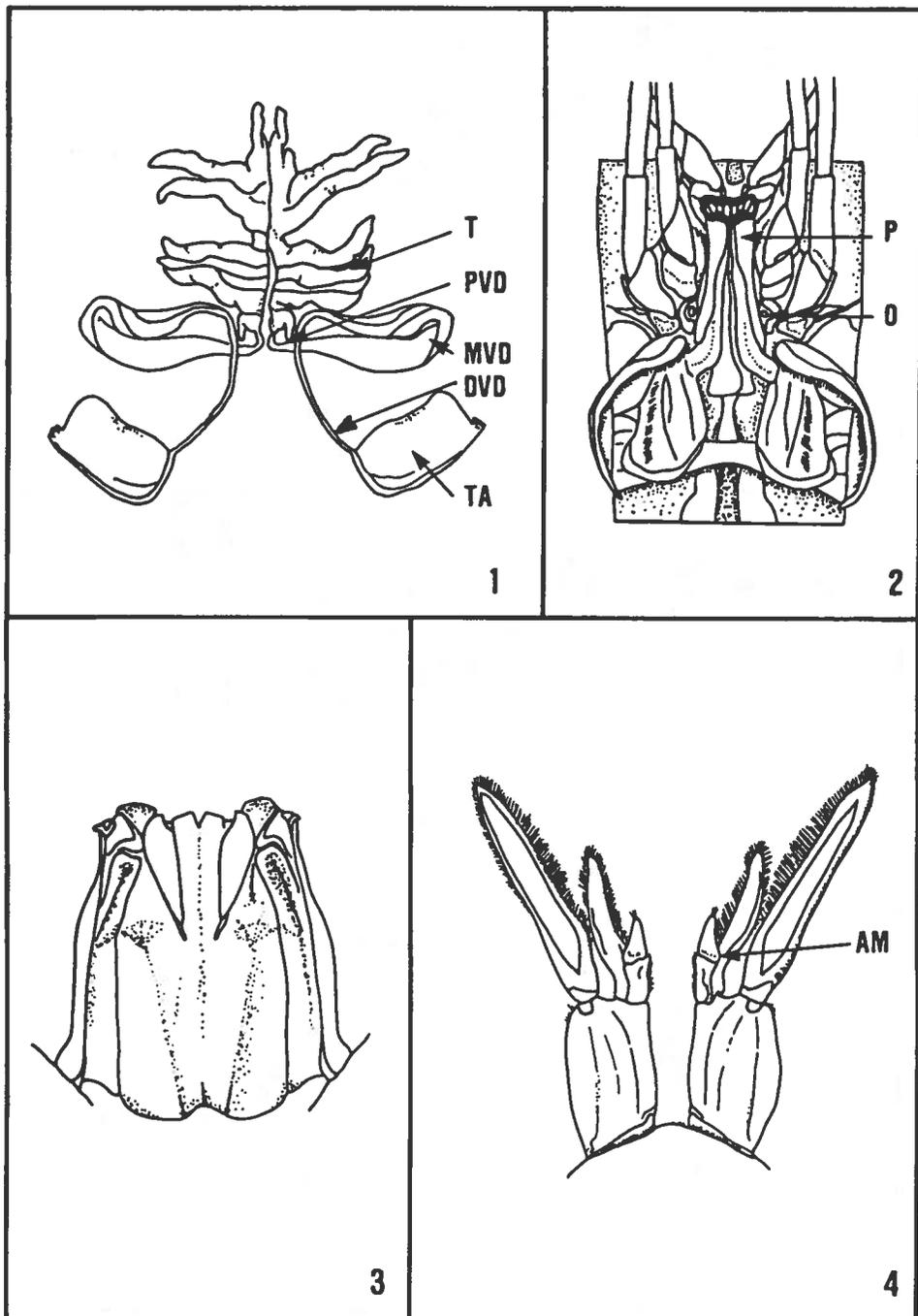
1. Diagrama del macho, vista dorsal, disectado para mostrar la gónada masculina y porciones de los vas deferens. T—gónada masculina; VD—vas deferens. x 0.5.
2. Diagrama del hembra, vista dorsal, disecado para mostrar ovarios. O—ovario. x 0.5.
3. Diagrama de superficie ventral del cefalotórax de la hembra. OP—apertura del oviducto; TH—télico. x 2.5.
4. Diagrama de la superficie ventral del cefalotórax de la hembra con espermatoforos adheridos. S—espermatoforo. x 2.5.

FIGURA 15. DETALLES DE LOS SISTEMAS REPRODUCTORES DEL MACHO Y LA HEMBRA (TELICO ABIERTO O CAMARON SIN INDENTADURA) (en King, 1948)



1. Diagrama del macho, vista lateral, disectado para mostrar órganos reproductivos. T—gónada masculina; VD—vas deferens; TA—ampolla terminal. x 0.5.
2. Diagrama femenino, vista lateral, disectado para mostrar la relación entre el ovario y el oviducto. O—ovario; OV—oviducto. x 0.5.
3. Diagrama de camarón espermatozoan x 9,000 (aprox.).
4. Diagrama de vista ventral de espermatoforos (en posición adherida). GM—material gelatinoso. x 2.75.
5. Diagrama de la vista lateral del espermatoforo. x 2.75.

FIGURA 16. DETALLES DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE EL CAMARON MACHO
(en King, 1948)



1. Diagrama de sistema reproductor de el macho. T—gónada masculina; PVD—vas deferens próximos; MVD—vas deferens medios; DVD—vas deferens distales. x 1.75.
2. Diagrama de la superficie ventral del macho maduro. P—petasma; O—apertura de vas deferens. x 1.75.
3. Diagrama de petasma del macho maduro abierto para mostrar el arreglo interno de dobleces. x 2.9.
4. Diagrama de un segundo par de pleopodos del macho. AM—apéndice masculino. x 1.75.

FIGURA 17

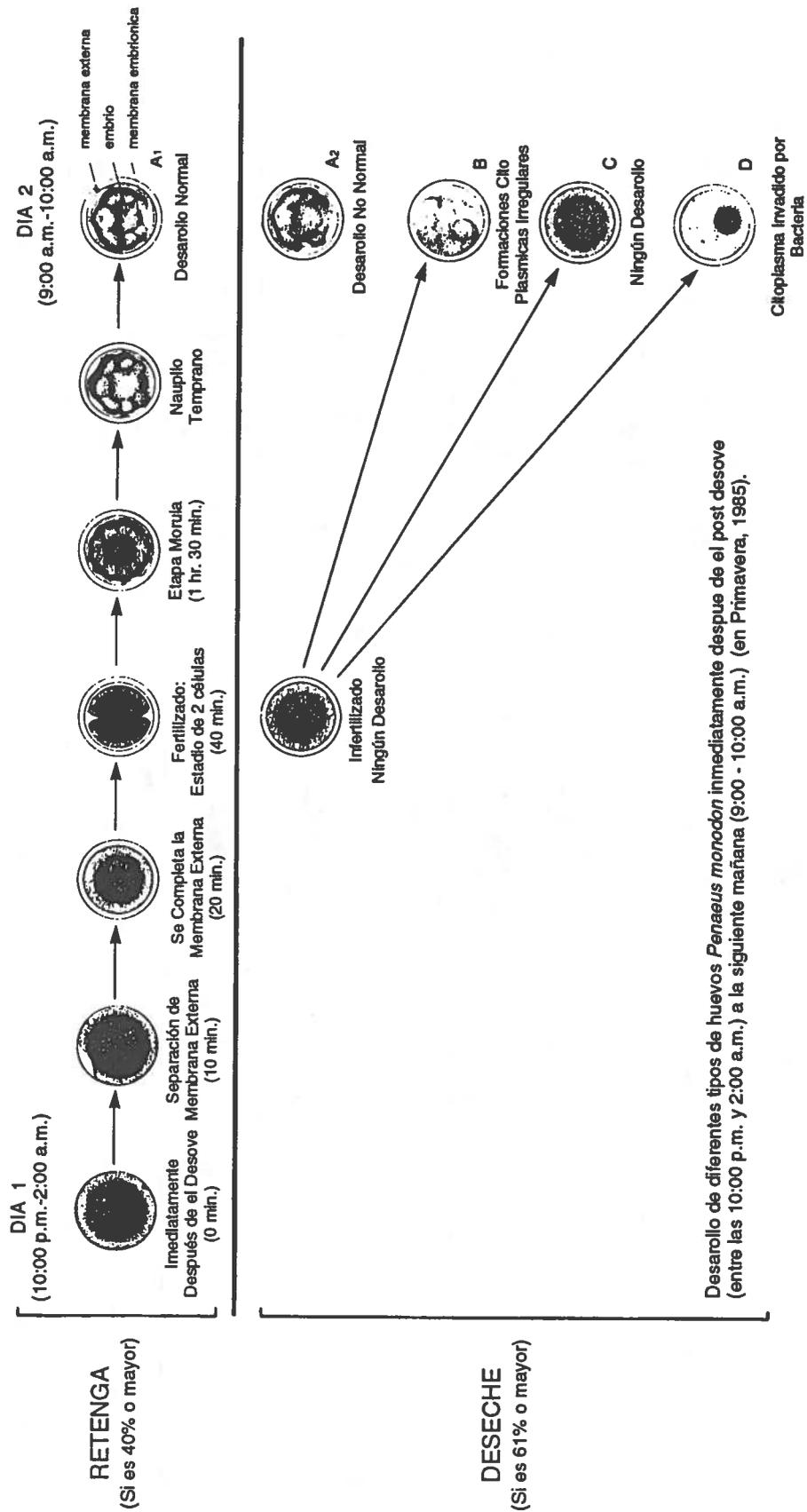


FIGURE 18. IDENTIFICACION "RAPIDA" DE ESPECIES SELECCIONADAS

PENEIDOS Especies Seleccionadas	Tellico Cerrado	Dientes o Rostro	Forma de el Rostro Localización de Dientes	1st Antena	Tellico ♀	Petasma ♂	Otras Características
<i>P. occidentalis</i>	no	$\frac{9-12}{3-5}$ (9/4)					Curvatura de el rostro hacia arriba, esta especie es facilmente confundida con <i>P. stylirostris</i> . Tiene un mancha única en la porción ventral de la cola. "Camarón Blanco Occidental"
<i>P. stylirostris</i>	no	$\frac{7-8}{3-6}$ (7/4-5)					Periopodos azulados (patas para caminar). 2 manchas en la cola (una ventral, una dorsal). "Camarón Azul"
<i>P. vannamei</i>	no	$\frac{8-9}{1-2}$ (8/2)					La superficie de el carapacho no es lisa como en los juveniles de otras especies. Antena de color rojo. No tiene coloración en el telison o region del uropoda. "Patás Blancas"
<i>P. setiferus</i>	no	$\frac{4-10}{0-3}$ (8/2)					Coloración negra en el telison y uropodos. El rostro es largo, delgado, y algunas ocasiones en curvado hacia arriba. Dientes ventrales separados. "Blanco del Norte"
<i>P. schmitti</i>	no	$\frac{7-10}{1-3}$ (8/2)					Petasma sin cresta diagonal en el lóbulo lateral de la superficie interna de la sección distal. El tellico tiene crestas paralelas. "Blanco del Sur"
<i>P. duorarum</i>	si	$\frac{7-10}{1-3}$ (8/2)					Las ranuras de los seis somitos abdominales estan estrechos. "Rosado del Norte"
<i>P. aztecus</i>	si	$\frac{5-10}{0-3}$ (8/2)					La ranura media de la cara postrostral es large y profunda. Ranuras dorsolaterales amplias. "Cafe del Norte"
<i>P. brasiliensis</i>	si	$\frac{7-11}{0-3}$ (8/2)					Petasma con proyecciones largas; dobleces distales que penetran profundamente en el petasma. "Rojo Manchado"
<i>P. californiensis</i>	si	$\frac{8-9}{2}$					Estructura, similar a una silla, de montar en la porción del tercer segmento abdominal; la parte anterior del cuarto segmento del rostro esta recto. "Patás amarillentas"
<i>P. brevisrostris</i>	si	$\frac{8-10}{2-3}$					El ultimo diente ventral esta localizado anteriormente o al mismo nivel que el primer diente dorsal. Carina no es longitudinal al tellico. Rosado Oscuro. "Camarón Cristal"
<i>P. monodon</i>	si	$\frac{7}{-}$ (7/2)					Ranura (rostro) is más corta que en <i>P. semisulcatus</i> . "Tigre Gigante"
<i>P. semisulcatus</i>	si	$\frac{7}{2-3}$					Camarón multicolor. (Azul, rojo, amarillo en partes nataatorias) antena con una banda (obscura, clara). "Tigre Verde"
<i>P. indicus</i>	si	$\frac{5-7}{-}$					Carina gastroorbital posterior. 2/3 espina hepatica y angula orbital. Cresta del rostro es alta. "Blanco de India"

Las estructuras de los espermatóforos varían considerablemente entre los camarones de télico abierto y télico cerrado pero el apareo y los rituales de cortejo son similares entre los dos grupos. Los espermatóforos de los camarones de télico abierto son complejos.

EL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO (en Motoh, 1981): El sistema reproductor femenino consiste de un par de ovarios, un par de oviductos y un solo télico; los primeros son internos y el último es un órgano externo. Los ovarios están parcialmente fundidos, son cuerpos bilateralmente simétricos extendiéndose en la hembra madura por casi su largo total desde la región cardíaca del estómago hasta la parte anterior del telson (Figura 14-2 en la Página 28). En la región cefalotorácica el órgano tiene un fino lóbulo anterior y cinco proyecciones laterales similares a dedos. Un par de lóbulos, uno por cada ovario, se extiende a lo largo de el abdomen. Los lóbulos anteriores están cerca del esófago y la región cardíaca del estómago. Los lóbulos laterales se encuentran en la masa grande del hepatopáncreas y en posición ventral en la cámara pericardiaca. Las extensiones abdominales están en posición dorsolateral al intestino y ventral lateral a la arteria abdominal dorsal.

Los oviductos se originan en las puntas de los seis lóbulos laterales y descienden a las aperturas genitales externas escondidas en los lóbulos (en forma de orejas) de los coxópodos del tercer par de pereiópodos (Figura 15-2 Página 29 y Figura 14-3, Página 28).

El télico está localizado entre el quinto par de pleópodos y consiste en un par de placas laterales y anteriores (Figura 14-3, Página 28).

V. EXTIRPACION DEL PENDUNCULO OCULAR

En el camarón hembra, la producción y almacenamiento de la hormona que inhibe la gónada se encuentra en el pendúnculo ocular. Esta hormona inhibe la maduración de los ovarios. En la naturaleza algunos factores ambientales causan la disminución de esta sustancia conforme el camarón emigra de los estuarios a la zona costera donde normalmente desovan. La extirpación del pendúnculo ocular elimina, o por lo menos reduce, esta hormona inhibidora a un nivel donde la maduración completa de los ovarios puede realizarse.

Los camarones deben ser sometidos a la extirpación sólo cuando tienen el caparazón duro y nunca en las etapas de premuda (cuando la concha tiene manchas blancas) o postmuda (recién mudada o con concha suave). El procedimiento es el siguiente:

- (1) Sujéte el camarón delicadamente pero firmemente con una mano, preferiblemente en el agua. Solo las hembras son sometidas a la extirpación.
- (2) La extirpación se hace en cualquier ojo, el izquierdo o el derecho. Sin embargo, un ojo ya infectado o dañado deberá ser extirpado para dejar un ojo sano.
- (3) La extirpación puede ser hecha en cualquiera de las siguientes formas:
 - (a) Presión—Sujete el pendúnculo ocular situado detrás del ojo, entre el dedo pulgar y el índice. Presione duro y preñse entre el dedo pulgar e índice, frote los dedos, deshaciendo el pendúnculo ocular y exprima los contenidos de éste y los de el ojo. El objetivo es el de exprimir los contenidos hacia afuera y no permitirles que se introduzcan hacia la región de la cabeza. Se puede hacer una incisión en la parte delantera del ojo con un navaja filosa para ayudar en este proceso. Algunas personas prefieren este método, sin embargo, es unicamente cuestión de preferencias. Hemos encontrado que la incisión es innecesaria, y preferimos sujetar el camarón debajo de agua y hacer el proceso lo más rápido posible para minimizar el estrés.
 - (b) Ligamento—Un pedazo de hilo es amarrado alrededor de la base del pendúnculo ocular cerca del carapacho. El ojo deberá caerse en unos días (Primavera 1985).
 - (c) Cauterización—El pendúnculo ocular es extirpado por medio de electrocauterización o con una barra de nitrato de plata.
- (4) Para minimizar el estrés, la extirpación debe hacerse lo más rápido posible y puede hacerse en agua helada. Sin embargo, en criaderos comerciales la extirpación es usualmente realizada temprano en la mañana cuando la temperatura es muy baja. La mortalidad de la hembra debido a la extirpación es muy baja, pero se debe esperar alguna mortalidad.

El metodo por presión es el metodo preferido de extirpación. Puede hacerse por una persona y la herida sana rápidamente, sin requerir antibióticos. El ligamiento requiere de dos

personas, una para sujetar al camarón y la otra para que amarre el pedúnculo ocular. La cauterización requiere un cauterizador o una barra de nitrato de plata, los cuales no son fácilmente accesibles. El desarrollo de los huevos en algunas hembras debe ser visible tres días después de la extirpación y empiezan a desovar una semana después de la extirpación. El tanque debe estar en plena producción tres semanas después de la extirpación. Si las hembras son extirpadas durante la etapa de muda, estas madurarán y desovarán inmediatamente. Sin embargo, si son extirpadas durante la premudada temprana, mudarán antes de madurar. Algunos investigadores han logrado obtener desarrollo de huevos, apareo y desove sin la extirpación, manipulando la temperatura y el fotoperíodo, pero nadie ha todavía logrado establecer una operación comercial que sea productiva y rentable a largo plazo con este método.

Investigadores hasta ahora han tratado de caracterizar y aislar las hormonas involucradas en la maduración y ofrecer una esperanza futura para la eliminación de este paso tan necesario. El eliminar el proceso de extirpación puede también eliminar algunos de sus efectos secundarios (menos huevos fértiles y larvas por desove y animales recién nacidos "moribundos" después de tres meses) pero hasta que no se pueda eliminar con éxito la extirpación y reemplazarse con un mejor método, los criaderos deben depender de él para mantener la producción.

VI. ALGAS

Las algas forman un gran conjunto heterogéneo (con diferencias en estructura, forma, etc.) de plantas. Las características por las cuales pueden ser definidas son difíciles de especificar. En muchas de las llamadas algas simples, la organización de la célula es mucho más compleja que las de cualquier otra célula de las denominadas plantas superiores. Los procesos reproductivos pueden involucrar mecanismos vegetativos, asexuales y/o sexuales. Muchas poseen el atributo animal de motilidad y por su forma se categorizan como protozoa (animales unicelulares) hasta que ninguna distinción entre los grupos es posible.

Las algas tienen una larga historia de fósiles, algunos de ellos posiblemente extendiéndose hasta el origen de las plantas celulares fotosintéticas. Son generalmente consideradas como el grupo a partir del cual se originaron plantas más complejas. Morfológicamente (en forma y estructura) son plantas celulares que crecen como células individuales o agregaciones, aunque éstas todavía son relativamente indiferenciables en órganos y solamente en los géneros más complejos se encuentran tejidos conductores. Sin embargo, la gama de formas es vasta, desde células diminutas, de unos cuantos micrometros en diámetro, hasta las grandes algas marinas del Antártico, las cuales tienen metros de longitud y pesan tanto como árboles pequeños.

Aunque generalmente restringidas a un tipo de habitat óptimo, algunas especies se adaptan fácilmente a condiciones ambientales extremas. Algunas se encuentran en ojos de agua caliente, casi hirviendo (85°C). Otras se encuentran en la nieve. Aunque la mayoría habita en las capas superiores de el agua dulce y marina, algunas especies de algas rojas han sido encontradas a una profundidad de 600 pies, en el ecuador.

Las algas son el alimento natural para el camarón durante todas las etapas, menos la del huevo y la etapa nauplear. Durante la fase de crecimiento del camarón, se mantiene menos control del crecimiento de algas y la selección de especies es usualmente dejada al azar. Sin embargo, durante la etapa larval, los acuicultores seleccionan especies para cultivar basados en el criterio de acceso y el costo de cultivo (preferiblemente uno nativo al área) y de valor dietético para la larva que va a ser utilizada.

ESPECIES DE ALGAS

Tres especies de algas que son comúnmente utilizadas en el cultivo del camarón peneido y otros animales son: *Chaetoceros gracilis*, *Isochrysis* sp (Tahitian), y *Tetraselmis chuii*.

Chaetoceros gracilis: Hay muchas especies de *Chaetoceros* disponibles como comida para la larva de peneidos. *C. gracilis* es una diatomea marina centrica de vida solitaria. Tiene un esqueleto silíceo compuesto de dos valvas (conchas) las cuales se separan para formar dos

células nuevas durante la división vegetativa. Es de forma rectangular, midiendo de 4 a 6 micrometros sin incluir las setas (Figura 19 (c), Página 39). Las células son de color café dorado bajo el microscopio. Cuando se cultivan, la concentración de células determina el color, el cual varía de un amarillento dorado, en baja densidad, a un color café-marrón en densidades altas, arriba de 3×10^6 por mililitro.

La mayoría de las especies *Chaetoceros* son caracterizadas por su tolerancia a altas temperaturas en el agua. La temperatura máxima de crecimiento para *C. gracilis* es 37°C , con crecimiento óptimo en temperaturas con un rango entre 25°C y 30°C . El cultivo en masa de esta especie es generalmente llevada a cabo dentro de este rango. La salinidad mínima para su crecimiento es $6 \text{ }^\circ/\text{oo}$ pero puede crecer bien en salinidades de hasta $50 \text{ }^\circ/\text{oo}$ con crecimiento óptimo ocurriendo entre 17 y $25 \text{ }^\circ/\text{oo}$. El porcentaje de crecimiento del *Chaetoceros* es mejor bajo iluminación de 500 a 10,000 lux.

Tetraselmis chuii: Aunque considerados por algunos como el alga menos nutritiva (Enright, 1984) y un poco grande para ser ingeridos por las etapas tempranas de zoea, los *Tetraselmis chuii* son cultivados fácilmente y son un buen alimento para los zoea desde su segunda etapa en adelante. Es un flagelado verde de forma ovalada (capaz de moverse por sí mismo por medio del flagelo) midiendo de 10 a 15 micrometros de diámetro (ver Figura 19 [a], Página 39). Cuando es cultivado conforme la concentración de células se incrementa, el color verde se oscurece hasta que se alcanza una densidad máxima de aproximadamente 500×10^3 células por mililitro.

Los cultivos en masa de *Tetraselmis* crecen en el exterior a temperaturas entre 15°C y 33°C bajo condiciones de luz natural. La adecuada salinidad de el cultivo, en agua de mar natural varía entre 15 a $36 \text{ }^\circ/\text{oo}$ y en agua de mar artificial entre 22 a $36 \text{ }^\circ/\text{oo}$. Aunque mótil, la *T. chuii* tiene una tendencia a depositarse si no es aireada. Aquí, al igual que cuando el cultivo se contamina o "declina dramáticamente" las células se acomodan en una capa oscura en el fondo o lados inferiores del tanque.

Isochrysis sp (Tahitian): Esta es quizá una de las especies más fáciles de cultivar. Es un flagelado en forma de esfera o pera, color marrón, desnuda (una capa celular fina). El diámetro mide 3-5 micrómetros. Cuando la densidad aumenta, el cultivo cambia de dorado-amarillento a café-marrón con una densidad máxima de 3 a 7×10^6 células por mililitro.

La especie Tahitiana de *Isochrysis* prefiere temperaturas altas (hasta 30°C) y luz intensa. Esta especie no tan sólo tolera cambios ambientales sino que parece suprimir selectivamente el crecimiento de contaminantes indeseables (tal como bacterias). Como es mótil y capaz de dispersarse bien a través de la columna de agua, es generalmente aireada en los grandes recipientes de cultivo.

CARACTERISTICAS DE CRECIMIENTO: Antes de discutir las técnicas específicas utilizadas para el crecimiento de algas, necesitamos entender su dinámica de crecimiento. Se observa en la la Figura 20, Página 40, que el típico cultivo de fitoplancton crece en cinco fases. Al ser introducidas a un medio nuevo, las células que han sido tomadas de una muestra cualquiera, y que no se encuentren en la fase de crecimiento exponencial, no comienzan a crecer inmediatamente. Posiblemente requieren tiempo para adaptarse antes de reproducirse. A ésta se le denomina etapa latente.

Usualmente, después de varios días, se mueven a la deseada fase de crecimiento exponencial. En esta fase, el crecimiento es rápido, las células son más nutritivas para la larva y el cultivo parece resistir mejor la contaminación.

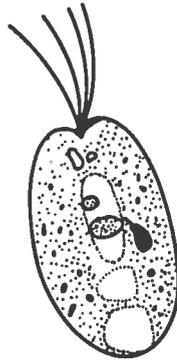
Sin intervención alguna, el cultivo se multiplicará hasta ser limitado por la luz y/o la nutrición, y el efecto de las toxinas disminuya posteriormente su crecimiento hasta detenerio completamente. Finalmente, estas limitaciones causan que el cultivo perezca o "decline dramáticamente". A la medida que las algas se deteriorán, éstas se vuelven más y más susceptible a la contaminación. Más aún, tienen un valor nutricional muy bajo y sus metabolitos pueden ser tóxicos para las larvas de los camarones.

PROCEDIMIENTOS PARA EL CULTIVO DE LARVAS: Mantenga un ambiente que favorezca el crecimiento de las algas y excluya a sus competidores. Para mantener las algas en la fase de crecimiento, utilice un "sistema de lotes". Transfiera el cultivo progresivamente a recipientes más grandes, permitiéndoles así más nutrientes y un medio fresco en el cual pueda crecer. Transfiéralos de los tubos de ensayo iniciales a frascos y luego a garrafones de 19 litros (ver Figuras 21, 22, y 23 en Páginas 41, 42, y 43, respectivamente).

Use agua de mar de aproximadamente 32 ‰ de salinidad. Para remover cualquier partícula grande o contaminantes, pase el agua a través de filtros de 1 (o 1/2 de micrón). Posteriormente, el agua puede pasarse a través de luz ultravioleta para matar la mayoría de las bacterias y otros contaminantes potenciales.

Los nutrientes son ahora mezclados en el agua. Las mezclas de nutrientes más utilizados son Erdschreiber's o Guillard's (F/2) pero otras mezclas variadas se pueden usar (ver *Journal of Phycology*, Vol. 14 Supplement 1978, the Culture Collection en la Universidad de Texas, disponible en el Departamento de Botánica, UT, Austin, Texas 78712). Un medio premezclado comercial de la Compañía Química Fritz, Dallas, Texas, también puede ser utilizado. Se pueden encontrar las instrucciones en la etiqueta. Ya que el silicato es requerido por los *C. gracilis* para la producción de las valvas y no tiene efectos negativos en las otras dos especies, es más sencillo añadirlo a todos los medios.

a.



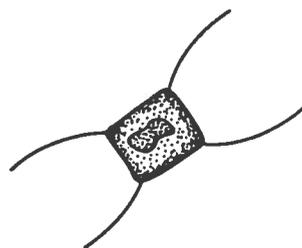
Tetraselmis sp. (10-15 μm)

b.



Isochrysis sp. (3-5 μm)

c.



Chaetoceros sp. (4-6 μm)

FIGURA 19. ALGUNAS ALGAS DE USO
COMUN EN LOS CULTIVOS

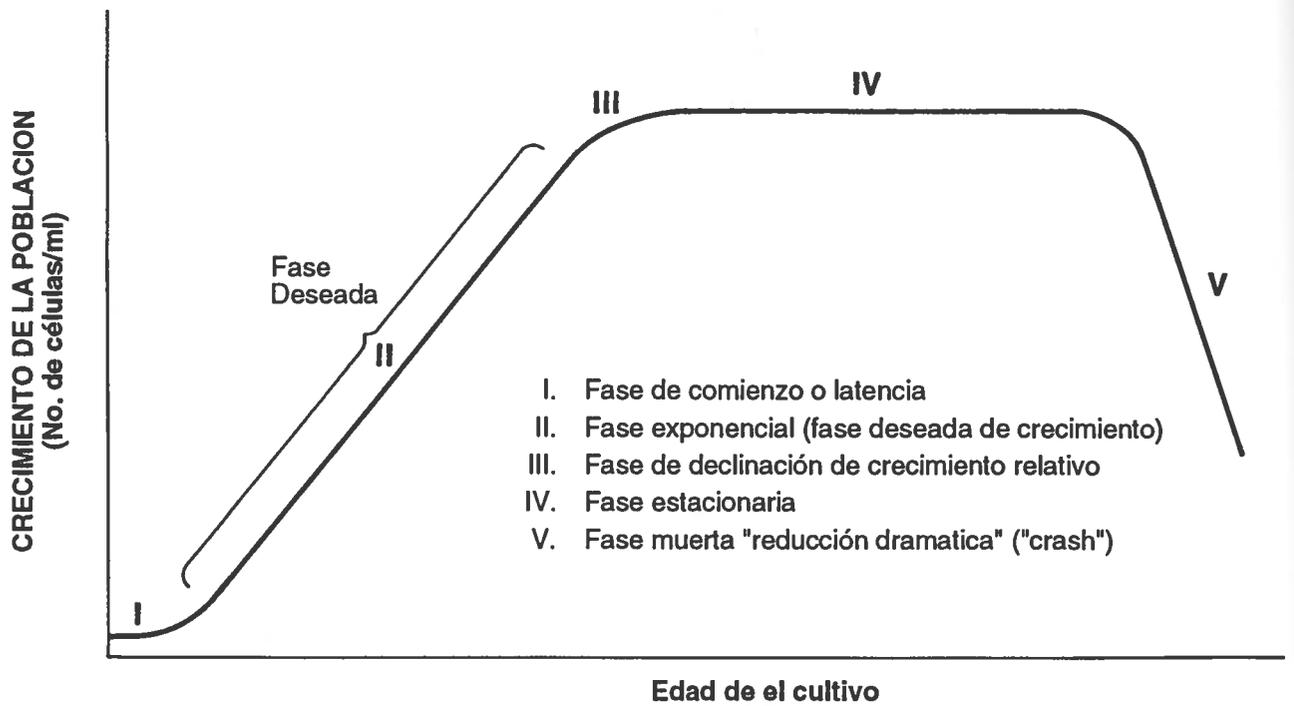
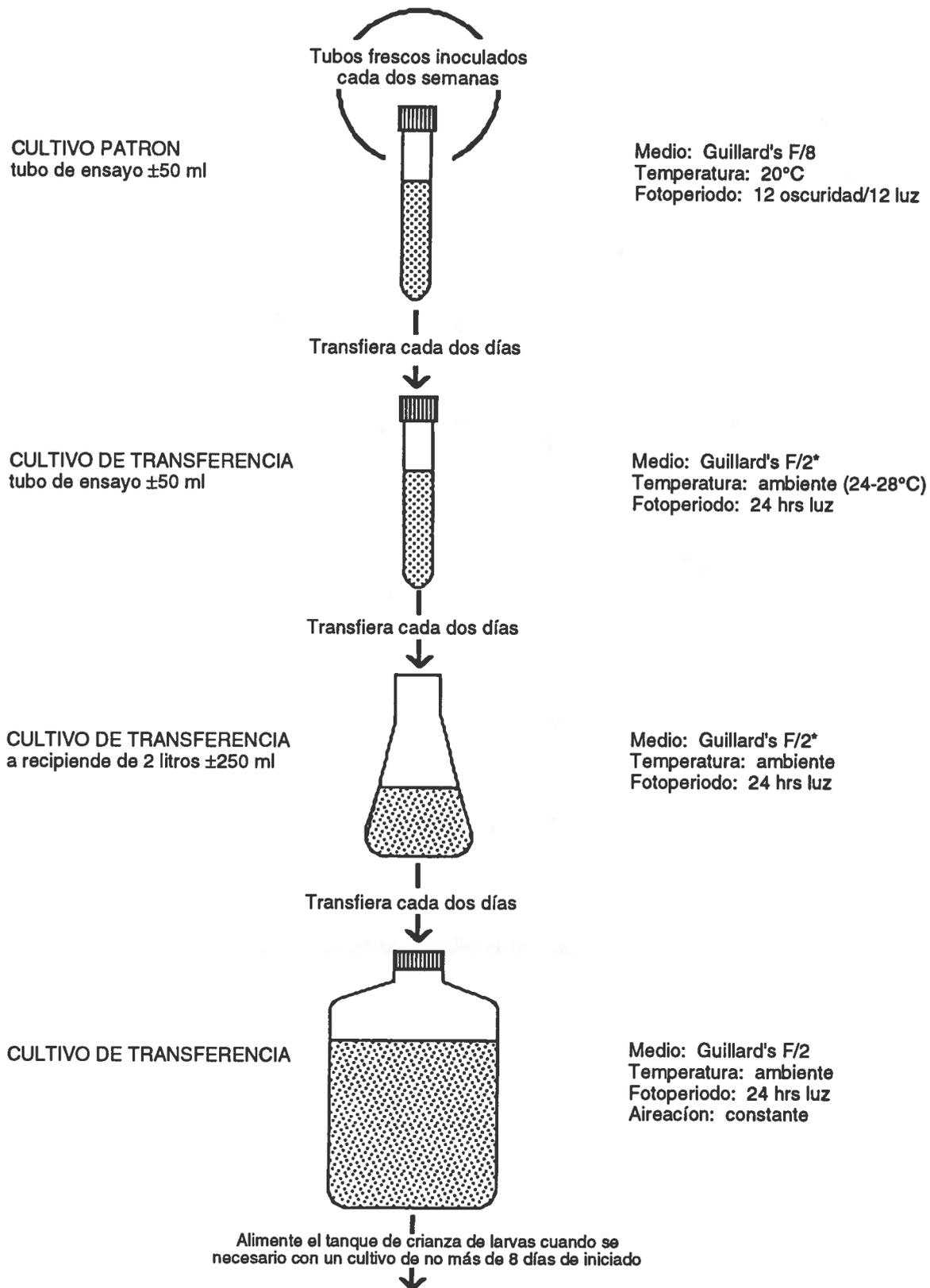


FIGURA 20. CRECIMIENTO TIPICO DE EL CULTIVO FITOPLANCTON



*NOTA: El medio Guillard F/1 es más rico, tiene 2 veces la cantidad de nutrientes por litro de agua de mar.

FIGURA 21: CICLO TIPICO USADO EN CULTIVO DE ALGAS

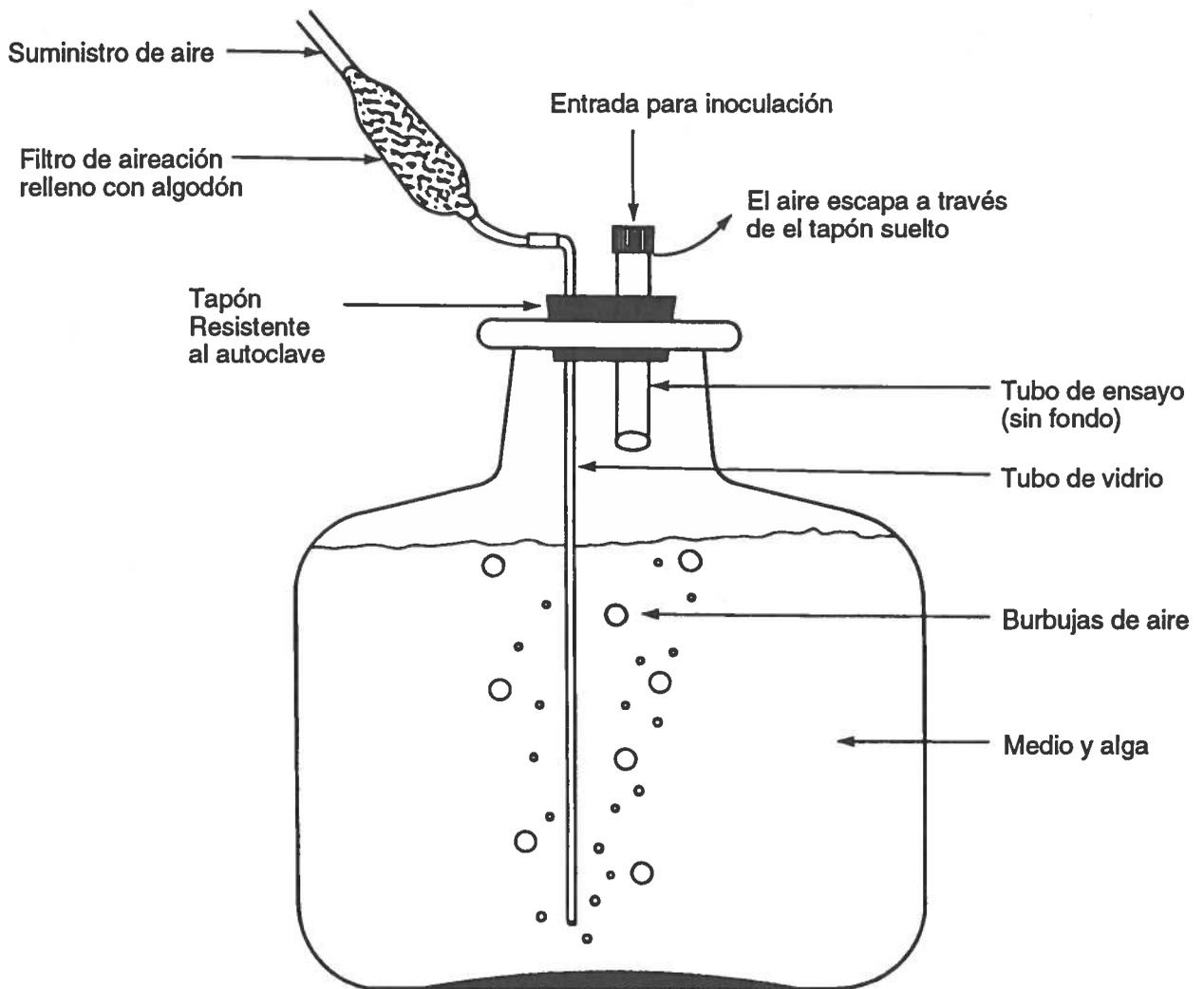


FIGURA 22. GARRAFON DE VIDRIO

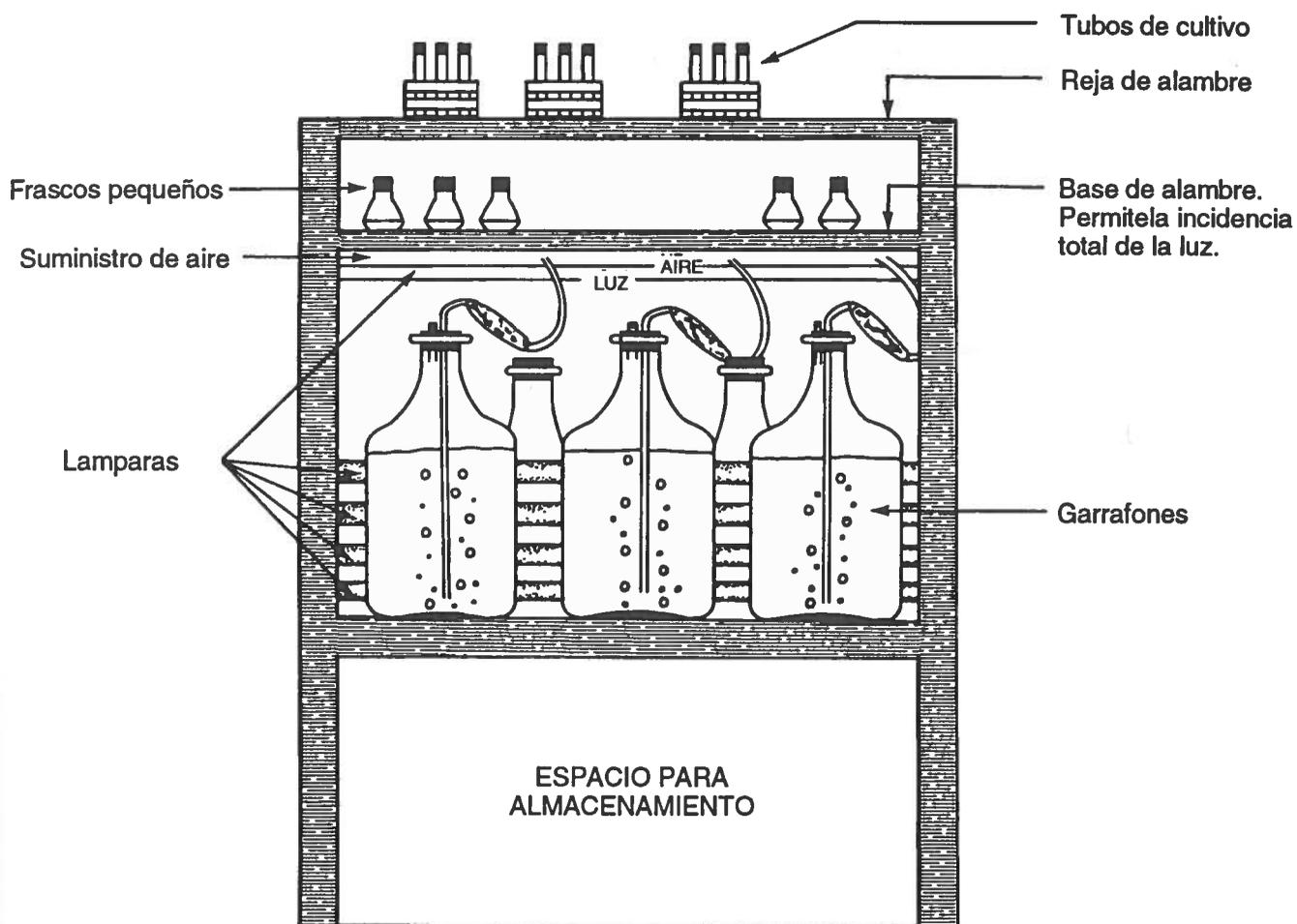


FIGURA 23. ESTANTE TIPICO DE CULTIVO DE ALGAS

Antes de añadir el medio a los recipientes de cultivo, es muy importante lavar y enjuagar los mismos minuciosamente. Algunos recomiendan que se remojen primero en H_2SO_4 .

El medio de cultivo para algas Guillard's F/2 consiste de macro nutrientes (nitrato de sodio, fosfato de sodio y silicato de sodio, metales traza y vitaminas mezcladas en agua. La composición por litro de agua de mar es la siguiente:

<i>Macro nutrients:</i>	$NaNO_3 = 75 \text{ mg}$	$NaH_2PO_4 \cdot H_2O = 5 \text{ mg}$	$Na_2SiO_3 \cdot H_2O = 30 \text{ mg}$ (Silicatos pueden ser omitados en otras especies que no sean diatomeas)
<i>Metales traza:</i>	$Na_2 \cdot EDTA = 4.36 \text{ mg}$ $ZnSO_4 \cdot 7H_2O = 0.022 \text{ mg}$ $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O = 0.0006 \text{ mg}$	$FeCl_3 \cdot 6H_2O = 3.15 \text{ mg}$ $CoCl_2 \cdot H_2O = 0.01 \text{ mg}$	$CuSO_4 \cdot 5H_2O = 0.01 \text{ mg}$ $MnCl_2 \cdot 4H_2O = 0.18 \text{ mg}$
<i>Vitaminas:</i>	Tiamina $\cdot HCL = 0.1 \text{ mg}$	Biotin = 0.5 μg ; B ₁₂ = 0.5 μg (microgramos)	

(El medio Guillard's F/1 enriquecido tiene el doble de nutrientes por litro de agua de mar.)

EJERCICIO II. IDENTIFICACION-TRANSFERENCIA Y CULTIVO DE ALGAS

INTRODUCCION: Los participantes serán capaces de seleccionar individuos de cada una de las tres especies bajo un microscopio. Además deberán de mezclar y esterilizar un medio para crecimiento y aseptícamente inocular este medio con alga para un cultivo de lote.

OBJETIVOS:

1. Identificar y observar algas bajo el microscopio
2. Preparar y esterilizar un medio de crecimiento para algas
3. Aprender transferencia aséptica y técnicas de inoculación
4. Inocular un medio para el cultivo de algas a partir de cultivos puros.

MATERIALES Y EQUIPO

- Muestras de cultivo de algas
- Rejilla con tubos de ensayo
- Pipeta o gotero
- Mechero bunsen o esterilizador, tripie y parrilla eléctrica
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Microscopio compuesto
- Extractor estéril (opcional)
- Materiales de limpieza, incluyendo agua destilada
- 1 litro de agua de mar filtrada
- Reactivos de el medio F/2 listos para agregarle al agua de mar
- Pipeta graduada con propipeta de ,1-2 ml
- Matrares Erlen-Meller de 2 litros
- Termómetro de 0°C - 100°C
- Tijeras
- Papel aluminio.

METODOS

- (1) (a) Asegúrese que todos los aparatos arriba mencionados y todas las superficies estén limpios y secos.
 - (b) Encienda el mechero y ajuste la llama.

(c) Mueva el tubo de ensayo para agitar la muestra. Asegúrese que el cultivo no entre en contacto con la tapa/tapón. Asegúrese que la tapa/tapón esté floja y regrese el tubo a la rejilla.

(d) Tome una pipeta estéril o gotero utilizando un par de pinzas y posteriormente manténgala entre el dedo pulgar y el índice, cubriendo con su dedo índice la parte superior.

(e) Sosteniendo el tubo en su mano izquierda, quítele la tapadera con el dedo meñique de la mano derecha (el dedo envolviendo la tapa/tapón).

(f) Coloque la boca del tubo en la flama y gírela.

(g) Sin dejar de sujetar la tapadera con el meñique, introduzca la pipeta o gotero en el tubo (sosteniéndolo con el dedo pulgar y los otros dos dedos de la mano derecha) y sáque una pequeña muestra, trate que la pipeta/gotero no toquen los lados interiores del tubo.

(h) Coloque la boca del tubo en la flama una vez más, atornille/presione la tapa/tapón ligeramente y regrese el tubo a la rejilla.

(2) La muestra del alga puede ahora ser transferida a un medio fresco para su posterior cultivo o a un portaobjetos para su inspección. Primero inspeccione las células bajo un microscopio.

(a) Deposite una o dos gotas de el medio en un portaobjetos.

(b) Inspeccione las células bajo el microscopio compuesto. Identifique las especies (si hay alguna) anotando el tamaño, forma, color y actividad de las células (vea una detallada descripción de tres especies en las Páginas 43 y 44). Revise si hay deterioro o contaminación. La contaminación es en la forma de partículas o células extrañas.

(3) (a) Para preparar el medio, agrégue 1 litro de agua de mar filtrada en un frasco de 2 litros.

(b) Agregue 1 ml de cada uno de los reactivos del medio F/2, limpiando la pipeta con agua destilada después de agregar cada reactivo.

(c) Cubra la boca del frasco con papel de aluminio y colóquelo sobre la hornilla o plancha eléctrica. Eléve la temperatura del frasco.

(d) Cuando las burbujas en el frasco comiencen a moverse, tome la temperatura y contiúe haciéndolo cada 2-3 minutos.

(e) Cuando la temperatura alcance 73°C, baje el calor para mantener la temperatura a 73°C por 10-15 minutos.

(f) Retire los frascos de la hornilla/plancha y deje que el medio se enfríe durante la noche.

(g) Repita los pasos (c)-(f) 24 horas después para completamente pasteurizar el medio.

- (4) (a) Para inocular el medio, utilice el medio que ha sido esterilizado de antemano y que se encuentre a temperatura ambiente.
- (b) Llène un frasco estéril de 500 ml hasta la mitad con el medio.
- (c) Agregue 50 mls de inóculo de alga (alternativa: agregue 250 ml de algas a 2 litros del medio).
- (d) Coloque los medios inoculados cerca de las lamparas y aplique aeración.

EJERCICIO III. CONTEO, MANTENIMIENTO Y ALIMENTACION DE ALGAS

INTRODUCCION: Los participantes usarán el hematocitómetro para contar algas en los recipientes de cultivo y tanque de crianza de larvas. Serán capaces de calcular el volumen de algas necesario para cada alimentación, también darán algas como alimento a las larvas en las cantidades correctas, y tratarán de mantener estos niveles de alimentación en los tanques de crianza.

OBJETIVOS

1. Contar el número de células de algas por ml en recipientes de cultivos y tanques de larvas.
2. Calcular el volumen correcto de alimento para los tanques de larvas.
3. Dar alimento a los tanques con larva y mantener un conteo correcto de algas en los tanques.
4. Mantener cultivos de algas y transferirlos a recipientes más grandes cuando sea necesario.

MATERIALES Y EQUIPO

- Mechero bunsen o mechero de alcohol
- Hematocitómetro y cubreobjetos
- Pipetas
- Microscopio compuesto
- Materiales de limpieza
- Medio de algas preparado
- Pipeta graduada con propipeta
- Cilindro graduado
- Recipientes de 19 litros para cultivos
- Solución Lugol de yodo

METODOS

(1) (a) Para contar alga no-motil, coloque el cubreobjetos sobre el hematocitómetro y utilice una pipeta limpia para verter el líquido a ser contado en la orilla del cubreobjetos (indentadura en forma de V). El líquido debe deslizarse bajo el cubreobjetos pero no debe inundar o fluir hacia a rendijas en el hematocitómetro.

(b) Para contar alga motil, coloque 5 ml de líquido a ser contado en el tubo de ensayo y añada unas gotas de la solución Lugol o un sustituto aceptable. Agite el tubo y siga el mismo procedimiento como en el inciso (a).

(c) Coloque el hematocitómetro bajo el microscopio con un objetivo 10 x u otro de similar aumento.

(d) Siga los pasos 6 y 7 de la Hoja Técnica I, Página 70 .

(2) (a) Después de haber obtenido los conteos en los recipientes de cultivo de algas y el TCL (en su caso) calcule el número de células o volumen necesario para alimentar la larva (tasas dadas en la Tabla IV, Página 69).

(b) Cálculos alimenticios (en Wilkenfield et al, Feb. 1986, manuscrito no publicado).

$$\text{Densidad deseada de células} - \text{Densidad residual de células} \times \text{volumen del TCL} \\ = \text{Número total de células que deben agregarse al TCL}$$

$$\frac{\text{Número total de células a agregarse}}{\text{Densidad de células en el tanque de cultivo masivo de algas (cells/ml)}} = \text{Volumen total (ml) de algas que deben agregarse de el tanque de cultivo de larvas para alcanzar la densidad alimenticia deseada.}$$

Estos cálculos deben ser hechos individualmente para cada especie de alga utilizada como alimento y para cada tanque de crianza de larvas. Anote el número de el tanque para el cultivo masivo de algas, la densidad de células y el volumen adicionado al TCL en la Hoja de Registro del TCL.

(c) Alimente los tanques con larvas, extrayéndolo la cantidad de agua que se va a adicionar antes de la alimentación.

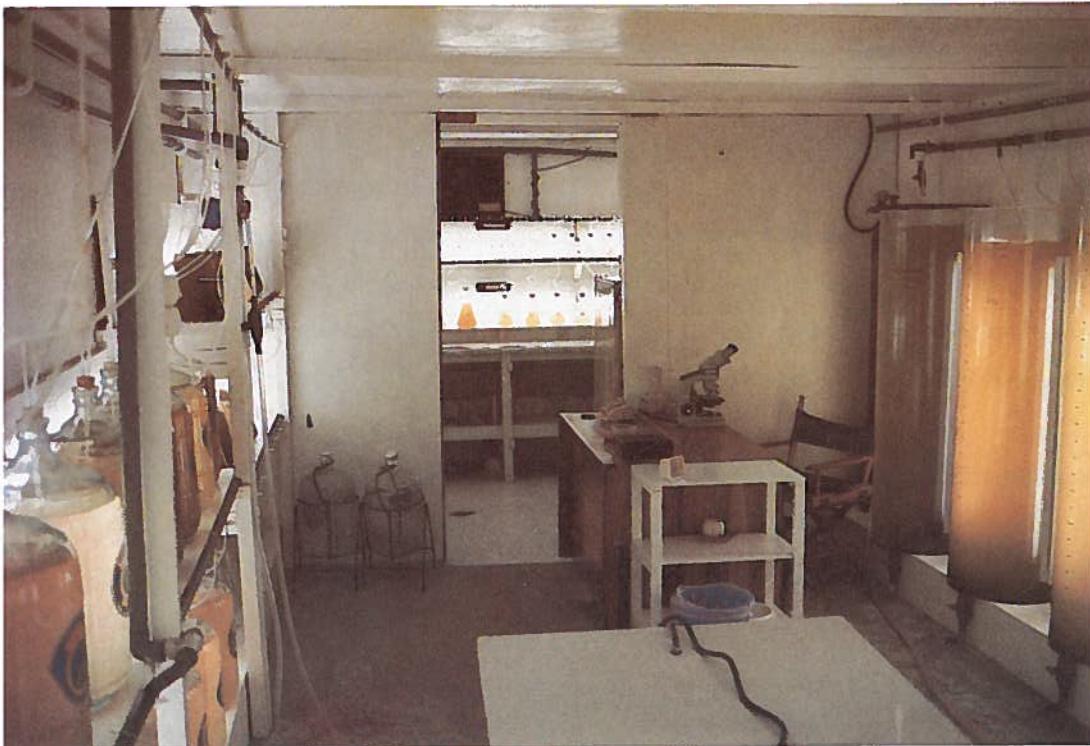
(3) (a) Mantenga y transfiera los cultivos de algas conforme sea necesario (como se describio anteriormente).

(b) Las concentraciones de algas como alimento dependen de 4 factores: densidad alimenticia deseada, densidad residual de células (no comidas), volumen del TCL y la densidad de células en el tanque de cultivo masivo de el cual se extrae el alga utilizada como alimento.

Un arreglo de un cuarto para el cultivo de algas puede ser observado en las Figuras 24, Página 50. Note la baja densidad de algas en los recipientes de color claro (amarillo a dorado) y las densidades más altas en los recipientes de color café oscuro o en el caso de *Tetraselmis*, verde oscuro. Observe también lo limpio y ordenado que está el cuarto.

FIGURA 24

TIPICO ARREGLO DE UN CUARTO PARA EL CULTIVO DE ALGAS



VII. ARTEMIA

Introducción (Treece y Wohlschlag, 1990)

Adultos de *Artemia* (camarón salobre) fueron descritos por primera vez por Schlosser a mediados de 1700. Seal (1933) y Rollefoen (1939) reportaron el valor de el nauplio de *Artemia* como alimento para pescado. Apartir de este reporte el uso de *Artemia* se incremento gradualmente.

El valor de la *Artemia* en la acuicultura se debe a sus características únicas de reproducción, desarrollo y fisiología (Sorgeloos and Personne, 1975). La *Artemia* tiene dos modos de reproducción: (1) ovovivíparo, cuando el nauplio madura en el ovisaco de la madre y nacen vivos, y (2) ovíparo cuando los embriones en la etapa de desarrollo llamada "gastrula" estan encerrados en una cápsula dura o quiste.

Los quistes deshidratados pueden ser guardados por meses o años sin perder la habilidad de producir huevos (Dutrieu, 1960). El quiste es de 200 a 300 micrometros de diámetro, dependiendo de la clase. Su capa externa está compuesta de un corión lipo-proteínico duro, de color café oscuro (Anderson et al, 1970). La extracción osmótica de agua, deshidratación por medio del aire o anoxia causa que el embrión enquistado entre a un estado de letargo o criptobiótico, durante los cuales los organismos muestran pocas o ninguna señal de vida. El estado critobiótico del quiste es admirable en cuanto a su habilidad de soportar condiciones ambientales extremas como una desecación completa, temperaturas sobre los 100°C o cerca a 0°, una alta radiación de energía y una variedad de solventes orgánicos (Clegg 1974). Sin embargo, sólo agua y oxígeno son requeridos para iniciar el desarrollo normal del embrión. Este largo estado de letargo hace de los quistes de *Artemia* una fuente accesible y continua de organismos para el operador de el criadero de camarón.

Geograficamente hay muchas variedades de *Artemia*. Más de 50 han sido reportadas en varios paises del mundo. Existen numerosos productores comerciales y distribuidores que venden marcas de diferentes calidades. El costo actual de quistes de buena calidad puede variar desde US \$26 a US \$68 por kilogramo. Cada gramo de quistes debe rendir de 200,000 a 300,000 nauplios.

Se piensa que el valor nutricional de el recién criado nauplio es influenciado por el nivel de lípidos y la composición de ácidos grasos. Esto puede ser altamente variable dependiendo de su origen geográfico o lote. La variedad de *Artemia*, asi como la dieta y el ambiente de los padres puede causar esta variación.

Dentro de 24 horas después de haber sido colocados en agua de mar a 28°C, el corión o la capa dura del quiste se rompe (ver Figura 25 (a), Página 55). El embrión, todavía rodeado por la membrana transparente donde se crió, es liberado (ver Figura 25(b) Página 55). El embrión se puede observar en movimiento dentro de la membrana. Pocas horas después, el nauplio se desprende de la membrana y nada libremente (ver Figura 25(c), Página 55) usando antenas modificadas para locomoción y filtración de alimento (Sorgeloos, 1979). El nauplio puede vivir a base del vitelo y reservas almacenadas hasta por 5 días (Olson, 1979) pero sus reservas proteínicas y calóricas disminuyen constantemente durante este tiempo (Benyts et al; 1976).

Es importante que la *Artemia* nauplio sea cosechada y dada como alimento a la larva de camarón en su forma más nutricional, i.e. inmediatamente a su salida de el cascarón. La práctica común de almacenar el nauplio en agua de mar aireada a temperatura ambiente (predominantemente en condiciones exteriores) resulta en una disminución continua de el contenido energético del nauplio. Técnicas para mejorar el valor nutricional de la *Artemia* nauplio están siendo desarrolladas pero no la discutiremos aquí.

No es posible utilizar toda la *Artemia* inmediatamente después de que salen del cascarón. Pueden ser almacenadas de 0°C a 4°C por 48 horas mientras la viabilidad permanece en un 90%. Para prevenir formación de espuma, no se debe exceder densidades de 1,000 al 1,500 por ml (1×10^6 al 1.5×10^6 quistes por litro o aproximadamente 5 gramos de quistes por litro). La aeración debe ser suministrada por medios alternativos al del filtro de piedra, y un agente antiespuma puede ser utilizado si es necesario. Una pipeta de vidrio conectada a los tubos de aire puede utilizarse. El peso del vidrio mantiene la pipeta abajo produciendo la expulsión de burbujas grandes.

Además de la disminución del valor nutricional (reducción del peso seco y contenido calórico) también hay problemas relacionados con el aumento en tamaño de la *Artemia* (crecen muy grandes para ser ingeridas por las mysis en sus etapas tempranas) y la velocidad al nadar (se vuelven muy rápidas para ser capturadas por las larvas). Es un hecho que la *Artemia* crecerá más rápido que el camarón, consumiendo más algas y produciendo metabolitos. En este caso, el operador del criadero temprana que dejar *Artemia* que no es útil como alimento debido a su dificultad de separación de el camarón.

Existen varios problemas asociados con el corión, o cascarón externo de los quistes de *Artemia*. Estos pueden contaminar el medio y/o la *Artemia* y larvas de camarón con bacteria. Este problema es resuelto al desinfectar los quistes (ver Ejercicio IV, Objetivo 2, Página 57 y Ejercicio V, Página 63).

Los cascarones en sí pueden causar ciertos problemas. A veces es muy difícil, especialmente con ciertas clases de *Artemia*, el separar el nauplio de los cascarones descartados.

Agregar sal al recipiente de incubación puede ayudar en esta separación sin causar daño al nauplio Instar I.

Los cascarones vacíos pueden ser portadores de bacterias, en especial si los quistes no han sido desinfectados antes de la incubación. También pueden obstruir el estomago de la larva de camarón. El nauplio de *Artemia* gasta energía y reservas, las cuales pueden ser pasadas a la larva de camarón, cuando emerge de el cascarón. La técnica de descapsulación (carbonato de calcio) puede ser utilizada para resolver todos estos problemas (ver Ejercicio V, Página 63). Con esta técnica los cascarones son eliminados químicamente antes de incubar los quistes. Además de eliminar todos los problemas mencionados, los quistes sin saco embrionario son inmóviles y más pequeños que el nauplio criado. Así pueden, por lo tanto, ser dados a las larvas de camarón como alimento en las etapas tempranas. En este caso, deben de mantenerse en suspensión por medio de aeración ya que de otra manera los quistes se hunden. Un ejemplo típico de criadero de *Artemia* puede ser visto en la Figura 26 en la Página 56.

FIGURA 25. ETAPAS DEL DESARROLLO DE *Artemia*
(en Treece & Wohlshlag, 1990)

a.



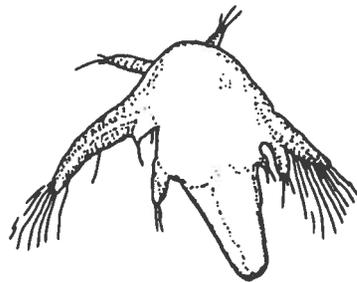
300 μ m
Pre-nauplio en etapa E-1

b.



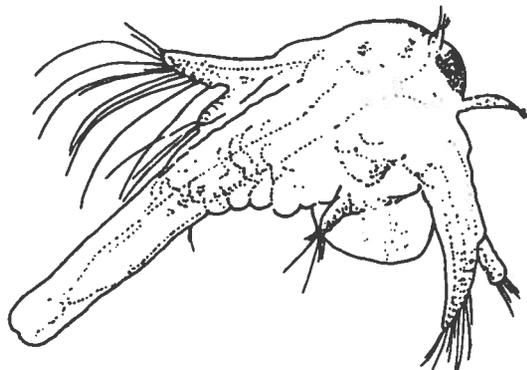
Pre-nauplio en etapa E-2

c.



Instar I recién eclosionada

d.



Instar V larva

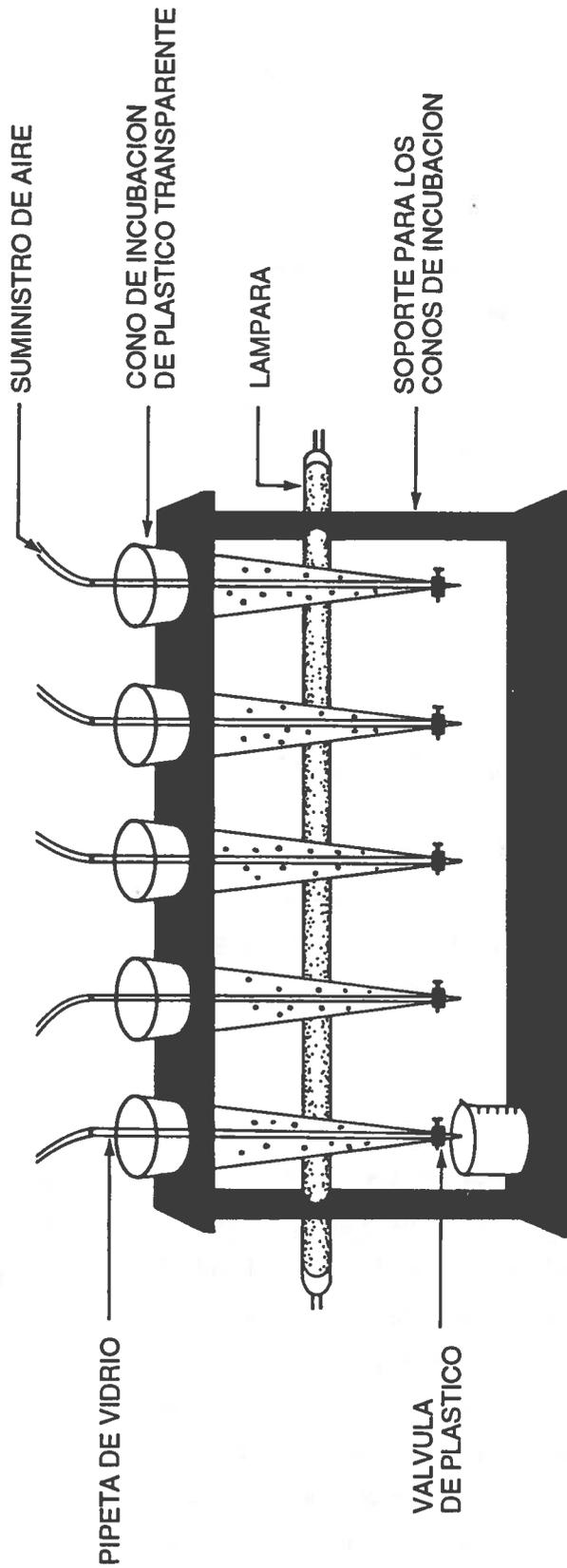


FIGURA 26. CONOS DE INCUBACION DE Artemia
(en Treese & Wohlshlag, 1990)

EJERCICIO IV. PREPARACION Y USO DE ARTEMIA

OBJETIVOS:

1. Determinar el peso de quistes de *Artemia* requeridos para alimentar las larvas en un tanque de volumen conocido.
2. Hidratar, desinfectar, incubar y separar *Artemia*
3. Contar el volumen de la *Artemia* nauplii por mililitro en el nuevo lote.
4. Calcular el número de nauplios de *Artemia* que permanecen en el tanque de crianza de larvas después una alimentación previa
5. Calcular el número de nauplios de *Artemia* requeridos por las larvas de camarón y su transferencia a los tanques de crianza de larva.

MATERIALES Y EQUIPO:

- Quistes de *Artemia*
- 2 vasos de precipitado de 250 ml
- Agua destilada
- Cloro (casero)
- 1 cono Imhoff de 1 litro (ver Figure 25 en Página 56)
- Aire comprimido
- Agua de mar o el equivalente (salinidad aproximadamente 32 ‰)
- Tubo para sifón, aproximadamente 4' 0" de largo, o una válvula en el fondo del cono (ver Figura 26 en Página 56)
- Pipeta de 1 ml
- Pipeta de 10 ml

METODOS:

(1) **Determinar la cantidad de quistes de *Artemia* requeridos:** Las larvas de camarón son primeramente clasificadas. Sus requisitos diarios por ml de *Artemia* son estimados usando los valores tabulados en la Tabla II, Página 23. Esta cantidad de alimento se puede modificar ligeramente dependiendo de la densidad de larva (número de larvas por litro) y la tasa a la cual la *Artemia* es consumida. El total requerido es calculado al multiplicar los valores tabulados por mililitro por el volumen total de los TCL. Sabemos que cada gramo de quistes contiene aproximadamente de 200 a 300 mil quistes, lo que permite estimar con seguridad un 50% de maduración (la experiencia con distintas marcas le permitirá ajustar estos calculos).

Como un ejemplo, asuma que usted encuentra que su larva está en la subetapa Mysis 2. Sabemos que en 24 horas, cuando la *Artemia* haya salido del cascarón, la larva estará en la

subetapa M3. La Tabla II, Página 23, muestra que la larva de camarón requiere 6 *Artemia* nauplios por ml.

Usted desea alimentar 10 TCLs, cada uno teniendo un volumen de 16 litros.

El nauplio requerido es por lo tanto: $6 \times 10 \times 16,000 = 960,000$ nauplios.

Si usted asume que eclosionarán un 50% de nauplios, usted requiere $960,000 \times 2 = 1,920,000$ quistes.

Más aun, asuma que un gramo contiene 250,000 quistes. Por lo tanto, requerirá el siguiente peso de quistes: $1,920,000/250,000 = 7.68$, aproximadamente 8 gramos.

No se aconseja incubar más de 5 gramos por litro de agua, ya que esto puede causar la producción de espuma. Así, por lo tanto, seleccionamos dos conos Imhoff, de 1 litro, usando 4 gramos por litro en cada uno.

Como fórmula:

$$\begin{array}{l} \text{Peso de } Artemia \\ \text{Quistes requeridos} \end{array} = \frac{\text{total de volumen de todos los TCL's en ml} \times \text{No. de } Artemia \text{ requerida por ml}}{\text{Porcentaje de la tasa de eclosión} \times \text{No. de quistes por gramo}}$$

(2) **Desinfectar:** Remoje los quistes por una hora en 80 mls en una solución de 20 °/° de hipoclorito/agua potable (aproximadamente 50 mls solución por 5 gramos de quistes). Esto se puede lograr al añadir 4 ml de clorox casero a 10 litros (un poco más de 2 galones 1/2) de agua, lo cual es suficiente para dos libras de quistes. Para ahorrar tiempo, también se puede remojar por veinte minutos en una solución de 200 °/°. Los quistes deben ser aereados para asegurar que todos los quistes sean expuestos al desinfectante. Lave los quistes en agua potable en un colador de 100-200 µm. La incubación puede proceder ahora.

Incubación: Los 8 gramos de quistes desinfectados deben ser transferidos a conos Imhoff de 1 litro, los cuales de estar con 1 litro de agua de mar de aproximadamente 32 °/° de salinidad y una temperatura de 25°C por 24 horas. Algunos criaderos usan agua de mar diluida aproximadamente en 16 °/° de salinidad, porque se piensa que menos energía es requerida para que el nauplio emerja del quiste a una salinidad más baja. Se provee iluminación constante a una intensidad de aproximadamente 2,000 LUX por medio de una lampara fosforescente. Aeración vigorosa, suministrada a los conos Imhoff a través de un tubo mantenido en el fondo por una pipeta de vidrio colocado al extremo terminal, asegura que los quistes sean mantenidos en suspensión y no fuera del alcance de la iluminación.

Separación: Después de 24 horas de incubación, la mayoría de quistes han eclosionado. La aeración debe ser retirada.

El nauplio de color rosado-anaranjado se verá nadando en grupos simulando "nubes". Los cascarones vacíos tienden a flotar, mientras que los quistes no eclosionados y otras partículas se hunden. Si no se toca el cono por 5 minutos los nauplios se concentran en el fondo. La válvula localizada en el fondo del cono se abre para eliminar primero partículas sedimentadas y posteriormente para capturar los nauplios recién eclosionados. También un tubo puede ser usado como sifón para remover las partículas y los nauplios en la misma secuencia. Los nauplios son vertidos a un vaso de precipitado graduado. Si es necesario, pueden ser lavados usando un colador de 100-200 μm y agua de mar para ser colocados nuevamente en el vaso.

(3) **Para contar la *Artemia* incubada:** El nivel del agua marina en el vaso, conteniendo en forma concentrada el nauplio recién eclosionado debe ser llevado a volúmenes fáciles de manipular como lo son 100 ml. El nauplio es continuamente mezclado, mientras se toma una muestra de 1 ml con una pipeta y se deposita en otro vaso. El contenido de este vaso es incrementado añadiéndole 100 mls de agua destilada. El nauplio ha entonces sido diluido a 1:100 de su concentración original. Se le debe agregar ahora el colorante Lugol para matar la *Artemia*. Mezclándolo nuevamente se toma una muestra con una pipeta de 1 ml. Esta se observa a contra luz para contar el número de *Artemia* entre dos graduaciones principales. Esto da la concentración del nauplio en 0.1 ml de la dilución (H). Ahora, el número contado debe ser multiplicado por diez, para obtener el número de *Artemia* en un ml, y multiplicado por el factor de dilución (100) para calcular el número de *Artemia* por ml en el vaso de precipitado original. Para obtener el número total de *Artemia* en el vaso deprecitado multiplique la concentración por ml por el volumen del vaso en mls. Esto da como resultado la concentración de *Artemia* por mililitro del vaso original de 100 ml.

Como fórmula:

Número de *Artemia*/ml concentrados en vaso de 100 ml es (G) = H x 1,000

(Ver Figura 27 en Página 62).

(4) **Para calcular el número residual de *Artemia* en el TCL:** Se sigue un procedimiento similar para determinar el número de *Artemia* que se permanece en el TCL después de alimentaciones previas. Una muestra de aproximadamente 100 ml es sacada de el TCL y vertida a un vaso de precipitado. La *Artemia* se mata con la adición Lugol. El mismo procedimiento de conteo y cálculo se sigue como se menciona arriba, excepto que no se hace dilución alguna.

Por tanto, la fórmula se modifica:

Concentración de *Artemia* por ml [I] = número por 0.1 ml (J) x 10

Otros métodos de muestreo pueden ser usados. Estos incluyen el uso de una pipeta Hensen-Stemple o algún otro sistema con pipetas automáticas con una apertura grande para no limitar la entrada de animales (Ver Figura 28, Página 62).

(5) Para calcular el número de *Artemia* para alimentación: La subetapa de la larva de camarón es determinada (ver Figura 9 y 10 en Páginas 16 y 18) y utilizada para calcular la cantidad total de *Artemia* requerida por cada ml de TCL (K) (ver Tabla II en la Página 23). Al restar de este número de *Artemia* por ml en el tanque, se encuentra la cantidad neta por ml que debe ser agregada; i.e., la cantidad de *Artemia* que debe agregarse (L) = K - J. Cuando se multiplica por el volumen del tanque en mls, encontramos el número total requerido por tanque (M). Esto debe ser dividido por el número de nauplios por ml en nuestro lote fresco de *Artemia* (G) para calcular el volumen en ml a transferirse al TCL.

El cálculo es sencillo con la siguiente fórmula:

$$V = \frac{(K-H \times 1.000 \times M)}{10 \times J}$$

Donde:

V es el volumen de la nuevo lote de *Artemia* (G) para ser transferido al TCL;

H es el número de nauplios contado en la muestra 0.1 ml de la dilución 100:1 en el lote fresco;

J es el número de nauplios contado en la muestra de 0.1 ml, tomado del TCL;

K es el número de nauplios por ml requerido por la larva de camarón en el TCL (Ver Tabla II, Página 28); y

M es el volumen (en ml) del TCL.

El volumen requerido de *Artemia* recién eclosionada se toma de el vaso, mientras se agita continuamente y se le da como alimento a la larva de camarón. Para esto se debe usar una pipeta de 10 ml.

Una fórmula general para los cálculos de *Artemia* es la siguiente (del Wilkenfeld et al., 1986 manuscrito no publicado).

$$\begin{array}{rcl} \# \text{ deseado de } Artemia & & \text{Número residual de } Artemia \\ \text{(Nauplios/ml)} & - & \text{en TCL} \\ & & \text{(Nauplios/ml)} \\ & & \times \\ & & \text{Volumen TCL} \\ & & \text{(ml)} \\ & = & \# \text{ de } Artemia \text{ adicionado al TCL} \end{array}$$

Formula alternativa:

$$V = \frac{(K-I) \times N}{G}$$

V = Volumen total de *Artemia* recién eclosionada que debe agregarse al TCL

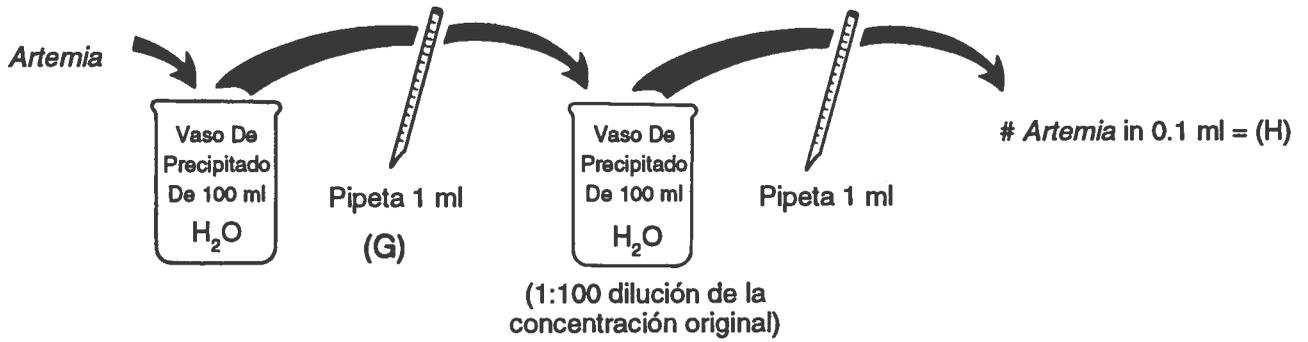
K = *Artemia*/ml requeridos in el TCL (dependiendo del estadio larval)

I = *Artemia*/ml residual in TCL

N = Volumen de el TCL

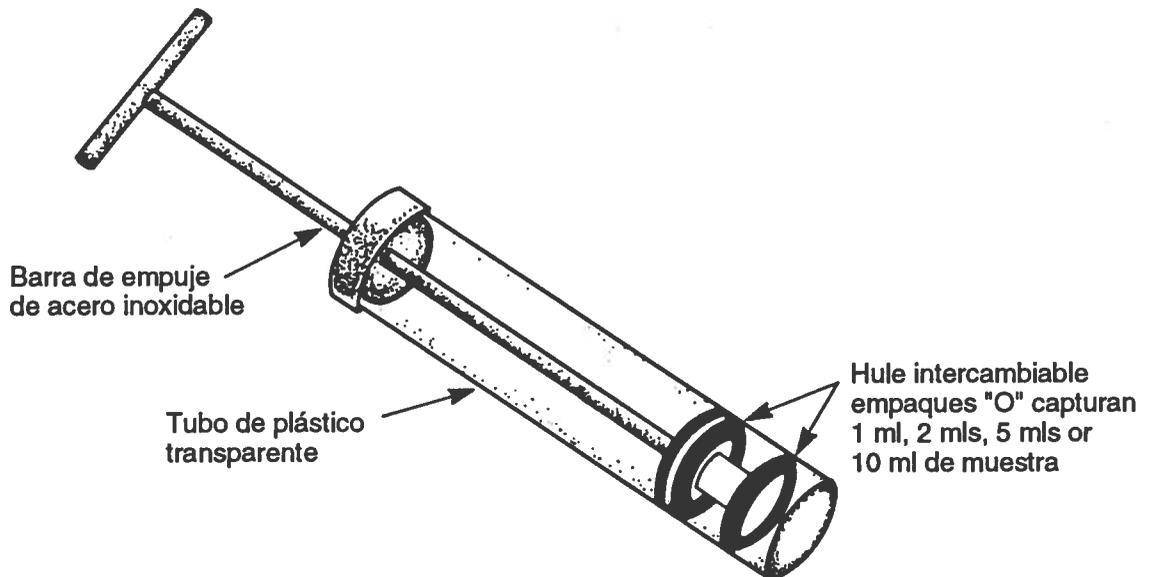
G = *Artemia*/ml en el vaso de precipitado (100 ml) original (densidad inicial)

FIGURA 27
CONTANDO LA *Artemia* CONCENTRADA



$$(G) = (H) \times 1,000$$

FIGURA 28
PIPETA HENSEN-STEMPLE



EJERCICIO V. REMOCION DEL SACO EMBRIONICO (DESCAPSULACION) DE LA ARTEMIA

OBJETIVO:

Remover los sacos embriónicos de los quistes de *Artemia* para su incubación.

MATERIALES Y EQUIPO:

- Quistes de *Artemia*
- Agua destilada
- Agua de mar o su equivalente (con salinidad de aproximadamente 32 ppt)
- Cloro (casero)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- 0.1 N ácido clorhídrico. Frasco de aproximadamente 1 litro
- Colador de 100-120 μm
- Molde redondo de vidrio para pie
- Agitador magnético, con agitador recubierto de plástico.

METODOS:

Remoción del saco embriónico ("descapsulación"):

(1) Pese los quistes y colóquelos en un frasco. Hidrátelos con agua destilada o potable por 1 hora.

(2) Vierta los quistes en un colador de 100-200 μm , enjuague en agua potable y déjelos escurrir.

(3) El agua de mar (10 ml por gramo de quistes) y el mezclador recubierto de plástico debe ser colocado dentro del molde de pie sobre el mezclador magnético. Cuando a grandes cantidades de quistes se les remueve el saco embriónico, NaOH debe ser usado para prevenir que se acumule el calor. El NaOH es añadido al agua de mar a una velocidad de 150 mg por gramo de quiste y se permite que se disuelva. El hielo es colocado en la solución para mantener la temperatura bajo 30°C. Los quistes son vertidos del colador al molde, después de haber sido enjuagados y los últimos son lavados hacia adentro del molde con clorox, a 5 ml de clorox por gramo de quistes. Con la adición del cloro (blanqueador), la reacción ("descapsulación") comienza.

(4) Lentamente cambie la velocidad del mezclador y póngalo lo más rápido posible, sin que salpique.

(5) Vigile la solución cuidadosamente. Una capa de espuma blanca se desarrollará y la solución cambiará de café a naranja claro. Esto debe tomar aproximadamente 6 minutos. Cuando ya no se observe ningún cambio de color, el proceso de "descapsulación" está terminado.

(6) Inmediatamente vierta los contenidos del molde de pie a través de un colador de 100-120 μm , sobre el lavadero y lave los quistes completamente con agua potable. Se debe continuar lavando por unos 10 minutos hasta que no se detecte olor a cloro.

(7) Ponga los quistes en un vaso de precipitado y agréguele suficiente 0.1 N HCl para lavar los quistes, por *no más de* 30 segundos. Esto neutralizará cualquier residuo de cloro.

(8) Vierta los quistes nuevamente en el colador y lave por 3 minutos.

Los quistes están ahora listos para la incubación. Este procedimiento debe ser llevado a cabo como está indicado en el Ejercicio IV en la Página 57 (incubación).

ADVERTENCIA: SE DEBE TENER SUMO CUIDADO CON EL CLORO Y EL ACIDO CLORHIDRICO, LOS CUALES SON CAUSTICOS Y PUEDEN CAUSAR DAÑO, EN PARTICULAR A LOS OJOS.

VIII. ENFERMEDADES LARVALES

(Liao, 1984)

En el período inicial del desarrollo de la industria del camarón, comida inapropiada e insuficiente, resultando en una nutrición de calidad inferior y subalimentación, eran las causas primordiales de la mortalidad de la larva. Ocasionalmente, ocurrían enfermedades e infecciones no letales o con alta mortalidad causadas por protozoarios, pero no se detectaba ninguna enfermedad larval o alta mortalidad, por lo que ningún artículo fue escrito acerca del tema. En contraste, desde que el cultivo de peneidos se volvió popular y rentable en años recientes, los criaderos están sobrepoblados con larvas y esto generalmente está acompañado por la presencia de enfermedades. La enfermedad de el hepatopáncreas ha sido reportada en *P. japonicus* (Shigueno, 1985) al igual que la infección *Lagenidium* en todos los peneidos (Couch, 1942, Cook, 1971, Lightner y Fontaine, 1973; Hightner 1977; Lightner y Redman, 1981, Lightner, 1983) *Baculovirus penaei* (BP) enfermedad en *P. aztecus*, *P. duorarum*, *P. setiferus*, *P. stylirostris*, y *P. vannamei* (Laramore, 1977, Couch, 1978; Overstreet, 1978) y recientemente necrosis baculoviral de el hepatopáncreas (BMN) en *P. japonicus* (Sano et al, 1981) monadon baculovirus (MBV) la enfermedad en *P. monodon* (Hightner and Redman, 1981; Hightner, 1983) y finalmente necrosis infecciosa hipodermal y hematopéctica (IHHN) en *P. stylirostris* y *P. monodon* (Hightner, 1983) todas han probado ser una amenaza muy seria a los negocios de criaderos. Todavía no se sabe si el MBV es una enfermedad importante. La Tabla III en las Páginas 67 y 68 (de Fox, 1987) resúme las enfermedades principales de los peneidos en las etapas larval y postlarval y los tratamientos correspondientes.

Se cree comúnmente que las enfermedades pueden aumentar en variedad y ocurrencia a medida que pasa el tiempo, en especial, las enfermedades causadas por virus. Actualmente, sólo 4 enfermedades virales son identificadas en la larva peneida, pero es probable que se encontrarán más. Es de primordial interés el prevenir las enfermedades y reducir el efecto devastador en las larvas para prevenir grandes pérdidas. La enfermedad MBV muestra sus efectos letales sólo cuando están combinados con síntomas serios de otras enfermedades. Es cierto que el proveer a la larva infectada con MBV un ambiente y alimentación adecuados se le protege de otras enfermedades y obtienen así un crecimiento normal. En el presente, se sabe que existe MBV en Taiwan, Indonesia y las Filipinas, pero se desconoce la extensión en otras áreas. Siendo un virus enzoótico, el MBV debe ser erradicado. Para evitar que se continúe esparciendo se debe implementar una cuarentena estricta y se debe quemar la larva infectada (Hightner, et al., 1983).

En resumen, para controlar una enfermedad el concepto de prevención es más importante y efectivo que la cura. El reducir el estrés causado por el exceso de densidad de larvas y llevar a

cabo cuarentenas son tan necesarios, como el continuar las investigaciones sobre los virus y determinar la etología de otras enfermedades.

Se recomienda que usted identifique la enfermedad por medio de un exámen microscópico y la compare con alguna publicación que tenga figuras y fotografías de las enfermedades tales como el **Manual Sobre Enfermedades del Camarón** (Johnson, 1978) **Enfermedades de Camarones Peneidos** (CRC, 1983). Una vez identificada la enfermedad, use el tratamiento recomendado por Lightner o uno de los tratamientos que aparecen en la Tabla III en la Página 67.

Un ejemplo sobre un régimen alimenticio para un cultivo de larva y de un plan de prevención de enfermedades, puede ser observado en la Tabla IV de la Página 69. Este régimen y plan han tenido éxito en un criadero comercial *P. monodon* en Indonesia, actualmente operando como un criadero modelo en la Isla de Java.

TABLA III
ENFERMEDADES ENCONTRADAS EN LAS ETAPAS DE DESARROLLO DE LA
LARVA PENEIDA Y SUS METODOS DE CONTROL (en Liao, 1984).

Enfermedad	Partes Afectadas	Síntomas	Tratamiento		Etapa de Vida Afectadas*	Referencias
Bacteria						
Necrosis bacterial	Apéndices	Aparecen como una necrosis localizada ó de coloración en cualquier apéndice causando una alta mortalidad de estadíos zoea y mysis, afecta a las postlarvas en un menor grado.	Furnace Erythromycin Achromycin	1.1 ppm 1.5 ppm 1.2 ppm	Z1 M1 PL	Tareen, 1982 Lightner
Infección por vibrio	Hemolinfo Hepato-pancreas	Presenta estadíos iniciales de alguna forma, algunas larvas muestran colores rojo y amarillo-rojizo distribuyéndose por todo el sistema nervioso. Otras formas exhiben "Hígado blanco-turbio" donde el hepato-páncreas de las larvas cámbian generalmente a blanco-turbio. La turbidez llega a ser más aparente y mejor definida conforme la enfermedad progresa.	Furazolidone Teramycin Furnace	2.0 ppm 450 mg/kg biomass 1.3 ppm	PL	Nickelson and Vanderzant, 1973 Lewis, 1973 Shigueno, 1975 Johnson, 1978 Cipriani, et al., 1980
Bacteria filamentososa	Branquias, pleópodos	Comunmente se encuentran adheridos a los filamentos de las branquias y los pleópodos, cambian a un color negruzco cuando la bacteria se mezcla con suciedad. Si son afectados severamente, la función respiratoria de las branquias es dañada.	Citrine plus Malachite green Potassium permanganate Cuprous chloride	0.5 ppm 10 ppm 8.5 ppm 1.0 ppm	PL	Delves-Broughton and Poupard, 1976 Streenbergen and Schapiro, 1976 Johnson, 1978 Solangi, et al. 1979 Tareen, 1982 Lightner, 1983
Enfermedad del cascaron	Exoesqueleto, músculos	Si son infectados con bacterias <i>chitinoverous</i> el exoesqueleto muestra areas erosionadas de color negruzco. También la bacteria puede entrar rápidamente al cuerpo a través de heridas superficiales y causar daño interno.	Malachite green and Formalin combined	0.9 ppm 22 ppm	PL	Cook, 1973 Delves-Broughton and Poupard, 1976 Johnson, 1978 Tareen, 1982 Lightner, 1983
Enfermedad negra de las branquias	Branquias	En los estadíos iniciales, la branquia adquiere un color anaranjado-amarillo pálido ó café claro, en estado avanzado, el area se oscurece hasta que está totalmente negra.	Malachite green Methylene blue	3.0 ppm 8-10 ppm	PL	Shigueno, 1975 Tareen, 1982
Hongos						
Infección por lagenidium	Cavidades del cuerpo, apéndices	Solamente camarones con cutícula delgada pueden ser infectados, por lo que las larvas de camarón son altamente sensitivas. La hypha aparece adentro del cuerpo de la zoea y continúa hasta el estadio mysis, lo que resulta en una destrucción muscular masiva y una alta mortalidad de zoea y mysis.	Treflan® Malachite green	0.1 ppm 0.01 ppm	Z1	Hubschaman and Schmitt, 1969 Lightner and Fontaine, 1973. Lightner, 1977 Johnson, 1978 Gopalan et al., 1980 Tareen, 1982 Lightner, 1983

TABLE III. (cont.)

Enfermedad	Partes Afectadas	Síntomas	Tratamiento	Etapa de Vida Afectadas*	Referencias
Protozoarios Ectocomensales					
Infección por ciliados (<i>Zoothamnium</i> sp. <i>Epistylis</i> sp.)	Branquias, ojos exoesqueleto	Una alta infestación por <i>Zoothamnium</i> sp. en las branquias y ojos de las larvas resulta en una alta mortalidad. <i>Epistylis</i> sp. parece preferir el exoesqueleto como una superficie para adherirse y es menos dañino. Cuando ambos se encuentran en abundancia en la superficie de las branquias, pueden causar hipoxia y muerte. Además, su presencia en la superficie del cuerpo en general puede interferir con la locomoción, alimentación, muda, etc. La parasitación aumenta hasta que el ecdysis provee alivio.	Malachite green and Formalin combined Quinacrine hydrochloride Chloramine-blue Methylene blue Saponin 10%	1.0 ppm 25 ppm 0.8 ppm 5.5 ppm 8.0 ppm 5.0 ppm	Z M PL Tareen, 1982 Lightner, 1983
Virus					
Baculovirus peneidos (BP, MBV, BMN, Pb)	Hepatopáncreas, Intestino medio anterior	Baculovirus peneidos infectan las células epiteliales de el hepatopáncreas y, en menos intensidad, el intestino medio anterior causando una alta mortalidad en los estadios postlarvales.			PL Johnson, 1978 Sano, et al., 1981 Lightner, 1983 Lightner, et al., 1983 Couch, 1974 Lester et al., 1987 Overstreet, et al., 1988 Chen & Kou, 1989 Bueno, et al., 1989
Necrosis infecciosa hypodermal y hematopoiética (NIHH)	Hypodermis, Organos hematopoiéticos	El camarón que muere de NIHH aguda muestra una destrucción masiva de la hopodermis cuticular y a menudo de los órganos hematopoiéticos, de las células gangliares en el nervio central, y la pérdida de tejidos conectivos tales como el subcutis y el intestino seroso. Solo el camarón con un rango de tamaño entre 0.005-1.0 g ha mostrada infección de estos epizooticos, lo cual resulta en mortalidades masivas (a menudo entre 80 y 90% a partir de 2 semanas de iniciada la infección).			PL Lightner, 1983
Virus quasi-parvo hepatopancréatico (HPV)	Hepatopáncreas	Signos específicos incluyen una baja tasa de crecimiento, baja actividad de movimientos natatorios, incremento de la superficie con suciedad, y opacidad ocasional de el músculo de la cola.			Lightner & Redman 1985
Virus quasi-Reo (REO)	Hepatopáncreas (células R)	Hasta ahora se ha encontrado solo en <i>P. japonicus</i> y <i>P. monodon</i>			Tsing & Bonami, 1984 Nash et al., 1988
Enfermedades Varias					
Nauplio Abnormal					
Nauplio abnormal	Apéndices	Ocurre como resultado de una pobre calidad de el reproductor			N Tareen, 1982
Amibiasis de la larva	Subcutícula, músculo	Invasión por amibas no clasificadas en los músculos y tejidos subcuticulares localizados en el abdomen, cefalotórax, antena, y pedunculo de los ojos.			Z Laramore and Barkate, 1979 Lightner, 1983
Encrustación larval	Exoesqueleto	Dépositos incrustados en las larvas, de color café a negro, los cuales contienen sales de hierro que afectan las larvas peneidas.			Z M PL Lightner, 1983

*N = nauplios, Z = zoea, M = mysis, PL = post-larva

TABLA IV

SUGERENCIAS PARA LAS SECUENCIAS DE EL CULTIVO DE LARVAS, REGIMEN ALIMENTICIO POSTLARVAL Y PLAN PREVENTIVO DE ENFERMEDADES PARA UN CRIADERO COMERCIAL DE *P. Monodon*, JEPARA, INDONESIA

Día	Tanque	Vol. (T)	Etapa	Alimentación			Pellet % Body wt/day	Agua % exch.	Tratamiento	
				<i>Chaet.</i> (cells/ml)	<i>Tetra.</i>	<i>Art.</i> (#/ml)			Treflan (ml/T) 5 ppm Sol.	Chlor** ppm
0	ST	0.8	E-N	-	-	-	-	200	-	-
1	LRT	1	N	-	-	-	-	0	-	-
2	LRT	1	N6-Z1	50,000	-	-	-	0	20	-
3	LRT	2	Z1	75,000	-	-	-	0	30	2
4	LRT	3	Z1-Z2	100,000	20,000	-	-	0	30	-
5	LRT	3.2	Z2	100,000	20,000	-	-	0	40	-
6	LRT	3.5	Z3	100,000	20,000	-	-	0	40	-
7	LRT	3.8	Z3-M1	50,000	20,000	1	-	50	40	-
8	LRT	3.8	M1	50,000	20,000	1	-	50	40	-
9	LRT	3.8	M2	Traza	20,000	3	-	50	50	4
10	LRT	3.8	M3	Traza	20,000	6	-	50	50	-
11	LRT	3.8	M3-PL	-	20,000	6	-	50	50	6
12	LRT	3.8	PL1	-	20,000	6	-	50	50	-
13	LRT	3.8	PL2	-	Traza	6	-	50	50	-
14	LRT	3.8	PL3	-	Traza	6	-	50	50	-
15	LRT	3.8	PL4	-	-	6	-	Flush	-	-
15	RWY	7-12	PL4	-	-	6	-	100	50	*
16	RWY	7-12	PL5	Traza	-	6	-	100	50*	*
17	RWY	7-12	PL6	Traza	-	5	100%	100	50*	*
18	RWY	7-12	PL7	Traza	-	4	200%	100	50*	*
19	RWY	7-12	PL8	Traza	-	3	200%	100	50*	*
20	RWY	7-12	PL9	Traza	-	2	200%	100	50*	*
21	RWY	7-12	PL10	-	-	1	200%	100	50*	*
22	RWY	7-12	PL11	-	-	0	200%	100	50*	*
23	RWY	7-12	PL12	-	-	0	200%	100	50*	*
24	RWY	7-12	PL13	-	-	0	200%	100	50*	*
25	RWY	7-12	PL14	-	-	0	200%	100	50*	*
26	RWY	7-12	PL15	-	-	0	200%	100	50*	*
27	RWY	7-12	PL16	-	-	0	200%	100	50*	*
28	RWY	7-12	PL17	-	-	0	200%	100	50*	*
29	RWY	7-12	PL18	-	-	0	200%	100	50*	*

*Trátese si es necesario.

También use Malachite Green (1 ppm) si *Zoothamnium* is noted.

**Chlor = Cloramfenicol (antibiótico)

RWY = Raceway

TCL = Tanque de crianza de larva

Chaet. = *Chaetoceros*

Tetra. = *Tetraselmis*

HOJA TECNICA I

EL USO DE EL HEMATOCITOMETRO

(Nota: No todos los hematocitómetros son iguales. Sólo se describe una variedad.)

INTRODUCCION: El hematocitómetro consiste de dos partes. El elemento principal está formado por un placa de vidrio y resistente a golpes y altas temperaturas. En la placa, una depresión en forma de H ha sido cortada, formando dos áreas de conteo elevadas. Los hombros elevados a ambos lados de la H son aserrados con precisión a exactamente 0.1 mm sobre el área de conteo. El cubrevidrio, es una pieza de vidrio altamente pulido de 0.4 mm, descansa sobre los hombros, formando la parte superior de la cámara de conteo.

Las áreas de conteo están cubiertas con una capa metálica delgada la cual da una apariencia ligeramente oscura bajo el microscopio. En esta capa varias líneas estan trazadas con gran precisión (ver Figura 29, Página 72). El patrón cuadrículado tiene 9 cuadrados, cada uno des 1 x 1 mm. Cada uno esta dividido en cuadrados más pequeños y el cuadrado del centro está aun más subdividido en 400 cuadros de 0.05 mm cuadrados.

PREPARACION DE LA MUESTRA Y HEMATOCITOMETRO:

(1) Antes de comenzar, el hematocitómetro y cubrevidrio debe ser limpiado y secado. Se debe usar un pliego de papel especial para limpiar lentes y mojado con agua destilada.

(2) Una muestra de algas es obtenida del tanque de cultivo de algas o de el tanque de crianza de larvas. Esta es colocada en un tubo de ensayo limpio, y si es necesario, 2-3 gotas de colorante Lugol son añadidos y el tubo agitado para matar e inmovilizar las células.

(3) El tubo se agita nuevamente de tal manera que se mezclen por completo las células en el medio. Una pipeta o gotero limpio es usado para remover aproximadamente 0.5 ml de la mezcla.

(4) Una gota es introducida en la indentadura al lado de el hematocitómetro. Esta será dispersada, bajo el cubrevidrio, a la cámara de conteo por acción capilar. *Se debe tener cuidado de introducir tan solo lo necesario para llenar la cámara de conteo.*

Si los conductos fueran llenados y los hombros se mojaran, el vidrio cobertor se levantara y la cámara de conteo se incrementara. Si esto ocurriese, el hematocitómetro debe ser limpiado y el procedimiento iniciado nuevamente.

(5) Toma un minuto para que las células se asienten. El hematocitómetro se coloca en el microscopio compuesto. Utilizando el poder bajo de magnificación, se enfoca el microscopio.

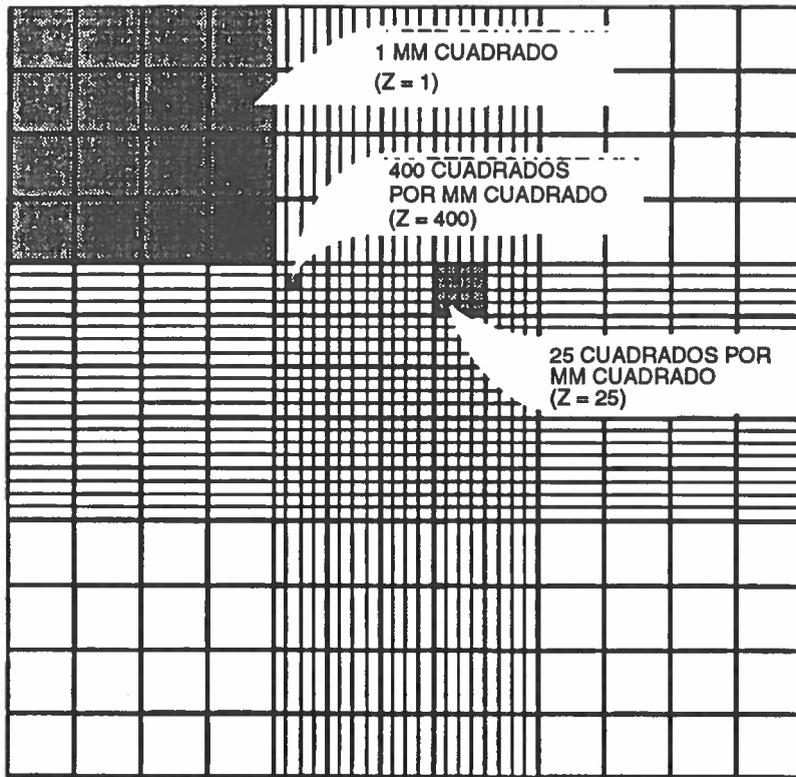
(6) Para mayor exactitud, un mínimo de 100 células deben ser contadas. Dependiendo de la concentración de células, esto requerirá contar el área total; cuente sólo los cuatro cuadrados

de las esquinas o todos o algunos de los cuadrados del centro. Esto debe ser hecho sistemáticamente, contando los mismos bloques cada vez, así eliminando el sesgo.

(7) Los cálculos deben ser hechos de la siguiente manera:

- (a) El número de células contadas (X)
- (b) Debe ser dividido por el número de cuadros contados (Y)
- (c) Luego multiplicado por el número de cuadros por mm cuadrado (Z)
- (d) Finalmente, esto se multiplica por 10,000 para obtener el número de células en cada ml del medio (N)

i.e.:
$$N = \frac{X \times Z \times 10,000}{Y}$$



AUMENTO DEL AREA DE CONTEO

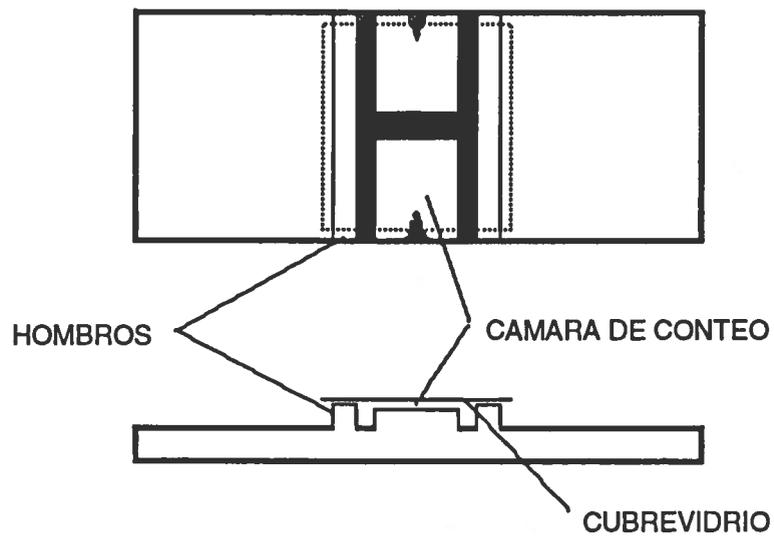


FIGURA 29. HEMATOCITOMETRO

HOJA TECNICA II

ESTERILIZACION (HAMILTON, 1979)

No es necesario, y más aún no deseable, utilizar técnicas de esterilización. No tan solo es la esterilización costosa y lleva tiempo pero puede, en algunos casos, producir sustancias tóxicas, perjudicar aparatos delicados y deteriorar soluciones químicas. En muchas ocasiones, simplemente una limpieza química puede ser apropiada. Aun cuando se requiere la esterilización, la limpieza química forma la base para la mayoría de técnicas de esterilización.

Hamilton (1979) declara la diferencia fundamental entre *esterilización* y *desinfección*. "La *esterilización* está normalmente reservada para procesos que aseguran la inactivización de toda vida microbial-bacteriana (note que estos procesos no aseguran la terminación de toda vida enzimática). Sin embargo, la *desinfección* se considera la reducción del número de bacterias a algún nivel arbitrariamente seguro o bacteriostático aceptable."

Los procedimientos a continuación se aplican específicamente a cristalería y a cultivos axénicos de algas. No todos los procedimientos mencionados serán necesarios para cada aplicación, pero se describen:

(1) **Detergentes:** Detergentes domésticos pueden dejar una capa de residuo en la cristalería pero hay varios detergentes de laboratorio satisfactorios que se pueden obtener a través de compañías proveedoras de materiales científicos. "El detergente debe remover materia orgánica bajo 100°C y dejar la cristalería neutral después de enjuagarse."

(a) Enjuague la cristalería en una corriente de agua potable caliente inmediatamente después de su uso.

(b) Déje en remojo durante la noche en una solución preparada con agua destilada y detergente en un recipiente de acero inoxidable. (Todos los residuos visibles deben ser removidos de la cristalería).

(c) Caliente o hierva levemente por aproximadamente una hora, enjuague en agua potable y luego enjuáguelo varias veces en agua destilada.

(d) Invierta para secar (no use un tablero) y luego cubra.

(2) **Acidos:** La cristalería que no se limpia con el detergente puede ser remojada en una concentración de H_2SO_4 saturado con $NaNO_3$ o en HNO_3 caliente (bajo un extractor) enjuagándolo bien con agua destilada. Las soluciones de limpieza a base de cromato nunca se deben usar ya que el ion de cromo es muy tóxico y es adsorbido por el vidrio dificultando su eliminación.

(3) Horneo: Pequeñas cantidades de materia orgánica puede ser destruidas al hornear la cristalería de 350°C-400°C de 3-4 horas. Después de hornear se debe tener cuidado que no ingresen partículas de polvo y otra contaminación del aire. Dedos sucios son una fuente común de contaminación.

Hay dos tipos de desinfectantes: volátiles y no volátiles.

Desinfectantes no volátiles: Se sugiere que estos sean usados sólo para reducir la cantidad de microbios en las superficies e instrumentos tales como la superficie de las mesas de preparación, etc. Varios químicos usados comúnmente son Lysol®, cloro (hipoclorito) formaldehído, compuestos de mercurio y alcohol. Se debe tener cuidado al escoger y usar estos productos. Algunos son prácticamente inefectivos o toman 24 horas para que funcionen. El Lysol® deja una capa residual grasosa, puede contaminar una autoclave además de quemar la piel en su fórmula concentrada. Soluciones a base de hipoclorito y formaldehído pueden ser dañinas al cuerpo. Componentes a base de mercurio son difíciles de remover de la cristalería; sus efectos en los humanos es desconocido y el cloruro mercúrico es letal para los peces.

Un método de esterilización comúnmente usado en la industria es la "clorinación". El blanqueador cloro (5-25% de actividad) es mezclado en agua de mar a 2.5 °/∞ y se deja reposar por 24 horas. Se burbujea una cantidad elevada de aire a través del agua para eliminar el cloro residual. Aunque el tiosulfato de sodio puede ser utilizado para neutralizar el cloro, algunos criaderos han reportado efectos negativos y no se recomienda su uso.

CALOR HUMEDO

Este es el método más ampliamente usado para esterilizar. Se aplica a todos los medios y materiales que puedan soportar una temperatura de 100-120°C.

(a) Baño de agua hirviendo: Llene un recipiente con agua destilada y élve la temperatura a 100°C. Coloque el medio o los instrumentos en el baño, permitiéndole que alcancen la temperatura deseada, y tome el tiempo permitiendo que el tratamiento proceda de 5-10 minutos. Esto asegurará la muerte de todas las células vegetativas pero no afectará a las esporas. Este método debe ser usado sólo en emergencias. Su eficiencia puede ser aumentada por el uso de una solución de 2% (peso-a-volumen) de carbonato de sodio en vez de agua destilada pero esta solución puede corroer los instrumentos.

(b) Vaporizador comercial: Esto puede ser usado de dos maneras, ya sea para producir una sola exposición de 90 minutos o para llevar acabo exposiciones intermitentes de 30 minutos de duración durante tres días sucesivos. Este último procedimiento mata las células producidas por las esporas que germinan en los intervalos entre los tratamientos. Para asegurar que ese medio alcance la temperatura rápidamente, se recomienda que los volúmenes en el medio no excedan 500 ml. Si se usan exposiciones intermitentes, los recipientes se deben dejar enfriar por

lo menos 18 horas entre cada tratamiento. Una autoclave calentada a 100°C (sin incremento de presión) puede ser usada como un vaporizador.

(c) **Pasteurización:** Al igual que con las exposiciones intermitentes de vapor, esta técnica tiene como objetivo matar las esporas después de incubadas entre calentamientos. El medio es calentado directamente o con un calentador de inmersión, a 73°C y mantenido a esa temperatura por 10-15 minutos. Se le permite enfriar a temperatura ambiente por 18 horas antes de repetir el proceso de calentamiento. Este método es fácil y no es costoso. Causa menos precipitación de fosfatos y daño a las vitaminas en el medio de cultivo en comparación a los métodos que utilizan temperaturas altas.

(d) **Autoclave u olla de presión:** (para información específica acerca del uso de la autoclave vea la Hoja Técnica III, Página 79).

Las temperaturas de 121°C o más destruirán las endoesporas bacteriales (la forma de vida con mayor resistencia al calor) si se exponen por el tiempo adecuado. La temperatura más alta que se puede obtener por vapor a presión atmosférica es 100°C. Sin embargo, bajo presión a 15 lbs/pulgada cuadrada, el vapor puede alcanzar una temperatura de 121°C. Bajo este principio es como funciona la autoclave.

Conocer esto, nos ayudará a entender algunos puntos de importancia en el uso de la autoclave. Primeramente, es el vapor el que conduce el calor a los objetos y líquidos por utilizar. Para asegurar la esterilidad, el vapor debe penetrar los materiales. Por lo tanto, los instrumentos deben ser envueltos en materiales que permitan el acceso al vapor. El papel Kraft® no encerado es la mejor opción. El papel aluminio se usa comúnmente pero debe tomarse en cuenta que es impermeable al vapor, excepto cuando la envoltura esta floja. Por lo tanto, no se recomienda.

Como segundo punto, a medida que el vapor se calienta, este se vuelve más seco. A temperaturas sobre 121°C el periodo de exposición deben ser aumentado similares a los de la esterilización por medio de aire caliente (1 hora a 170°C). No tan solo el excesivo calor de vapor perderá su eficiencia, pero podría aumentar el daño al equipo y soluciones que han de ser esterilizadas.

Es importante asegurar que todo el aire haya salido de la cámara antes de cerrar la válvula de escape y se permita que se acumule el vapor. Si no se hace esto, el aire y vapor se estratifican y la esterilización no será lograda. En autoclaves comerciales la remoción del aire se logra automáticamente. Sin embargo, si se utiliza una olla de presión no cierre la válvula de escape hasta que se observe un flujo continuo de vapor.

Se requiere tiempo para que el vapor penetre y caliente los materiales a temperaturas esterilizadoras. Esto dependerá de los volúmenes particulares de los medios a ser tratados. Una autoclave puede ser purgada de aire y el marcador puede indicar que ha alcanzado la

temperatura y presión adecuada sin que el interior de los contenidos estén tibios al tocarlos. Aun cuando las temperaturas alcancen 121°C, la bacteria no se muere inmediatamente. Normalmente toma de 11-12 minutos para matar a las endoesporas de bacteria termofílicas. Un volumen de 100 ml requiere 15 minutos para alcanzar esterilidad mientras que 2L y 5L requieren 20 y 35 minutos respectivamente.

Autoclaves u ollas de presión pueden causar la precipitación de algún medio, sobretodo en aquellos preparados con agua de mar natural o artificial. Este precipitado contiene casi todo el fosfato originalmente presente en el medio. Esta precipitación puede ser reducida añadiendo fosfato estéril, metales traza y soluciones de silicato después del autoclavado. Además, se observa reducciones si el medio es autoclavado en lotes pequeños.

Se debe tener cuidado con ciertos materiales incluyendo desinfectantes (en particular formalina y Lysol®) plásticos, estropajo, etc., los cuales se pueden volver tóxicos cuando son autoclavados. También pueden contaminar la autoclave en usos futuros.

La autoclave es el método más efectivo para la esterilización y el utilizado más comúnmente en centros de investigaciones, pero el equipo es costoso. Una autoclave del tamaño de una olla de presión cuesta aproximadamente \$300 mientras que una autoclave de el tamaño de un garrafón cuesta aproximadamente \$3,000.00.

(e) **Calor Seco:** La esterilización por medio de aire caliente requiere el uso de temperaturas las cuales son más altas que las utilizadas en los métodos de calor húmedo. Por lo tanto, su uso está restringido a materiales estables bajo el calor como la cristalería.

La esterilización a base de vapor tiene la ventaja adicional de que si una temperatura bastante alta es usada, hay una completa destrucción de la mayoría de la materia orgánica. Este es de beneficio para aquellos que utilizan procedimientos de bioensayo o tratan de cultivar formas que son particularmente sensibles a contaminantes orgánicos traza.

Un quemador, mechero de alcohol o gas propano pueden ser usados para calentar las agujas de inoculación o aros en forma incandescente. También puede ser usado para pinzas y otros instrumentos de metal los cuales no son dañados por el calor. Las lámparas de alcohol queman con una llama más fría que la de el mechero, por lo que se debe de tener cuidado para asegurar que se esté obteniendo suficiente calor. Sumergir en alcohol ligeramente es una práctica común para aquellos instrumentos que son dañados con calor incandescente. Este método no necesariamente asegura la esterilidad. Flamear causa hervor en las etapas iniciales ocasionando que se salpique el material en el aro de inoculación o aguja. Este salpiqueo puede ocasionar formaciones de aerosol que contienen células vivas. Instrumentos delicados o puntiagudos, al igual que aquellos construidos con diferentes coeficientes de expansión pueden ser dañados por el sistema de esterilización de calor seco.

Hornos de aire caliente pueden ser usados para la esterilización de materiales que puedan soportar temperaturas de 160°C.

Los materiales secos deben ser empacados con suficiente espacio en el horno y mantenidos a 160°C por dos horas después de haber alcanzado esa temperatura. Temperaturas de hasta 400°C son recomendadas para hornear cristalería. Pipetas y probetas pueden ser rellenas de un algodón-lana no absorbente antes de la esterilización y con fibra de vidrio.

FILTRACION

Aquí nos referimos a la filtración de pequeños volúmenes del medio en el laboratorio. La filtración del agua de mar para futuro uso en el laboratorio es tratado en el Capítulo II.

La filtración se utiliza para la producción de soluciones estériles y libres de partículas las cuales puedan ser afectadas por tratamiento con calor. También es usado para esterilizar el suministro de aire a cultivos y para la producción de aire libre de partículas en cuartos limpios.

Varios tipos de filtros están al alcance para la filtración de líquidos. Filtros ultrafinos de vidrio son costosos, se atrofian fácilmente y son difíciles de limpiar. Filtros desechables de membranas, incluyendo plásticos, son más convenientes pero algunos lixivian impurezas al medio. Todo equipo de filtración debe estar propiamente esterilizado (por gas o autoclave) antes de usarse. Tal vez requiera de presión o un vacío para empujar o jalar el medio a través de los filtros. La filtración es generalmente lenta y costosa, pero puede ser usada para cantidades pequeñas del medio que de otra manera se deterioran si son calentadas.

Aire y CO₂ suministrado a cultivos axenicos son primeramente pasados a través de un filtro de algodón. Filtros que atrapan humedad debido al vapor de agua, pueden resultar en una peligrosa y prolematica fuente de contaminación. Los filtros pueden mantenerse secos calentándolos suavemente y con cinta tape "briskeat" aislante envuelta alrededor de los tubos que sostienen el filtro.

RADIACION

La radiación ultravioleta es de gran uso en el laboratorio, particularmente en la desinfección de superficies sólidas. Su acción es incierta especialmente cuando se requiere la penetración, pero se cree que UV rompe el DNA entre las células. La dosis aceptada asume que la concentración inicial de bacteria es bastante baja, y debe determinarse para cada situación en particular.

La radiación ultravioleta es frecuentemente usada para desinfectar las superficies de las mesas en los cuartos de transferencias de cultivos. "Filtros ultravioletas" (lámparas) también están disponibles para la esterilización de fluidos. Para cualquier filtro en particular, la dosis depende de la velocidad del flujo. Los fluidos deben ser filtrados primeramcnete a

través de un filtro fino (1.0 micrón) de tal manera que eliminen partículas que puedan proteger a la bacteria contra la radiación.

Se debe tomar gran precaución con el uso de esta radiación. No tan solo ocasiona un daño severo al ojo sin protección, pero también quema la piel.

HOJA TECNICA III

OPERACION DE LA AUTOCLAVE

(1) Se puede ahorrar tiempo encendiendo la autoclave para que se caliente mientras que se prepara la carga. En el caso de una olla de presión, esto sólo requiere calentar el agua y asegurarse que no se caliente demasiado e impida cargarse. Las autoclaves más sofisticadas son capaces de acumular la temperatura y presión en un "camara de presión", independientemente a la cámara principal.

(2) Los frascos etc. no deben sobrellenarse y deben ser tapados con papel o con algodón. Los recipientes de menor volumen requieren menos tiempo para autoclavarse. Esto resultará en menos daño al medio, los aparatos y menos sedimentación de sulfatos. Si se deben usar tapones de goma o tapaderas que se enroscan, estos deben entonces estar hechas de material autoclavable. Para permitir que penetre el vapor y evitar que los recipientes revienten, las tapaderas deben ser colocadas sin apretar.

(3) La cristalería debe empacarse con suficiente espacio en la autoclave permitiendo la circulación del vapor.

(4) La puerta/tapadera debe cerrarse y "atornillarse". La mayoría de autoclaves no dejan que la puerta se abra antes de que se complete el ciclo esterilizador.

NOTA: LA AUTOCLAVE OPERARA BAJO ALTA TEMPERATURA Y PRESION. SE DEBE TENER PRECAUCION PARA ASEGURAR QUE LA PRESION Y TEMPERATURA SE HAN DISIPADO ANTES QUE SE LE quite el seguro a la puerta y esta sea abierta.

(5) El aire en la cámara debe ser reemplazado con vapor. En el caso de una olla de presión simple, la válvula de escape se deja abierta al aplicar calor. En la autoclave la válvula de escape y luego la válvula de entrada de vapor es abierta. En cada caso, el vapor debe salir par a través del escape antes de cerrarse. Si la autoclave tiene un termómetro en la salida, éste debe leer 100°C, antes de cerrar el escape.

(6) La presión y temperatura deben ser monitoreadas de cerca hasta que alcancen 15 lbs/pulgada cuadrada y 121°C respectivamente. Sólo cuando el termómetro haya alcanzado 121°C se debe comenzar a tomar el tiempo. Deje 15 minutos para el equipo, probetas y frascos pequeños y 45 minutos para los garrafones.

(7) Al terminar el ciclo, se apaga el emisor de calor o la válvula de entrada de vapor es cerrada. Se permite que la presión de vapor se disipe lentamente. Una baja de presión rápida

puede causar que los líquidos hiervan y mojen las tapaderas o los expelan, ocasionando que se pierda la esterilidad al ser sacados de la autoclave.

(8) La puerta debe ser desatornillada y abierta sólo hasta que el indicador de presión marque que la presión en la autoclave es cero.

(9) Es mejor descargar el equipo inmediatamente, para permitirle que se enfríe rápidamente. Esto va a minimizar el deterioro de el solvente y la acumulación de sedimentos.

Algunas autoclaves modernas automáticamente llevan a cabo los pasos 5 al 8, después de que los controles se han fijado.

IX. GLOSARIO DE TERMINOS SELECTOS

Artemia — Camarón salobre.

Axénico — Libre de otros organismos.

Bacteria — Organismos unicelulares que pueden ser vistos únicamente con un microscopio. Comparados con los protozoarios, las bacterias son menos complejas en organización y de mucho menor tamaño.

Descapsulación — Remoción de la dura capa superficial en los quistes de *Artemia*.

Desinfección — Reducción de el número de bacterias a un nivel "seguro" o "aceptable".

Espora — Una pequeña célula que puede desarrollarse como un nuevo individuo.

Esterilización — inactivación total de toda actividad microbiana.

Exoesqueleto — Caparazón de el camarón.

Garrafón — Botella de vidrio.

Hematocitómetro — Aparato utilizado para para contar células de algas.

Hepatopáncreas — Glándula digestiva.

Larvas — Plural de larva y el estadio de vida de el camarón entre el huevo y el estadio juvenil.

Maduración — El acto de madurar; en este caso el desarrollo de el huevo, madurez, y ovoposición.

Medios — Plural de medio; en este caso se refiere a nutrientes, agua de mar o alimento adicionado para promover el crecimiento de algas, larvas, etc.

Muda — Para el camarón, desprendimiento de el exoesqueleto.

Nauplios — Plural de nauplio; primero de los tres principales estadios larvales. Es un estadio que no se alimenta, por lo que es el ideal para transportar los animales hasta que alcanzan los estadios postlarvales.

Peneidos — La familia superfamilia y un suborden de el camarón que lo distingue de los camarones carideos debido a la forma de el segundo segmento de el abdomen. Los lados de el exoesqueleto de el camarón peneido (conocido como pleura) se traslapan con cada segmento localizado detrás de estos. En los camarones carideos la pleura de el segundo segmento se traslapa con el primer y tercer segmento, haciendo que el segundo parezca más grande. Existen 109 especies de camarón peneido enlistadas por la Organización Mundial para la Alimentación y Agricultura de las Naciones Unidas (F. A. O).

Pipeta Hensen-Stemple — Pipeta utilizada para tomar muestras de agua.

Prawn (langostino) — De acuerdo a Dore y Frimodt (1987), le gente utiliza este nombre para referirse a especies completamente diferentes.

Inglaterra = más grande que el camarón.

USA= Los restaurantes usan el termino para referirse a un camaron grande y otros para denominar a uno pequeño o de agua dulce.

Noruega= los productores promueven a el camarón de el norte *Pandalus* como un langostino, y el "langostino de la bahia de Dublin" es, mas aún, usado para describir *Nephops*, el cual es un verdadero langostino o langosta Noruega.

El diccionario Oxford define langostino como "mas grande que el camarón" mientras que el diccionario Webster lo describe como " crustáceo pequeño comestible de la familia del camarón".

SudAfrica= animales grandes=langostino; animales pequeños= camarones.

F.A.O intentó introducir una definición más precisa desde 1967. En la conferencia mundial sobre la biología y el cultivo de camarones y langostinos llevada a cabo en la Ciudad de México, se lleo al acuerdo de denominar "prawn (langostinos)" a animales de agua dulce solamente, y "camarones" a los de agua marina o salobre. Desafortunadamente, aún con estos esfuerzos, la confusión continúa. El unico punto en el que todo mundo esta de acuerdo es que el uso de "langostino" ("prawn") en el idioma inglés es confuso y poco claro, por lo que debe ser evitado.

Protozoa — un término nuevo para zoea o el segundo estadio larval del camarón peneido.

Quiste — Huevos de *Artemia* que están en estado latente.

Raceway — un tanque usualmente rectangular con una división en el centro o un tanque circular con una corriente de agua que "race" (corre) alrededor de el tanque.

Ranura — Existen numerosas ranuras en el camarón. Algunas son usadas como ayuda en la identificación de especies. Ejemplos:

- (1) Las ranuras en forma de uña en el último segmento abdominal de el camarón café de el Atlantico lo distingue claramente de el muy similar camarón blanco.
- (2) El largo de la ranura en el rostro de *P. monodon* es más corto que en *P. semisulcatus* y puede ser usado como una forma para distinguir estas dos especies tan similares. Otras caracterizticas de distinción pueden ser observadas en la Figura 18.

Reproductor — Animales grandes que son la fuente de nuevas generaciones en instalaciones comerciales de maduración.

Rostro — la espina puntiaguda que se extiende a partir de la cabeza de el camarón.

Setas — estructuras similares a cabellos que parecen ramificarse de los apéndices o patas.

Télico — Estructura reproductora de la hembra.

X. AGRADECIMIENTOS

Ademas de los agradecimientos en la introducción, queremos extender muestras gracias a los Drs. David Aldrich, Bart Baca y Robert Stickney por sus revisiones a la version en ingles de el manual de laboratorio; a Dr. Joe M. Fox por la traducción al español; a Victor Rivera-Monroy por revisar la version en español; a Javier Dueñas por las fotografias de el cuarto para el cultivo de algas; al laboratorio cartografico por la elaboración de las figuras; a Dr. Robert Brick por facilitar las figuras; a Brian Stone por facilitar el camarón para la ilustración de la portada; y a Bonnie Grayson por traducción adicional al español y preparación de el manual para su impresión en la version al español. Además deseamos agradecer al Departamento de Acuicultura del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B.C., Mexico, el aporte financiero para la publicación de este Manual.

XI. REFERENCIAS SELECCIONADAS

- Chamberlain, G., et al., ed., 1985. **Texas Shrimp Farming Manual**. Texas Agricultural Extension Service, Corpus Christi (out of print).
- Enright, C., 1984. Determination of the Relative Value of Phytoplankton for Feeding the Juvenile Oyster, *Ostrea edulis*. Doctoral dissertation, Halifax, Canada.
- Fox, J., 1983. Intensive Algal Culture Techniques. **CRC Handbook of Mariculture**, Vol. I, pp. 15-42. CRC Press, Inc., Boca Raton.
- Hamilton, R., 1979. Sterilization. **Handbook of Phycological Methods**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Johnson, S. K., 1989. **Handbook of Shrimp Diseases**. Sea Grant College Program, Texas A&M University at Galveston.
- Leger, P., 1983. The Use and Nutritional Value of *Artemia* as a Food Source. **Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.**, Vol. 24, pp. 521-623. Aberdeen University Press.
- Liao, I., 1984. **A Brief Review on the Larval Rearing Techniques of Penaeid Prawns**. Tungkang Marine Laboratory, Pingtung.
- Mock, C. R. and M. A. Murphy, 1970. **Techniques for Raising Penaeid Shrimp from the Egg to Postlarvae**. **World Mariculture Society**, 1: 143-156.
- Primavera, J., 1985. **Broodstock of Sugpo, *Penaeus monodon* Fabricius**. Southeast Asian Fisheries Dev. Center, Tigbauan.
- Treece, G. D., 1985. Larval Rearing Technology, sect. III, pp. 53-64, **Texas Shrimp Farming Manual**. Texas Agricultural Extension Service, Corpus Christi (out of print).
- Treece, G. D. and N. Wohlschlag, 1990. Raising Food Organisms for Intensive Larval Culture. **Manual on Red Drum Aquaculture**, sect. III, pp. 71-77, Sea Grant College Program, Texas A&M University at Galveston.
- Tseng, W., 1987. **Shrimp Mariculture, A Practical Manual**. Chien Cheng Publisher, Republic of China.
- Yang, W., 1975. **A Manual for Large-Tank Culture of Penaeid Shrimp to the Postlarval Stages**. University of Miami Sea Grant Program, Miami.