

## Tesis de Posgrado

# Estudio del ciclo de la muda del camarón *Artemesia longinaris* : Descripción, crecimiento y relación con el colesterol.

Petriella, Ana María del Carmen

1987

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Petriella, Ana María del Carmen. (1987). Estudio del ciclo de la muda del camarón *Artemesia longinaris* : Descripción, crecimiento y relación con el colesterol.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2069\\_Petriella.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2069_Petriella.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Petriella, Ana María del Carmen. "Estudio del ciclo de la muda del camarón *Artemesia longinaris* : Descripción, crecimiento y relación con el colesterol.". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1987.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2069\\_Petriella.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2069_Petriella.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESTUDIO DEL CICLO DE LA MUDA DEL CAMARON *Artemesia longinaris*:  
DESCRIPCION, CRECIMIENTO Y RELACION CON EL COLESTEROL

Ana María del Carmen Petriella

Director: Dr. Jorge Lino Fenucci

Realizada en el Laboratorio de Cultivo de Invertebrados  
Comerciales del Instituto Nacional de Investigación y  
Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata

Tesis presentada para optar al Título de  
Doctor en Ciencias Biológicas

-1987-

- 2069 -  
J.2

A mis padres

## INDICE

	PAGINA
1. Introducción	1
Reseña bibliográfica sobre el estado del tema	3
Planteo específico del tema de Tesis	28
2. Materiales y Métodos	
2.1 Preparación de acuarios	30
2.2 Alimentación	30
2.3 Preparación de dietas	31
2.4 Estudio de la Setogénesis	33
2.5 Duración de los estadios del ciclo	34
2.6 Cambios tegumentarios	35
2.7 Crecimiento y frecuencia de muda	36
2.8 Influencia del colesterol	
a) Sobre la frecuencia de muda	36
b) Sobre la Setogénesis	37
2.9 Análisis estadísticos	38
3. Resultados	
3.1 Determinación y reconocimiento de los estadios del ciclo	40
3.2 Duración de los estadios del ciclo	48
3.3 Cambios tegumentarios	52
3.4 Modalidad de la exuviación	76
3.5 Crecimiento	76
3.6 Influencia del Colesterol	
3.6.1. Resultados de los experimentos	86
3.6.2. Influencia sobre la Setogénesis	97

	PAGINA
4. Discusión	
4.1 Reconocimiento de los estadios del ciclo	105
4.2 Duración de los estadios	110
4.3 Cambios tegumentarios	112
4.4 Exuviación	121
4.5 Crecimiento	123
4.6 Influencia del colesterol sobre el ciclo de muda	127
5. Conclusiones	134
6. Bibliografía	138
7. Apéndice	
Métodos químicos	148
Tablas	153

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
1	Estructura del tegumento de crustáceos.....	7
2	Nomenclatura de las capas tegumentarias.....	8
3	Localización de los principales órganos neurosecretores del pedúnculo ocular.....	11
4	Paralelismo del proceso de muda en insectos y crustáceos.....	12
5	Estructura del colesterol y ecdisonas y su probable vía de síntesis.....	16
6	Esquema de una seda de urópodo, en formación...	40
7	Aspecto morfológico de las sedas en la postmuda. Estadio A.....	41
8	Aspecto morfológico de las sedas en la postmuda. Estadio B.....	41
9	Aspecto morfológico de las sedas en la intermuda. Estadio C.....	43
10	Aspecto morfológico de las sedas en la premuda. Estadio $D_0$ .....	43
11	Aspecto morfológico de las sedas en la premuda. Estadio $D_1'$ .....	45
12	Aspecto morfológico de las sedas en la premuda. Estadio $D_1''$ .....	45
13	Aspecto morfológico de las sedas en la premuda. Estadio $D_1'''$ .....	46
14	Aspecto morfológico de las sedas en la premuda. Estadio $D_2$ .....	47
15	Esquema de la evaginación de la nueva seda durante los estadios $D_1$ y $D_2$ .....	44
16	Comparación de la duración de los estadios del ciclo de muda de camarones provenientes de captura y mantenidos en laboratorio.....	50

FIGURA		PAGINA
17	Duración de los estadios del ciclo de muda en condiciones de laboratorio y criterio para el reconocimiento de cada estadio.....	51
18	Fotomicrografías de tegumento. Estadio A.....	53
19	Fotomicrografías de tegumento. Estadio B.....	54
20	Fotomicrografías de tegumento. Estadio C.....	56
21	Fotomicrografías de tegumento. Estadio $D_0$ .....	58
22	Fotomicrografías de tegumento. Estadio $D_0-D_1$ .	60
23	Fotomicrografías de tegumento. Estadio $D_0-D_1$ .	61
24	Fotomicrografías de tegumento. Estadio $D_1$ .....	63
25	Fotomicrografías de tegumento. Estadio $D_2$ .....	65
26	Relación de los diversos componentes del tegumento, en los diferentes estadios del ciclo de muda.....	67
27	Síntesis de las diferentes capas cuticulares durante el ciclo de muda.....	69
28	Secuencia temporal de los cambios tegumentarios durante el ciclo de muda.....	72
29	Variaciones periódicas del tegumento.....	74
30	Registro del consumo diario de alimento.....	77
31	Relación entre el peso premuda y el número de días de intermuda.....	79
32	Relación entre el peso premuda y el peso postmuda.....	81
33	Relación entre el peso premuda y el porcentaje de incremento en peso.....	82
34	Relación entre el largo total premuda y el largo total postmuda.....	83
35	Relación entre el largo total premuda y el número de días de intermuda.....	84
36	Relación entre el largo total premuda y el peso postmuda.....	85



FIGURA		PAGINA
37	Relación entre el porcentaje de colesterol de la dieta y la supervivencia. Experimento 1.....	88
38	Relación entre el porcentaje de colesterol de la dieta y la supervivencia. Experimento 2.....	91
39	Relación entre el porcentaje de colesterol de la dieta y la supervivencia. Experimento 3.....	95
40	Fotomicrografías de las alteraciones morfológicas de las sedas producidas por el colesterol. Estadios C y D <sub>0</sub> .....	100
41	Fotomicrografías de las alteraciones morfológicas de las sedas producidas por el colesterol. Estadios D <sub>1</sub> y D <sub>2</sub> .....	101
42	Comparación de la duración de los estadios del ciclo de muda de camarones alimentados con dieta standard o adicionada con colesterol.....	104
43	Comparación de los criterios de reconocimiento de los estadios del ciclo de muda para la Superfamilia Penaeoidea.....	106

## LISTA DE TABLAS

TABLA	PAGINA
1. Composición porcentual de las dietas empleadas en los experimentos.....	32
2 Composición proximal de las dietas empleadas en los experimentos.....	33
3 Contenido de colesterol de las dietas empleadas en los experimentos.....	37
4 Duración relativa de los estadios del ciclo de muda de camarones provenientes de captura (1984).	49
5 Duración relativa de los estadios del ciclo de muda de camarones provenientes de captura (1985).	49
6 Duración de la intermuda según el peso inicial..	78
7 Crecimiento y supervivencia de camarones alimentados con diferentes porcentajes de colesterol.. Experimento 1.....	87
8 Crecimiento y supervivencia de camarones alimentados con diferentes porcentajes de colesterol.. Experimento 2.....	90
9 Crecimiento y supervivencia de camarones alimentados con diferentes porcentajes de colesterol.. Experimento 3.....	94
10 Valores de la Tasa de Muda, para los tres experimentos.....	96
11 Duración de los estadios de intermuda de camarones alimentados con dieta adicionada con colesterol.....	102
12 Frecuencia de estadios del ciclo de muda de camarones alimentados con dieta standard o adicionada con colesterol.....	103

LISTA DE TABLAS (APENDICE)

TABLA		PAGINA
I	Crecimiento en laboratorio.....	153
II	Determinación de estadios de intermuda de camarones provenientes de captura, mayo 1984...	154
III	Determinación de estadios de intermuda de camarones provenientes de captura, mayo 1985...	156
IV	Crecimiento y supervivencia de camarones alimentados con distintos porcentajes de colesterol, (valores por tanque). Experimento 1...	158
V	Supervivencia: valores de $\chi^2$ , (valores de tres tanques combinados). Experimento 1.....	159
VI	Tasa de Muda de camarones alimentados con distintos porcentajes de colesterol, (valores por tanque). Experimento 1.....	160
VII	ANOVA para Tasa de Muda, (valores de tres tanques combinados). Experimento 1.....	161
VIII	LSR para Tasa de Muda, (valores de tres tanques combinados). Experimento 1.....	162
IX	ANOVA para Peso Medio Final. Experimento 1...	163
X	ANOVA para Variación en Peso Medio, (valores de tres tanques combinados). Experimento 1...	163
XI	ANOVA para Porcentaje de Variación en Peso Medio, (valores de tres tanques combinados). Experimento 1.....	163
XII	Crecimiento y supervivencia de camarones alimentados con distintos porcentajes de colesterol, (valores por tanque). Experimento 2...	164
XIII	Supervivencia: valores de $\chi^2$ , (valores de tres tanques combinados). Experimento 2.....	165
XIV	Tasa de Muda de camarones alimentados con distintos porcentajes de colesterol, (valores por tanque). Experimento 2.....	166
XV	ANOVA para Tasa de Muda, (valores de tres tanques combinados). Experimento 2.....	167

TABLA		PAGINA
XXVI	LSR para Tasa de Muda, (valores de tres tanques combinados). Experimento 2.....	168
XXVII	ANOVA para Peso Medio Final. Experimento 2....	169
XXVIII	ANOVA para Variación en Peso Medio, (valores de tres tanques combinados). Experimento 2....	169
XXIX	ANOVA para Porcentaje de Variación en Peso Medio, (valores de tres tanques combinados). Experimento 2.....	169
XX	Crecimiento y supervivencia de camarones alimentados con distintos porcentajes de colesterol, (valores por tanque). Experimento 3....	170
XXI	Supervivencia: valores de $\chi^2$ , (valores de tres tanques combinados). Experimento 3.....	171
XXII	Tasa de Muda de camarones alimentados con distintos porcentajes de colesterol, (valores por tanque). Experimento 3.....	172
XXIII	ANOVA para Tasa de Muda, (valores de tres tanques combinados). Experimento 3.....	173
XXIV	LSR para Tasa de Muda, (valores de tres tanques combinados). Experimento 3.....	174
XXV	ANOVA para Peso Medio Final. Experimento 3....	175
XXVI	ANOVA para Variación en Peso Medio, (valores de tres tanques combinados). Experimento 3....	175
XXVII	ANOVA para Porcentaje de Variación en Peso Medio, (valores de tres tanques combinados). Experimento 3.....	175
XXVIII	Duración de la intermuda de camarones alimentados con dieta con 2% de colesterol.....	176

Deseo expresar mi agradecimiento:

A las autoridades de la Universidad Nacional de Mar del Plata, del CONICET y del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), instituciones a las que pertenezco y en las que pude desarrollar estas investigaciones.

Al Dr. Jorge L. Fenucci, por la orientación y el asesoramiento brindado, para la mejor realización de este estudio.

Al Dr. Enrique Boschi, por sus consejos y el permanente intercambio de ideas.

Al Dr. Harald E. Christiansen, del Laboratorio de Histología del INIDEP, que me alentó y ayudó incondicionalmente para completar la descripción histológica presentada.

A los Dres. Victor J. Moreno y Julia Aizpún de Moreno, del laboratorio de Bioquímica de Organismos Marinos del INIDEP, y su personal técnico, por los análisis químicos de las dietas.

Al Dr. Eduardo Gros, Director del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA), por haberme permitido el uso del cromatógrafo; a la Dra. Alicia Seldes, de dicho Departamento y a todo el personal de su laboratorio, por su dirección y apoyo para realizar las determinaciones de colesterol.

A los Sres. Miguel A. Scelzo y R. Brown, del Laboratorio de Fotografía del INIDEP, por el trabajo fotográfico.

Al Prof. Santos Pereyra, del laboratorio de Dibujo del INIDEP, por los dibujos realizados.

Al Lic. Daniel Hernandez, del Laboratorio de Estadística del INIDEP, por la ayuda prestada en el procesamiento de los datos.

A todo el personal del INIDEP, que de una u otra forma colaboró para que concretara este trabajo, y en particular al Sr. Hector Bezzi, por su paciencia y afecto.

Especialmente, a mis compañeros de laboratorio, Lic. Mónica Muller y Cristina Diaz y Sr. Julio Magnaterra, de quienes recibí amistad y ayuda constantes.

## 1. INTRODUCCION

## 1. INTRODUCCION

En los crustáceos el crecimiento es un proceso discontinuo que se realiza a través de una serie de mudas periódicas o ecdisis, con pérdida del antiguo exoesqueleto. Durante el período comprendido entre dos mudas sucesivas ocurre una serie de eventos que pueden resumirse así: formación del nuevo exoesqueleto bajo el antiguo, aumento del tamaño y endurecimiento del nuevo exoesqueleto.

Hasta hace poco tiempo, el término "muda" se refería sólo a la manifestación de la pérdida del exoesqueleto (exuviación), aunque ahora se emplea en un sentido más amplio, involucrando los procesos previos a la ecdisis y los del crecimiento y mineralización posteriores. De esta manera, todos los demás procesos fisiológicos: metabolismo, comportamiento, reproducción, etc. se ven afectados, directa o indirectamente por el ciclo de la muda; es por esto que el estudio de la fisiología de la muda de los crustáceos merece especial atención.

Se conocen varios factores, internos y externos, que regulan el ciclo de la muda. Entre los primeros deben destacarse los de tipo neuroendócrino; los crustáceos poseen un complejo sistema neurosecretor localizado principalmente en el tallo del pedúnculo ocular con desarrollo de varios centros protocerebrales, responsables de la síntesis y secreción de varias hormonas (Adiyodi y Adiyodi, 1970; Vernet, 1976): 1) La inhibidora de la muda (HIM), 2) inhibidora del desarrollo ovárico, 3) reguladora de la dispersión de pigmentos del tegumento, 4) reguladora del equilibrio iónico, 5) promotora de la regeneración de miembros, 6) hiperglucémica y otras cuya función se discute, relacionadas con metabolismo de lípidos, proteínas e hidratos de carbono, respiración mitocondrial, etc. (Cooke y Sullivan, 1982).

Por otra parte, en la región anterior del cefalotórax se localizan un par de glándulas endócrinas: el órgano Y, cuyas células secretan la hormona de la muda (HM), de forma que el ciclo de la muda aparece como el resultado del equilibrio entre la HIM y la HM. Las hormonas promotoras de la muda han sido identificadas y pertenecen al grupo de los esteroides (ecdisterona), de allí la importancia de la incorporación de esteroides en la dieta de crustáceos marinos, ya que ha sido demostrado que no están capacitados para sintetizarlos "de novo" (Zandee, 1966, 1967; Kanazawa et al., 1976, 1977).

Entre los factores abióticos que ejercen mayor influencia sobre la frecuencia de muda, deben mencionarse la temperatura y el fotoperíodo.

La frecuencia de muda se ve afectada por la variación de temperatura, como manifestación de la modificación de la tasa metabólica. En cuanto al fotoperíodo, se relaciona con ritmos circadianos que tienen un claro significado adaptativo: mantenimiento del equilibrio fisiológico entre los distintos órganos del individuo; en el caso de los crustáceos se demostró la influencia de la duración de los ciclos día-noche, tanto en la supervivencia como en la tasa de muda (Dalley, 1979; Dalley y Bailey, 1981).

De lo expuesto precedentemente se desprende que la biología de la muda es uno de los aspectos más importantes de la Fisiología de los Crustáceos, por lo que su estudio debería enfocarse simultáneamente desde varios puntos de vista: descripción del ciclo de intermuda y ecdisis, frecuencia de muda, crecimiento, comportamiento, localización y descripción morfológica de los órganos neuroendócrinos, supresión de los principios hormonales por ablación o extirpación del pedúnculo ocular, dosaje y análisis de los mecanismos de acción de las hormonas involucradas, evaluación de la influencia de la ablación y de los facto-



res abióticos, en particular temperatura y fotoperíodo.

Hasta el momento para Crustáceos argentinos se ha realizado el estudio de la biología de la muda de *Cyrtograpsus angulatus* (Spivak, 1987) no habiendo antecedentes para especies autóctonas de peneidos marinos.

Es por ello que el objetivo de este trabajo de tesis fue investigar sobre aspectos del ciclo de muda del camarón argentino *Artemesia longinaris* Bate.

Reseña bibliográfica sobre el estado del tema:

Los estudios relacionados con el ciclo de la muda en Crustáceos se iniciaron aproximadamente en 1920, con descripciones sobre la exuviación o cambios tegumentarios como parte del estudio del ciclo de vida, aunque hay algunos antecedentes bibliográficos anteriores dignos de mención, como el trabajo de Vitzou (1881) que describe la histología del tegumento de *Astacus fluviatilis* y *Homarus americanus*. A partir de los trabajos de Hanström (1931, 1933) sobre morfología de los centros nerviosos de crustáceos se abrió un nuevo campo de conocimiento, en particular por haber establecido un paralelismo con los centros nerviosos de insectos y su vinculación con una actividad hormonal.

Trabajos posteriores encararon aspectos morfológicos y descriptivos de reconocimiento de las diferentes fases del ciclo y entre 1940 y 1960 se establecieron métodos generales de reconocimiento de los estadios, destacándose dos grandes escuelas.

En 1939, Drach trabajando con *Cancer pagurus* determinó los estadios del ciclo para Decápodos Brachyura sobre la base de cambios tegumentarios; en un estudio posterior (1944) extendió esos conceptos para los Natantia, dividiendo el ciclo de muda en cinco estadios principales y sucesivos: A: el animal acaba de abandonar la exuvia, continuando la secreción de la nueva cutícula;

B: las secciones de la nueva cubierta comienzan a endurecerse; C: toda la cubierta se engrosa y endurece; hay crecimiento de tejidos y movilización de reservas; D: se reabsorben los minerales y materiales orgánicos de la vieja cubierta y se deposita parcialmente el nuevo exoesqueleto bajo el antiguo; es el período de preparación activa para la siguiente ecdisis; E: el animal se desprende de la vieja cubierta (exuviación).

Por otra parte, Carlisle y Dohrn (1953) reconocieron tres estadios que denominaron metaecdisis (correspondientes a los estadios A, B, C<sub>1</sub> a C<sub>3</sub> de Drach), ecdisis (E) y proecdisis (estadio D de Drach); finalmente, establecieron un cuarto estadio o intermuda (C).

Cada uno de estos períodos puede subdividirse en estadios reconocibles por cambios tegumentarios externos (grado de rigidez, pigmentación) o internos como la formación de las nuevas sedas, proceso que fue denominado setogénesis, que permite seguir el ciclo por observación microscópica directa de los cambios operados en ciertos apéndices poco calcificados (Aiken, 1973; Reaka, 1975; Dexter, 1981).

Este método fue generalizado por Drach y Tchernigovtzeff (1967) para los Crustáceos; a partir de entonces numerosos autores lo adaptaron para diversos taxa: para Amphipoda (Charniaux-Legrand, 1952); Isopoda (Tchernigovtzeff y Ragage-Willigens, 1968); Estomatopoda (Reaka, 1975) y Copepoda (Dexter, 1981), y empleado incluso al estudiar el proceso de muda de *Pisaura mirabilis* (Aranae) (Bonaric, 1980).

En Decápodos su aplicación se ha generalizado, con las modificaciones necesarias, para numerosas especies de todos los grupos. Los principales trabajos para especies de Natantia (Caridea) fueron realizados con *Palaemon serratus* (Drach, 1944); *Palaemon xiphias*, *Processa acutirostris* y *P. edulis edulis* (Scheer, 1960) y *Macrobrachium rosenbergii* (Peebles, 1977) y en

cuanto a Peneidos, se han establecido los criterios de reconocimiento para la mayoría de las especies del género *Penaeus*: *P. californiensis* (Huner y Colvin, 1979); *P. duorarum* (Schafer, 1968; Bursey y Lane, 1971); *P. esculentus* (Wassenberg y Hill, 1984; Smith y Dall, 1985); *P. merguensis* (Longmuir, 1983); *P. setiferus* (Robertson et al., 1987) y *P. stylirostris* (Huner y Colvin, 1979; Robertson et al., 1987) y de géneros afines como *Pleoticus muelleri* (Diaz y Petriella, en prensa) y *Sicyonia ingentis* (Anderson et al., 1985).

Si bien el método propuesto por Drach en 1939 es universal para los Crustáceos, la bibliografía disponible demuestra que para cada especie es necesario determinar los criterios de reconocimiento. Así por ejemplo, Drach y Tchernigovtzeff (1967) indican que en Peneidos no hay formación de conos en la base de las antiguas sedas, por lo cual en ese grupo no pudieron subdividir la postmuda tardía (estadio B) y la intermuda (estadio C). Posteriormente se ha demostrado la presencia de conos en *A. longinarius* (Petriella, 1984) y en varias de las especies del género *Penaeus*: *P. duorarum* (Schafer, op. cit.); *P. merguensis* (Longmuir, op. cit.) y *P. esculentus* (Smith y Dall, op. cit.).

En cuanto a la subdivisión del estadio C (intermuda) en las especies de Brachyura, se puede realizar según el grado de consistencia del caparazón (Drach y Tchernigovtzeff, op. cit.), mientras que en las del grupo Natantia, este criterio no es válido, por lo que el estadio no se subdivide.

El estadio  $D_0$ , aceptado para todos los taxa e identificado por la retracción de la epidermis o apólisis (Jenkin y Hinton, 1966), en algunas especies se inicia superponiéndose con el último período del estadio C (Scheer, 1960; Petriella, op. cit.), es por ello que en cada caso se deberían detallar los rasgos usados para definirlo.

Los estadios de la premuda y en particular el de la setogé-

nesis propiamente dicha ( $D_1$ ), son de reconocimiento más fácil y se concluye que el mecanismo de formación de las nuevas sedas es muy similar en todas las especies (Drach, 1944; Stevenson, 1968; Reaka, 1975); sin embargo para *Natantia* no se han podido establecer criterios para determinar los estadios  $D_3$  y  $D_4$ .

Una vez logrado el reconocimiento de los estadios, e iniciando ya una etapa de estudios fisiológicos, diversos autores determinaron la duración de cada una de las fases del ciclo. Así se estableció que en Decápodos existen dos tipos de ciclo: diecdísico y anecdísico. Las especies diecdísicas mudan durante todo el año o varias veces durante cierta estación, pasando, en ambos casos, de una muda a otra, con un período de intermuda breve. El grupo de los *Natantia* presenta este tipo de ciclo.

Las especies anecdísicas mudan estacional o anualmente y consecuentemente tienen períodos de intermuda mucho más largos; los *Macrura* y *Brachyura* tienen ciclos anecdísicos (Passano, 1960; Adiyodi y Adiyodi, 1970).

Históricamente, la cutícula de los Artrópodos ha sido estudiada desde hace más de un siglo, pero los estudios en Insectos y Crustáceos han seguido líneas divergentes, probablemente porque se pensaba que eran muy diferentes. Wigglesworth desde 1933 impulsó las investigaciones en Insectos y sus resultados fueron la base de otras que concluyeron que insectos y crustáceos poseen estructuras cuticulares muy similares (Dennell, 1960).

Una definición de exoesqueleto en Artrópodos es aquélla que dice que consiste básicamente en una estructura proteicoquitinosa secretada en toda la superficie corporal por una epidermis formada por una sola capa de células.

La figura 1 representa la estructura del tegumento de Crustáceos.

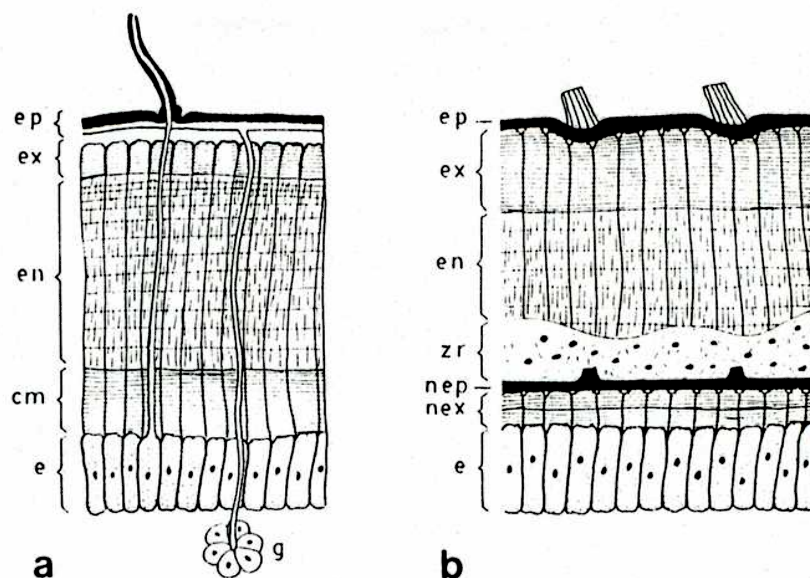


Figura 1: Estructura del tegumento de Crustáceos.

a: corte transversal en intermuda; b: corte transversal en premuda, mostrando la reabsorción del antiguo exoesqueleto y formación del nuevo.

cm: capa membranosa; e: epidermis; en: endocutícula; ep: epicutícula; ex: exocutícula; g: glándula tegumental; nep: nueva epicutícula; nex: nueva exocutícula; zr: zona de reabsorción. (Modificado de Lockwood, 1967).

En a se muestran las capas tegumentarias durante la intermuda: la capa más externa o epicutícula, se caracteriza por la ausencia de quitina; está compuesta principalmente por proteínas, lípidos y sales de calcio. La exocutícula y la endocutícula están formadas principalmente por quitina, proteínas y sales de calcio. La capa más interna, en contacto con la epidermis, es la capa membranosa, con la misma composición química que las dos anteriores, pero no calcificada.

Durante la premuda (esquema b), las capas más internas

(capa membranosa y endocutícula) son digeridas y reabsorbidas, por acción del líquido de la muda, a la vez que se secretan la epi y exocutícula del nuevo exoesqueleto. En el momento de la ecdisis, lo que queda de la vieja cutícula es eliminado formando la exuvia. Después de la ecdisis, la nueva cutícula se expande y endurece, usualmente por calcificación y esclerotización (Stevenson, 1985). Se han llevado a cabo numerosos trabajos sobre los componentes químicos de las diversas capas cuticulares (Dennell, 1960) así como sobre el arreglo físico de las macromoléculas que las componen (Dennell, op. cit.; Stevenson, 1968, 1985), habiéndose establecido la estructura molecular de esos componentes y tentativamente, las rutas metabólicas de su síntesis y regulación (Stevenson, op. cit.).

La nomenclatura de las diferentes capas que constituyen la cutícula varía según los autores que en muchos casos, emplean los mismos términos o muy similares, pero con distinta acepción; esta situación se ha complicado al pretender usar la nomenclatura creada para insectos. Por ello se incluye aquí un cuadro comparativo de los distintos sistemas en uso, aclarando que en este estudio se ha optado por el de Skinner (1962) por su simplicidad y precisión.

	Drach, 1939		Dennell, 1960		Skinner, 1962		Lower, 1964		Stevenson, 1985	
Capas secretadas antes de la exuviación	epicutfcula		epicutfcula		epicutfcula		epicutfcula		epicutfcula	
Capas secretadas después de la exuviación	Endocutícula	capa preexuvial= capa pigmentaria	Endocutícula	capa pigmentaria	Procutícula	zona pigmentada= exocutícula	Procutícula	capa precdisial		
		capa principal		capa calcificada		endocutícula		zona calcificada mesocutícula	capa principal	
		capa membranosa		capa no calcificada		capa membranosa		zona membranosa= endocutícula	capa membranosa	

Figura 2: Nomenclatura de las capas tegumentarias.

(Modificado de Drach y Tchernigovtzeff, 1967)

El estudio de la estructura y formación del tegumento en los Crustáceos puede dividirse en dos períodos: el macroscópico y el microscópico.

El primero se asocia con los trabajos de índole anatómico llevados a cabo en la primera mitad del siglo XIX; el período microscópico se inicia en 1833, con las observaciones de Hasse sobre el tegumento de *Astacus fluviatilis*.

A partir de éste se publicaron numerosos trabajos, cuya revisión detallada presenta Vitzou (1881). Este autor, trabajando con *Astacus fluviatilis* y *Homarus americanus* describe por primera vez las capas tegumentarias y sus modificaciones en dos momentos del ciclo de vida ("cerca y lejos de la muda") poniendo énfasis en los cambios de la epidermis.

Contrariamente a lo que ocurría con el estudio de la cutícula en insectos, el tema no fue tratado durante varias décadas. En 1932, Cantacuzène y Damboviceanu, describen las modificaciones citológicas del tegumento de *A. fluviatilis*, en vinculación con las variaciones del calcio en la hemolinfa.

Posteriormente y ya en relación con el estudio del ciclo de muda de *Panulirus argus*, (Travis, 1955) incluyó el aspecto de los cambios histológicos e histoquímicos del tegumento considerando cuatro estadios del ciclo (A, B, C y D).

La primera revisión importante del tema la realiza Dennell (1960), aunque enfatizando sobre la composición química y modificaciones de la cutícula en varios grupos de Crustáceos.

En 1962, Skinner presenta un estudio sobre el metabolismo de *Gecarcinus lateralis* durante el ciclo de muda, analizando también los cambios tegumentarios, para los estadios A, B, C, D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub>-D<sub>4</sub>. Si bien describe los cambios cuticulares detalladamente, no sucede lo mismo con las modificaciones epidérmicas.

En cuanto a peneidos se debe mencionar el trabajo de Dall (1965) quien, como parte de un estudio fisiológico más amplio, analiza la composición química y estructura del tegumento de *Metapeneus mastersii*, en intermuda, premuda y postmuda.

Para *Penaeus esculentus*, Smith y Dall (1985) estudiando los criterios de reconocimiento de los estadios del ciclo, describen someramente la estructura del tegumento.

Del análisis de todos los trabajos mencionados se concluye que los autores han estudiado detalladamente la composición química y física de las distintas capas de la cutícula, así como sus variaciones durante el ciclo, estableciendo claramente la dinámica de la sucesiva formación y desaparición de los estratos cuticulares; esa sucesión cíclica es similar en todos los grupos de Decápodos. Sin embargo, no se ha profundizado en otros aspectos, tales como las modificaciones epidérmicas y conjuntivas y sus interrelaciones.

Paralelamente se iniciaron otros estudios tendientes a establecer la relación entre los centros nerviosos y el ciclo de muda, ya que desde 1930 se mencionaba la posibilidad de que el proceso de muda estuviera bajo control endocrino (Fingerman, 1970). Abramowitz y Abramowitz (1940) mediante la remoción de los pedúnculos oculares confirmaron la ubicación de un centro neurosecretor de carácter inhibitorio que regulaba la frecuencia de muda; otros autores determinaron que el centro neurosecretor está compuesto por el Organo X (pars ganglionaris) y la glándula del seno y que ésta última contiene una hormona inhibidora de la muda (Brown y Cunningham, 1939; Smith, 1940).



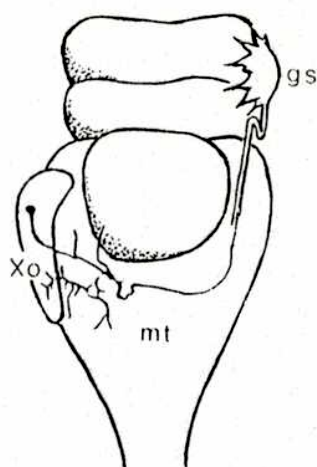


Figura 3: Localización de los principales órganos neurosecretorios del pedúnculo ocular de Crustáceos, según Cooke y Sullivan (1982).

gs: glándula del seno; mt: médula terminalis;  
Xo: órgano X.

El refinamiento de las técnicas quirúrgicas permitió la remoción de la glándula del seno sin dañar el resto de los centros del pedúnculo ocular, no registrándose cambios de la frecuencia de muda (Kleinholz, 1947); otros estudios histológicos en *Gecarcinus lateralis* revelaron una estructura no glandular de dicha "glándula" (Bliss, 1953). Passano (1953) postuló que los somas de las células neurosecretoras del Organo X sintetizaban una hormona inhibidora de la muda (HIM), la cual era transportada intraxonalmente y almacenada en la glándula del seno, que luego podía liberarla a la hemolinfa. Esta hipótesis fue confirmada en varias especies: *Gecarcinus lateralis* (Bliss,

1951); *Sesarma* sp. (Enami, 1951) y *S. reticulatum* (Passano, 1951 a y b).

Poco después, Gabe (1953) postuló la presencia de una hormona de la muda producida por el órgano Y de los Malacostraca, que sería equivalente a la glándula protorácica de los insectos.

Quedó así establecida la existencia de un complejo neurosecretor similar a los propuestos para insectos (Scharrer y Scharrer, 1944) y para los Vertebrados (Bargmann y Scharrer, 1951).

El esquema de la figura 4 muestra el paralelismo en la secuencia de fenómenos relacionados con el proceso de muda en insectos y crustáceos.

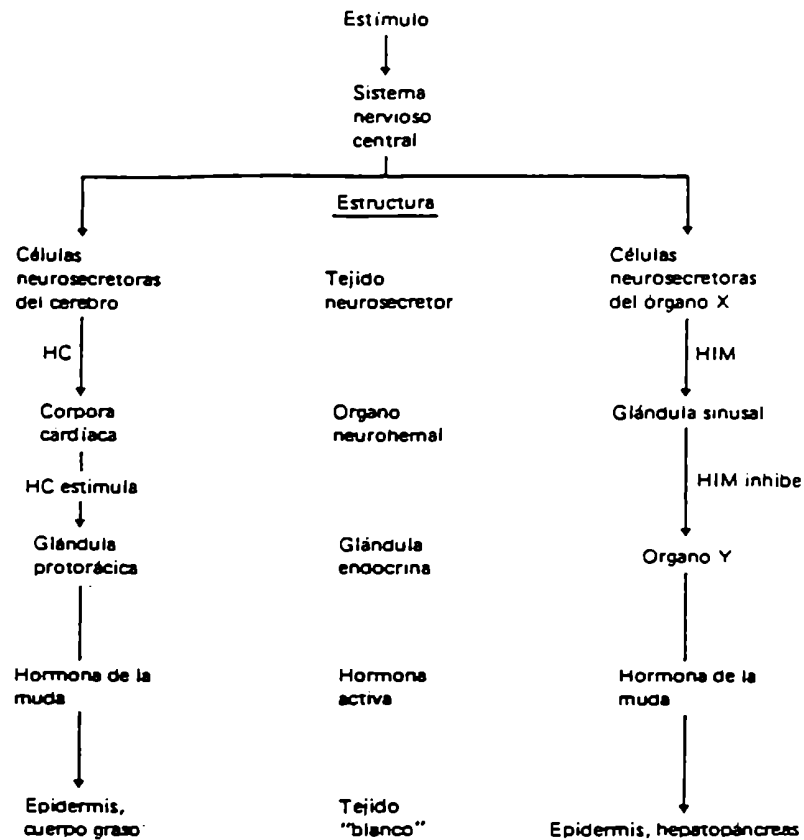


Figura 4: Paralelismo del proceso de muda en insectos y crustáceos.

HC: hormona cerebral; HIM hormona inhibidora de la muda.

A partir de 1950 se llevaron a cabo numerosos estudios histológicos de los órganos neuroendócrinos de los Decápodos, empleando técnicas histológicas clásicas e histoquímicas, que permitieron la localización de diversos tipos neuronales y terminaciones nerviosas. En 1953 Carlisle y Knowles definen el término "órgano neurohemal" para describir una estructura especializada en la cual las terminaciones nerviosas entran en contacto con el sistema circulatorio. De esos primeros trabajos deben mencionarse los de Durand (1956) que identificó los tipos celulares del órgano X y ganglio cerebral de *Orconectes virilis*; Matsumoto (1954 y 1962) que realizó detallados estudios sobre diversos órganos neurosecretorios de dos especies de cangrejos: *Eriocheir japonicus* y *Hemigrapsus* sp. En cuanto a peneidos, Nakamura (1978) con *Penaeus japonicus* completó una serie de trabajos de enfoque histológico y bioquímico sobre los principales centros neurosecretorios de esa especie. Una revisión acabada de la anatomía e histología del sistema endocrino de los diversos grupos de Crustáceos la presenta Gabe (1966).

A comienzos de la década del 60 se inicia el estudio de los órganos neuroendócrinos mediante microscopía electrónica, destacándose las investigaciones de varios grupos franceses, que prosiguen en esta línea (Bellon-Humbert et al., 1981; Chaigneau, 1982; Bellon-Humbert y Chaigneau, 1982).

Respecto al conocimiento sobre la endocrinología de los Crustáceos, los primeros trabajos publicados en la segunda mitad de la década del 20, tuvieron como objetivo lograr la identificación de las fuentes hormonales y las funciones de las supuestas hormonas; uno de los principales logros fue determinar que la mayoría de las hormonas involucradas son producto de la neurosecreción (Fingerman, 1970).

Estudios posteriores establecieron que en los Artrópodos

el proceso de muda se halla bajo control de un grupo de hormonas de naturaleza esteroide, denominadas genéricamente ecdisonas. En esa etapa inicial el mayor interés se centró en la bioquímica de los esteroides de los insectos (Goad, 1978); el estudio del rol fisiológico de la glándula protorácica y de la química de su hormona de la muda condujo a la identificación de la  $\alpha$ -ecdisona en 1954 y la  $\beta$ -ecdisona en 1956 (Vernet, 1976). La semejanza funcional entre la glándula protorácica de los insectos y el órgano Y de los Crustáceos, sugirió que la misma hormona debía estar involucrada en ambos grupos de Artrópodos; esta hipótesis fue confirmada efectuando varios estudios cruzados con especies de crustáceos y hormonas de insectos, que prueban la similitud química de esos productos (Kleinholz y Keller, 1979).

A partir de 1960 se iniciaron investigaciones para detectar este tipo de sustancias en crustáceos: en 1966 se aisló la 20-hidroxiecdisona que fue denominada crustecdisona o ecdisterona (Vernet, op. cit.); posteriormente se identificó también la  $\alpha$ -ecdisona en la glándula Y de *Cancer pagurus* (Chang y O'Connor, 1979), *Homarus americanus* y *Orconectes limosus* (Kleinholz y Keller, op. cit.).

En otros trabajos se constató que el lugar de síntesis de la  $\alpha$ -ecdisona es el órgano Y (Spaziani y Kater, 1973) y que luego es liberada a la hemolinfa e hidroxilada a su forma activa, la 20-hidroxiecdisona, en otros tejidos blanco (Lachaise et al., 1976) y que los animales a los que se ha extirpado el órgano Y son incapaces de mudar (Skinner, 1985).

Sucesivamente se han conocido numerosas publicaciones en las que se describe el efecto de las ecdisonas en por lo menos, quince especies de Crustáceos y otras en los que se establece claramente el rol de estas hormonas en el proceso de muda, pudiendo citarse la de Krishnakumaran y Schneiderman (1969) quienes de-

mostraron que la ecdisterona acorta el tiempo de intermuda en el cangrejo de ría *Procambarus* sp. ablacionado e induce a la muda en ejemplares intactos, así como en una especie de cangrejo (*Uca pugilator*) y otra de isópodos (*Armadillidium vulgare*). En peneidos, Kurata (1968) trabajando con *Penaeus japonicus*, observó que se promovía la muda empleando inokosterona como precursor.

En cuanto a la concentración de la hormona de la muda durante el ciclo, Chang y O'Connor (1979) indican a la ecdisterona como hormona de la muda de *Pachygrapsus crassipes* demostrando que la regulación del ciclo depende de los niveles hormonales circulantes. Por otra parte Vernet (1976) señala que las ecdisonas no parecen encontrarse en la misma concentración durante el ciclo presentando picos máximos en  $D_0$  y  $D_3-D_4$ , es decir que es responsable de la iniciación de la premuda, aunque también influye sobre otras funciones tales como el endurecimiento de la cutícula, regeneración de miembros y otros procesos metabólicos como cambios de color y maduración gonadal (Adiyodi y Adiyodi, 1970).

A mediados de la década del 70 se iniciaron investigaciones tendientes a establecer los pasos de la biosíntesis de las ecdisonas y su metabolismo. Nuevamente los primeros trabajos se realizaron con insectos y posteriormente con crustáceos, bajo la hipótesis de que las ecdisonas derivan de un precursor tipo esteroide, en particular el colesterol (Skinner, 1985).

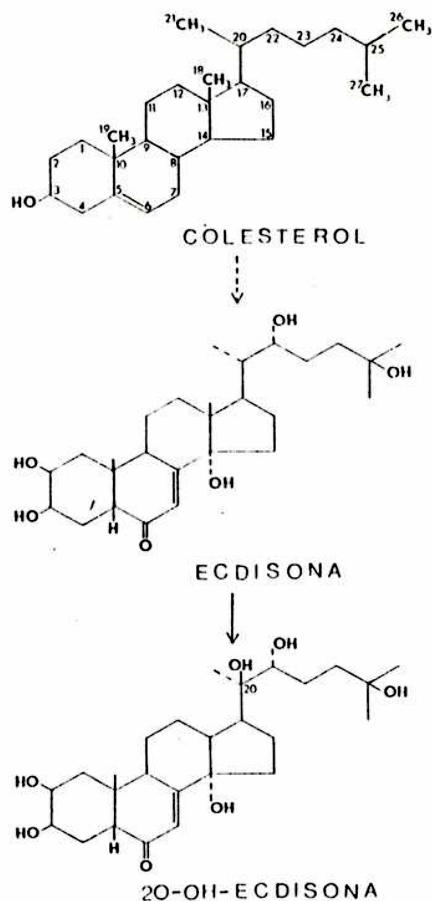


Figura 5: Estructura del colesterol y ecdisonas y su probable vía de síntesis.

La incorporación selectiva de colesterol marcado con  $C^{14}$  por la glándula Y de *Hemigrapsus nudus* y la identificación de los ecdisteroides por cromatografía en capa delgada fue realizada por Spaziani y Kater (1973). Posteriormente fueron identificadas la  $\alpha$  y  $\beta$ -ecdisona en extractos de glándula de la muda de *Orconectes limosus* incubados con colesterol marcado con  $H^3$ ; también se han aislado cuatro ecdisteroides de ovarios de *Carcinus maenas*, que se supone son los intermediarios entre el coles-

terol y las ecdisonas (Kleinholz, 1985).

Desde otro enfoque, varios autores han comprobado la incapacidad de los Artrópodos para sintetizar colesterol "de novo", pudiendo citarse a Van den Oord (1964) que demostró la ausencia de síntesis de escualeno o colesterol a partir de acetato-1-C<sup>14</sup> o ácido mevalónico. En 1966 Zandee obtuvo resultados similares con *Astacus astacus* y en tres especies de diferentes taxa de Artrópodos: *Homarus gammarus*, *Avicularia avicularia* y *Graphidostrepus tumuliporis* (Zandee, 1967).

Teshima y Kanazawa (1971), Teshima et al. (1976) y Douglass et al. (1981) estudiando la biosíntesis de esteroides en *Penaeus japonicus* y *Portunus trituberculatus*; *Sesarma dehani* y *Cardisoma guanhunii*, respectivamente, llegan a la misma conclusión.

De acuerdo a los resultados conocidos durante las dos últimas décadas, el colesterol es el esteroide más importante de los crustáceos, lo mismo que en mamíferos (Goad, 1978).

A pesar de la falta de biosíntesis de colesterol se ha constatado su presencia en casi todos los tejidos de crustáceos, así como una alta concentración durante todo el ciclo de muda, por ejemplo en *Callinectes sapidus* (Whitney, 1969), *Panulirus japonicus* y *Portunus trituberculatus* (Teshima y Kanazawa, op. cit.), *Penaeus japonicus* (Guary y Kanazawa, 1973; Guary et al., 1974; Kanazawa et al., 1976), *Palaemon paucidens* (Teshima y Kanazawa, 1976), *Eriocheir sinensis*, *Carcinus maenas* y *Homarus vulgaris* (Chapelle, 1977). Todos estos autores concluyen que el colesterol es un nutriente indispensable y destacan su importancia en la dieta de los crustáceos.

Simultáneamente se realizaron otras investigaciones que demostraron la vinculación del colesterol con los principales procesos metabólicos. En cuanto al crecimiento y supervivencia, trabajando con distintos porcentajes de colesterol adicionado a dietas se determinó el óptimo necesario para diversas especies:

así, para adultos de *Penaeus japonicus*, Kanazawa et al. (1971) establecieron que la mejor dieta era la suplementada con 0.5%; posteriormente Deshimaru y Kuroki (1974) para la misma especie indican el 2.1% mientras que para los estadios larvales Teshima et al. (1983) mencionan el 1%. Para *Carcinus maenas*, Ponat y Adelung (1983) lograron el mejor crecimiento con dietas de 1.4 a 2.1% de colesterol; el valor óptimo más bajo en la dieta resultó el 0.12% empleado por D'Abramo et al. (1984) en juveniles de *Homarus* sp.

Respecto a la relación entre el colesterol y el ciclo de muda, en varios estudios se ha establecido la vía metabólica de síntesis de la hormona de la muda a partir de la molécula de colesterol, como se mencionó en párrafos anteriores y que se muestra en la figura 5.

Otros investigadores analizaron la variación de la tasa de muda con relación al contenido de colesterol de la dieta: Castell et al. (1975) calculan una mayor tasa de muda en juveniles de *Homarus americanus* alimentados con dieta con 1% de colesterol vs. otra con 2%; para *Carcinus maenas* la mayor tasa correspondió a las dietas con 1.4 a 2.1% (Ponat y Adelung, op. cit.).

Otro aspecto del metabolismo de esteroides estudiado en crustáceos es el de la modificación de otros esteroides a colesterol, en particular a partir de fitoesteroides: Kanazawa et al. (op. cit.) indican que ejemplares de *Penaeus japonicus* alimentados con dietas suplementadas con ergosterol, stigmasterol y sitosterol tuvieron buen crecimiento y supervivencia, aunque menor que los que consumieron dieta con colesterol. También se ha demostrado la conversión de brassicasterol y fucosterol a colesterol (Teshima et al., 1974). Esto sugiere que esta especie, y probablemente otros crustáceos, pueden utilizar algunos esteroides de  $C_{28}$  y  $C_{29}$  convirtiéndolos en colesterol (Teshima, 1981).



En cuanto a asimilación, empleando una técnica colorimétrica para dosar la absorción con óxido de cromo como indicador, Teshima et al. (1974) establecieron que este proceso depende de la concentración de colesterol en la dieta, con un óptimo entre 0.05 y 1%; dietas con 2 a 5% de colesterol mostraron menor asimilación. Para *A. longinavis*, Martínez et al. (en prensa), presentan un modelo cuadrático con máxima absorción para la dieta de 2% de colesterol.

En revisiones recientes se ha puesto en evidencia la necesidad de colesterol para el mantenimiento de la estructura de la membrana celular y otras organelas celulares tanto en mamíferos como en insectos (Teshima, 1981); a las mismas conclusiones han arribado Whitney (1969) para *Callinectes sapidus* y Kanazawa et al. (1976) y Galois (1980) para *Penaeus japonicus*.

Se dispone de una gran información acerca del crecimiento de los Artrópodos, lo cual ha permitido establecer algunas reglas generales que lo expresan.

En organismos sin exoesqueleto la longitud cambia continuamente, pero en aquellos como Crustáceos que tienen un exoesqueleto no extensible el crecimiento se transforma en un proceso esencialmente discontinuo.

Una consecuencia de esa naturaleza discontinua del crecimiento es que puede ser dividido en dos componentes: uno es el incremento por muda o factor de crecimiento; es el aumento que ocurre en cada ecdisis. El segundo es el período de intermuda o intervalo de muda: es la duración entre dos mudas sucesivas.

Esos dos elementos del proceso de crecimiento son esencialmente discretos, y a veces exhiben respuestas muy diferentes a cambios extrínsecos o intrínsecos; esto implica que un apropiado entendimiento de este proceso demanda que se los analice separadamente (Hartnoll, 1982).

En cuanto al factor de crecimiento, Dyar (1890) y otros demostraron para insectos que en cada muda el animal crece en una proporción fija; ésta se conoce como regla de Dyar y matemáticamente se expresa:

$$\log Y = a + bX \quad \text{donde } Y = \text{longitud de la cabeza}$$

$$X = \text{estadio}$$

$$a \text{ y } b = \text{constantes}$$

Poco después, Fowler (1909) en un estudio sobre el crecimiento de Ostrácodos estableció:

$$L = \beta e^{\alpha S} \quad \text{siendo } L = \text{longitud del cuerpo}$$

$$S = \text{estadio}$$

$$\alpha \text{ y } \beta = \text{constantes}$$

que expresada en forma logarítmica:  $\ln L = \ln \beta + \alpha S$ , resulta idéntica a la de Dyar (Kurata, 1962).

Durante un tiempo prevaleció el concepto de que el factor de crecimiento permanecía constante en cada muda, posteriormente se probó que los individuos pequeños crecían más que los grandes. Este fenómeno está lo suficientemente difundido por lo que se lo considera la condición prevalente en los Crustáceos y ha sido comprobado para un gran número de especies de Decápodos: *Cancer pagurus* (Olmstead y Baumberger, 1923), *Panulirus argus* (Travis, 1954), *Pleoticus muelleri* (Angelescu y Boschi, 1959), *Penaeus japonicus* (Choe, 1971) y *Palaemon serratus* (Richard, 1978).

Si bien se propusieron otras ecuaciones para describir el crecimiento, debe destacarse el sistema propuesto por Hiatt (1948), quien trabajando con *Pachygrapsus crassipes* empleó un diagrama en el cual representó en la abscisa la longitud premuda y en la ordenada la longitud postmuda, obteniendo una línea recta. Con este diagrama es posible calcular el tamaño para cada estadio sucesivo, así como el número de mudas necesario para alcanzar una longitud determinada.

Este método ha sido aplicado para analizar el crecimiento de varias especies de Crustáceos y desarrollado en particular por Kurata (1962) con datos originales para *Porcellio scaber*, *Pandalus kessleri*, *Cambaroides japonicus*, *Paralithodes camtschatica* y *P. brevipes*, *Eriocheir japonicus* y *Hemigrapsus sanguineus* y para otras especies con datos de la bibliografía.

Kurata generalizó el sistema de Hiatt, para longitud total y peso, estableciendo las siguientes ecuaciones:

$$L_{n+1} = a + bL_n \quad \text{donde } L_n \text{ y } L_{n+1} = \text{dimensiones antes y después de la muda}$$

a y b = constantes

$$W_{n+1} = c + dW_n \quad \text{donde } W_n \text{ y } W_{n+1} = \text{peso antes y después de la muda}$$

c y d = constantes

Las constantes b y d representan los coeficientes de crecimiento; estas ecuaciones se ajustan a un modelo de regresión simple.

De acuerdo al valor del coeficiente, el patrón de creci-

miento corresponde a uno de estos tres tipos:

- $b > 1$  : crecimiento geométrico progresivo: el incremento post-exuvial aumenta con el tamaño (o peso) pre-exuvial.
- $b < 1$  : crecimiento geométrico regresivo: el incremento post-exuvial disminuye con el tamaño (o peso) pre-exuvial.
- $b = 1$  : cantidad de crecimiento post-exuvial es independiente del tamaño (o peso) en premuda y permanece constante.

Con propósitos prácticos, Kurata adoptó los siguientes valores:

- 1.-  $b \geq 1.05$  : crecimiento geométrico progresivo.
- 2.-  $1.05 > b \geq 0.95$  : crecimiento geométrico regresivo.
- 3.-  $b < 0.95$  : crecimiento aritmético.

adoptando los mismos valores cuando se considera el peso.

En 1976, Mauchline, en un estudio sobre crecimiento en Crustáceos, hizo una revisión del sistema empleado por Kurata, encontrando, en algunos casos, un mejor ajuste a una hipérbola y correlaciones estadísticamente significativas entre el porcentaje de incremento y la longitud en premuda y el logaritmo del porcentaje de incremento y la longitud en premuda.

Cualquiera sea la ecuación de ajuste, se ha comprobado que el coeficiente  $b$  para longitud total está generalmente entre 0.8 y 1.4 y que es mayor para jóvenes que para adultos. Para éstos, se ha visto en varias especies que el sexo parece no afectar el incremento por muda: en *Penaeus japonicus* (Choe, 1971), *Panulirus longipes* (Chittleborough, 1975). En otros casos, las hembras crecen menos que los machos: *Paralithodes camtchásica* (Kurata, 1962), *Cancer pagurus* (Bennett, 1974), debido a que mucho del alimento consumido es empleado para nutrir los óvulos en desarrollo, por lo que el factor de crecimiento debería ser analizado separadamente para hembras maduras e inmaduras.

Otros procesos metabólicos y ciertas condiciones ambientales modifican al factor de crecimiento.

Entre los primeros, la regeneración de los apéndices disminuye el aumento en longitud, tal como han comprobado Hiatt (1948) para *Pachygrapsus crassipes*; Travis (1954) para *Panulirus argus* y Kurata (op. cit.) para *Cambaroides japonicus* y *Hemigrapsus sanguineus*.

En cuanto a la alimentación, se ha constatado menor crecimiento en especies subalimentadas o con ciertas carencias en la dieta, pudiendo citarse a *Cambaroides japonicus* (Kurata, op. cit.); *Palaemon serratus* (Forster, 1974); *Penaeus japonicus* (Choe, op. cit.) y *Panulirus longipes* (Chittleborough, op. cit.).

De los factores ambientales, deben mencionarse los efectos de la luz, salinidad y temperatura.

Con referencia a la luz, se ha demostrado que ni la duración, ni la intensidad afectan al factor de crecimiento. Respecto a la salinidad, el crecimiento no se modifica dentro de un amplio rango (Hartnoll, 1982). Los efectos de la temperatura son variables: en algunas especies se reduce el incremento; *Cyprinotus* sp. y *Porcellio scaber* (Kurata, op. cit.); *Palaemon*

*serratus* (Tchernigovtzeff, 1965) y *Panilurus longipes* (Chittleborough, 1975); este efecto podría deberse a un acortamiento del período de intermuda como se verá más adelante. Para dos especies se menciona un aumento de crecimiento: *Eriocheir sinensis* y *Rhithropanopeus harrisi* (Hartnoll, 1982).

Respecto al segundo componente del crecimiento, es decir el intervalo entre dos mudas o período de intermuda, se ha comprobado que es extremadamente variable: puede durar desde pocas horas o un día (estadios larvales o adultos como *Cyprinotus* sp., Kurata, 1962) hasta dos o tres años, como en hembras maduras de grandes decápodos como *Cancer pagurus*. También se han propuesto algunas ecuaciones que relacionan la duración del intervalo de muda y el tamaño, según lo siguiente:

Período de intermuda vs. Longitud<sup>3</sup> (Kurata, 1962)

Log del período de intermuda vs. peso<sup>1/3</sup> (Hewett, 1974)

Log del período de intermuda vs. longitud (Mauchline, 1976)

Período de intermuda vs. longitud (Mauchline, 1977)

Comparando los resultados se concluyó que se ajustan a modelos de regresión lineales y que sus coeficientes de correlación son prácticamente los mismos, por lo que podrían emplearse indistintamente.

La duración de este período varía no sólo entre especies, sino también intraespecíficamente como consecuencia de la acción de diversos factores internos y externos (Hartnoll, op. cit.).

Entre los primeros, quizá el más importante sea el estado de madurez sexual. Varios autores han comprobado que antes de la madurez el intervalo de muda es casi igual para machos y hembras: Kurata (op. cit.) para *Cambaroides japonicus* y *Hemigrapsus sanguineus*; Choe (1971) para *Penaeus japonicus* y Sardá (1985)

para *Nephrops norvegicus*. En cambio se ha observado que las hembras después de la pubertad mudan menos frecuentemente, crecen más lentamente y alcanzan tamaños menores, como en *Pachygrapsus crassipes* (Hiatt, 1948); *Panulirus argus* (Travis, 1954); *Cancer pagurus* (Bennett, 1974) y *Nephrops norvegicus* (Sardá, 1985).

De los factores externos, la luz actúa en distintas formas. Así, la duración de la fotofase clara puede no modificar la intermuda; un período de oscuridad más extenso la acorta o la alarga, según las especies (Hartnoll, 1982).

La temperatura es el más importante factor extrínseco y en general su aumento reduce el intervalo de muda en todos los estadios, desde larva a post-larva. Este fenómeno ha sido verificado en un gran número de especies de casi todos los taxa de Crustáceos (Hartnoll, op. cit.).

Sin embargo en estado adulto, la muda no siempre implica aumento de tamaño, según el momento del ciclo de vida tal como desarrollo gonadal, vitelogénesis, etc.; esto ha sido demostrado en *Pachygrapsus crassipes* (Hiatt, op. cit.), *Palaemon serratus* (Drach, 1955) y otras especies (revisión en Adiyodi y Adiyodi, 1970).

Otros autores, como Marshall (1945) trabajando con *Panulirus argus* o Stewart y Squires (1968) con *Homarus americanus* observaron que cuando los animales se mantienen confinados en pequeños acuarios no crecen o lo hacen muy poco, es decir el intervalo de muda es más prolongado, mientras que Hughes y Mathiesen (1962) para esta última especie y Sardá (op. cit.) para *Nephrops norvegicus* demostraron que en laboratorio la frecuencia de muda y el crecimiento tienen el mismo ritmo que en la naturaleza. Generalizando estos conceptos, Kurata (1962) indica que los resultados experimentales dependen del tamaño de los individuos y del tiempo de confinamiento.

En peneidos, y de acuerdo a los resultados de Hudinaga (1942), Elred et al. (1961) y Choe (1971), el estudio del crecimiento puede llevarse a cabo en laboratorio; estos autores postulan que en la mayoría de las especies de esta familia el crecimiento lineal es más rápido durante ciertos estadios del desarrollo, que algunas especies crecen con tasas mayores que otras y que el crecimiento disminuye con la edad.

Para las especies de Peneidos del mar argentino no se han llevado a cabo estudios de crecimiento de adultos en laboratorio. Angelescu y Boschi (1959) estudiaron el crecimiento del langostino *Pleoticus muelleri* y Boschi (1969a) el del camarón *A. longinarius* mediante muestreo mensual de la población natural, encontrando una disminución paulatina en el ritmo de crecimiento en las clases de mayor tamaño.

Respecto a Peneidos argentinos y debido a su importancia económica, el camarón *A. longinarius* Bate, 1888 y el langostino *Pleoticus muelleri* son las especies que mayor atención han recibido por parte de distintos investigadores. Así, se han llevado a cabo trabajos referentes a distribución geográfica, biología, desarrollo larval y cultivo por Boschi (1969, a y b ; Boschi y Scelzo (1969a, 1971, 1974 y 1976) y por Fenucci (1977); en cuanto a nutrición y crecimiento en laboratorio por Fenucci et al. (1981 y 1983) y sobre requerimientos de ácidos grasos por Petriella et al. (1984) y relacionados con estructura de la población y estudios biológico pesqueros por Boschi (1969 a y Boschi y Scelzo, 1971).

Sin embargo es prácticamente nula la información sobre el ciclo de la muda y los factores internos y externos que la regulan. En especies afines, en particular las del género *Penaeus*, además de numerosos trabajos sobre condiciones de cultivo se han realizado estudios sobre setogénesis, morfología de los centros neurosecretores, identificación y metabolismo de diversas hormo-



nas y procesos que regulan, modalidades de la exuviación, análisis de crecimiento en laboratorio y en la naturaleza, importancia del colesterol incorporado a la dieta como promotor del crecimiento y precursor de las hormonas esteroidales, como ya se han mencionado en los párrafos anteriores.

Dado que los resultados obtenidos no han sido en algunos casos coincidentes, se concluye que, a pesar de ser un proceso universal en los crustáceos, la muda es un fenómeno de gran complejidad e importancia metabólica que merece un estudio integral, debiendo ser estudiado en sus diferentes aspectos y mediante técnicas adecuadas para cada especie.

## PLANTEO ESPECIFICO DEL TEMA DE TESIS

El tema presentado propone iniciar el estudio de la biología de la muda del camarón *Artemesia longinaris*, enfatizando sobre algunos aspectos de manera de alcanzar la descripción morfológica de la ecdisis y su relación con ciertos factores internos y externos que la controlan.

Para ello se plantea la hipótesis que la muda de esta especie responde al esquema general descrito para especies afines, por lo cual se supone su control mediante el accionar de la hormona inhibidora de la muda (HIM) secretada por los centros neurosecretorios del pedúnculo ocular y la hormona promotora de la muda (HM), secretada por el Organo Y, así como la naturaleza esterooidal de la HM y su dependencia de una molécula precursora como el colesterol incorporado a la dieta.

Como resultado del estudio propuesto se espera:

- 1.- Describir el ciclo de la muda de esta especie, estableciendo el reconocimiento de los distintos estadios mediante el empleo de parámetros morfológicos tales como el desarrollo de las sedas de ciertos apéndices, grado de rigidez del exoesqueleto, pigmentación, etc. y comprobar si puede incluirse dentro del esquema general propuesto para los Crustáceos Penéidos; determinar la duración relativa de cada estadio.
- 2.- Describir la estructura del tegumento, en cada uno de los estadios, a fin de visualizar los cambios tegumentarios durante el ciclo de muda, empleando técnicas histológicas.
- 3.- Determinar la modalidad de la ecdisis, frecuencia de muda y ritmo de crecimiento en laboratorio, dado que para esta especie se conocen solamente los datos de crecimiento poblacional.
- 4.- Determinar la influencia del colesterol sobre la frecuencia de muda y el crecimiento, a través de su incorporación a la

dieta en distintos porcentajes, empleando dietas artificiales preparadas en laboratorio.

- 5.- Establecer las modificaciones de la setogénesis y duración del ciclo de muda por acción del colesterol adicionado a la dieta.

## 2. MATERIALES Y METODOS

## 2. MATERIALES Y METODOS

### 2.1 Preparación de acuarios

El ciclo de la muda se estudió en ejemplares subadultos y adultos (0.50-6.20 g) capturados con una lancha de pesca comercial en la zona costera de Mar del Plata.

Los acuarios fueron armados según la técnica utilizada comúnmente (Boschi, 1972), que consiste en colocar sobre la base del tanque un sistema de caños de PVC, de 13 mm de diámetro interno, perforados de lado a lado para asegurar el paso del agua y cubiertos por capas sucesivas de conchilla, arena gruesa y arena fina, formando un sustrato no mayor de 5 cm de espesor. En dos extremos del filtro se colocan burbujeadores que permiten la circulación del agua y el sistema se conecta a tubos flexibles para inyectar aire. Tanto la conchilla como la arena se obtuvieron de una playa no contaminada de Mar del Plata y fueron lavadas con agua dulce y de mar antes de ser utilizadas. Para el llenado de los acuarios se empleó agua de mar de 34‰ de salinidad, envejecida y filtrada a través de un filtro Millipore de 8  $\mu$ .

Se emplearon distintos tamaños de acuarios según los diferentes aspectos estudiados: pequeños acuarios de 10 l para el mantenimiento de ejemplares en forma individual o de mayor tamaño (0.80 m x 0.40 m x 0.30 m; 65 l) cuando se experimentó con lotes de camarones; en este último caso se distribuyeron de forma de mantener una densidad aproximada de 37 animales/m<sup>2</sup>.

### 2.2 Alimentación

En todos los casos se alimentó a los individuos dos veces por día, a la mañana y a media tarde, registrando la presencia de mudas y muertes y la temperatura del agua, retirando diariamente el alimento no consumido. Se comenzó alimentando con el 5% de la biomasa de cada acuario, modificando esa cantidad según los requerimientos "ad libitum".

El alimento utilizado consistió en una dieta artificial que ha demostrado buena eficiencia para esta especie (Fenucci et al., 1981). Para la preparación de esta dieta se utilizó el método de extrusión en frío, según las técnicas del National Fisheries Service de Galveston, USA (Meyers et al., 1972; Meyers y Zein-Eldin, 1972; Fenucci y Zein-Eldin, 1979). Se empleó alginato de sodio como agente ligante y hexametáfosfato de sodio como estabilizador, los cuales fueron disueltos en agua destilada (50°C) antes de adicionarlos al resto de los componentes, y agua de cola de harina de pescado concentrada como elemento de atracción. La composición porcentual de la dieta se muestra en la tabla 1.

Las harinas fueron elaboradas en el laboratorio a partir de material fresco provisto por una planta procesadora de mejillones o adquirido en el puerto de Mar del Plata (calamar). Para preparar la harina de mejillón, luego de hervirlos se los separó de las valvas y se secaron en estufa a 58°- 60°C, moliéndose con una licuadora, tamizando el molido y utilizando la fracción más fina. El polvo así obtenido fué secado a estufa a la misma temperatura. Para la elaboración de la harina de calamar se empleó solamente el manto y tentáculos descartando los órganos internos a fin de evitar variaciones, en particular las debidas al distinto grado de madurez gonadal, siguiendo el mismo procedimiento que en el caso anterior. La harina de soja y el afrechillo se adquirieron en el comercio y en cuanto a las vitaminas, se empleó un complejo vitamínico cuya composición figura en la tabla 1.

Para preparar la dieta se usó una mezcladora y una máquina de extrusión con una rejilla de 4 mm de diámetro; una vez obtenidos los pellets se secaron en estufa a 50°C.

### 2.3 Preparación de dietas de los experimentos con colesterol

Para evaluar la influencia del colesterol sobre la muda se diseñaron experimentos usando una serie de dietas con diferente

contenido de colesterol, preparadas de la misma forma que se describió anteriormente, pero empleando harinas desgrasadas. Para ello, todas las harinas utilizadas fueron lavadas 4-5 veces en alcohol etílico a 60°C, y luego filtradas y secadas en estufa a la misma temperatura. El contenido total de lípidos de estas harinas se mantuvo entre 1 y 2%. Las distintas dietas fueron preparadas reemplazando el afrechillo con diferentes porcentajes de colesterol puro (marca Merck). Las cantidades de colesterol adicionadas fueron 0.5, 1, 2, 3 y 4%. El contenido real de colesterol de las dietas fue determinado por cromatografía gas-líquido, correspondiendo a los siguientes valores: 0.2; 0.4; 0.7; 1.3; 2.1 y 2.9, respectivamente (ver apéndice). La composición porcentual de las dietas se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Composición porcentual de las dietas

Componente	E	E <sub>0.2</sub>	E <sub>0.4</sub>	E <sub>0.7</sub>	E <sub>1.3</sub>	E <sub>2.1</sub>	E <sub>2.9</sub>
Calamar	15	15	15	15	15	15	15
Pescado	20	20	20	20	20	20	20
Mejillón	30	30	30	30	30	30	30
Soja	5	5	5	5	5	5	5
Afrechillo	22	22	21.5	21	20	19	18
Colesterol	-	-	0.5	1	2	3	4
Otros*	8	8	8	8	8	8	8

\*: Concentrado de pescado: 3; alginato de Na: 2; Hexametáfosfato de Na: 1; Vitaminas: 2.: Vit. A: 20.000 UI; Vit. D: 4.000 UI; Vit. C: 149 mg; Vit. E: 16.5 mg; Vit. B<sub>1</sub>: 3.3 mg; Vit. B<sub>2</sub>: 3.3 mg; Vit. B<sub>6</sub>: 3.3 mg; Vit. B<sub>12</sub>: 0.0065 mg; Pantotenato de Ca: 9.9 mg; Biotina: 0.066 mg; Inositol: 16.5 mg; Clorhidrato de Colina: 248 mg; Ac. p-aminobenzoico: 16.5 mg; Ac. fólico: 0.30 mg; Niacinamida: 14.9 mg.

En todos los casos se efectuó el análisis proximal de las dietas en cuanto a proteínas, lípidos, cenizas y humedad.

El Nitrógeno total fue determinado por el método de Kjeldahl (Moreno y Aizpún, 1969), y el porcentaje de proteína cruda fue calculado multiplicando el %N por 6.25.

Los lípidos totales se midieron usando la técnica descrita por Hanson y Olley (1963). Las cenizas fueron determinadas por calcinación a 500°-550°C. La humedad se evaluó secando a 100°C hasta peso constante (Moreno y Aizpún, op. cit.).

La composición proximal de las dietas se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Composición proximal de las dietas

	Humedad	% en peso seco		
		Proteínas	Lípidos	Cenizas
E <sub>0.2</sub>	1.8	63.5	1.04	11.63
E <sub>0.4</sub>	2.6	63.7	3.25	11.35
E <sub>0.7</sub>	9.5	62.8	4.02	11.46
E <sub>1.3</sub>	7.9	63.5	4.62	10.88
E <sub>2.1</sub>	3.2	61.3	6.81	11.15
E <sub>2.9</sub>	3.4	61.6	7.97	11.49

#### 2.4 Setogénesis

Los animales, cuyos pesos oscilaron entre 0.70 y 1.25 g se mantuvieron en forma individual en acuarios de 10 l.



Los estadios de la muda se identificaron por observación microscópica del ápice de los urópodos; para ello se cortó un trozo de la porción distal de aproximadamente 3 mm de longitud, el día de la muda y cada tres días; este intervalo fue variado hasta lograr la descripción completa del ciclo.

El material fue montado en agua de mar y observado por transparencia; se realizaron esquemas de cada estadio mediante cámara clara y se fotografió con un fotomicroscopio Leitz.

Las observaciones fueron efectuadas siempre sobre material fresco para evitar la retracción provocada por la fijación; posteriormente se fijó en formol al 5% (con agua de mar) comprobándose que no sufre alteraciones durante 30-40 días, pasado dicho período la retracción y desorganización de los tejidos impide su correcta identificación.

La descripción de los estadios se realizó según el esquema presentado por Drach y Tchernigovtzeff (1967). La nomenclatura empleada respecto a las diferentes capas, que componen el tegumento sigue lo propuesto por Skinner (1962), como se muestra en la figura 4 de la Introducción.

## 2.5 Duración de estadios

Una vez establecido el criterio de reconocimiento de los estadios se inició el estudio de la duración de cada uno.

Dado que no se disponía del número necesario de acuarios pequeños para mantener los camarones aislados, se decidió emplear una marca a fin de individualizarlos correctamente después de cada muda. En un primer intento se probó una pintura acrílica con un lote de 15 camarones, colocando una pequeña gota sobre el cefalotórax. Si bien la marca no alteró el comportamiento, a los 2-3 días se despegaba, razón por la cual se desechó este método.

Se realizó una segunda prueba, empleando un cuadrado de lá-

tex de color de aproximadamente 3 mm de lado, adhiriendolo con una gotita de pegamento acrílico de secado rápido. Este método dió excelentes resultados, ya que la marca permanece adherida al exoesqueleto y es eliminada junto con él en la ecdisis, permitiendo reconocer al ejemplar que ha mudado.

Usando cuatro colores y dos camarones sin marca (de tallas muy distintas) se logró trabajar con lotes de 6 individuos por acuario, no observándose cambios de comportamiento alimentario ni de exuviación, respecto de los animales sin marca.

Para determinar la duración de cada estadio se mantuvieron 30 ejemplares en lotes de seis por acuario, durante dos o más ciclos de muda siguiendo la setogénesis como ya se ha descrito, a intervalos variables.

Además de estas observaciones en laboratorio se realizaron dos muestreos de aproximadamente 100 camarones provenientes de captura, reconociendo el estadio por observación de los urópodos; sobre la base del número de ejemplares en cada estadio, se calculó la frecuencia.

## 2.6 Cambios tegumentarios

Los cambios tegumentarios durante el ciclo de muda se estudiaron a través de la observación histológica.

Se emplearon 5 ejemplares de camarón adulto provenientes de captura en los diferentes estadios (A, B, C, D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>), reconocidos por la setogénesis de la porción distal de los urópodos, fijando un segmento abdominal completo.

La fijación se realizó en Bouin durante 12-16 horas; luego de deshidratar en una serie progresiva de alcohol etílico, se mantuvo en una mezcla de partes iguales de etílico-butílico por tres días, a fin de ablandar la cutícula. Posteriormente se realizó la inclusión en butílico-parafina y parafina. Se efectuaron

cortes de 5  $\mu$ , que fueron coloreados con hematoxilina-eosina, para la descripción celular. Otros cortes se emplearon para aplicar las técnicas de Schiff para reconocimiento de mucopolisacáridos básicos y Alcian-blue para mucopolisacáridos ácidos (Pearse, 1968; Martoja y Martoja, 1970). Una vez lograda la descripción, se obtuvieron las microfotografías correspondientes y esquemas mediante cámara clara.

## 2.7 Crecimiento y frecuencia de muda

Se emplearon 30 ejemplares adultos de ambos sexos, con pesos entre 0.60 y 6.20 g. Los individuos se mantuvieron aislados en pequeños acuarios de 10 l.

Al inicio del experimento y tres días después de la exuviación cada ejemplar se pesó con una precisión de 0.01 g y se midió el largo total (extremo anterior del rostro-extremo posterior del telson) pre y post-muda con una regla graduada al milímetro.

El alimento consistió en calamar congelado y dieta artificial. El registro diario de mudas y muertes se complementó con observaciones sobre actividad, captura de alimento y posición sobre el sustrato.

En cinco casos se cuantificó el consumo diario de alimento, pesando el alimento suministrado y el no consumido; en el caso del calamar se eliminó el exceso de agua por absorción con papel de filtro y en caso de los pellets se llevó hasta peso seco en estufa a 60°C durante 24 horas.

En algunos individuos tomados al azar se controló el estado del desarrollo de las sedas de los urópodos para poder correlacionar la actividad alimentaria con el ciclo de la muda.

## 2.8 Influencia del colesterol

### a) Sobre la frecuencia de muda:

Para evaluar la influencia del colesterol sobre la frecuencia de muda, la supervivencia y el crecimiento se realizaron tres ex-

perimentos alimentando los camarones con dietas artificiales preparadas con harinas desgrasadas, como ya se ha descrito, suplementadas con distintos porcentajes de colesterol (tabla 1). Los experimentos duraron entre 43 y 45 días y en cada uno se compararon cuatro dietas (tabla 4).

Las dietas fueron probadas por triplicado, comenzando con 28 ejemplares para cada tratamiento; se usaron acuarios de 65 l y 30 l, provistos de separadores de marco de acrílico y tela de red, a fin de evitar canibalismo.

Los individuos se pesaron al iniciar el experimento y cada quince días, aproximadamente.

La temperatura del agua se mantuvo entre 18-20°C para el primer y tercer experimento y 15-19°C para el segundo.

El primer experimento tuvo una duración de 43 días; el segundo y tercer experimento duraron 45 días cada uno.

Tabla 4. Porcentaje de colesterol de las dietas

Experimento	Contenido de colesterol						
1	0.2	0.4	0.7	1.3			
2	0.2		0.7	1.3	2.1		
3			0.7	1.3	2.1	2.9	

b) Sobre la setogénesis:

El reconocimiento y descripción de los estadios del ciclo de muda de camarones alimentados con dieta artificial con 2.1% de colesterol se realizó aplicando la misma metodología descrita en

los items 2.4 y 2.5.

Para ello se mantuvieron 30 camarones en acuarios de 65 l, en lotes de 6 ejemplares por acuario, marcados con marca de latex, por un período que permitió que cada individuo cumpliera, por lo menos dos ciclos de muda.

Se observó y describió la setogénesis de los urópodos, obteniéndose las microfotografías correspondientes.

Otro grupo similar de camarones se empleó para determinar la duración de los estadios, en un experimento que duró aproximadamente 40 días.

Para corroborar este último aspecto se diseñó otro experimento: un lote de 54 individuos provenientes de captura se separó por estadios (C, D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>), reconocidos por observación de los urópodos; cabe aclarar que no se encontraron individuos en estadios A y B.

La mitad del total de camarones de cada estadio se colocó en acuarios de 100 l, formando dos series de cuatro acuarios. Los ejemplares de uno de estos grupos se alimentaron con dieta E; el resto con dieta E<sub>2.1</sub>. El experimento duró 30 días.

A su finalización se reconoció nuevamente el estadio de todos los camarones. Con los datos obtenidos al comienzo y al final se calculó la frecuencia de cada uno de los estadios, confeccionándose los histogramas correspondientes.

## 2.9 Análisis estadístico de los datos

En el estudio del crecimiento se analizaron estadísticamente las siguientes relaciones: peso premuda en función del peso postmuda y la duración del ciclo; porcentaje de incremento en peso en función del peso premuda; largo total inicial en función del largo total final. En todos los casos se analizó el ajuste a distintos modelos de regresión.

El coeficiente de correlación  $r$  se testeó para  $p \leq 0.05$ , para  $n = 30$  y 28 grados de libertad, de acuerdo a Sokal y Rohlf (1969).

Para analizar los datos obtenidos en los experimentos sobre influencia del colesterol se emplearon los siguientes test: Student y Análisis de Varianza para variación de peso medio e incremento en peso y  $\chi^2$  y ajuste a distintos modelos de regresión para supervivencia; previamente se testeó la homocedasticidad de las varianzas mediante el test de Bartlett (Sokal y Rohlf, op. cit.).

En cuanto a la tasa de muda ( $T_m$ ), fue calculada según el índice propuesto por Brown y Cunningham (1939), de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$T_m = \frac{\text{Porcentaje de mudas}}{\text{Promedio de vida del lote}}$$

$$\text{donde: porcentaje de mudas} = \frac{m}{n_i} \cdot 100$$

siendo  $m = N^\circ$  de mudas

y  $n_i = N^\circ$  de individuos iniciales.

El promedio de vida del lote fue calculado sumando la cantidad de días que sobrevivió cada individuo por el número de individuos.

Las diferencias entre las  $T_m$  se testearon aplicando Análisis de varianza (un camino) y un test "a posteriori" (LSR) según Sokal y Rohlf (op. cit.).

### 3. RESULTADOS

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Determinación y reconocimiento de los estadios del ciclo

La terminología utilizada se muestra en la figura 6 (modificada de Sardá, 1983).

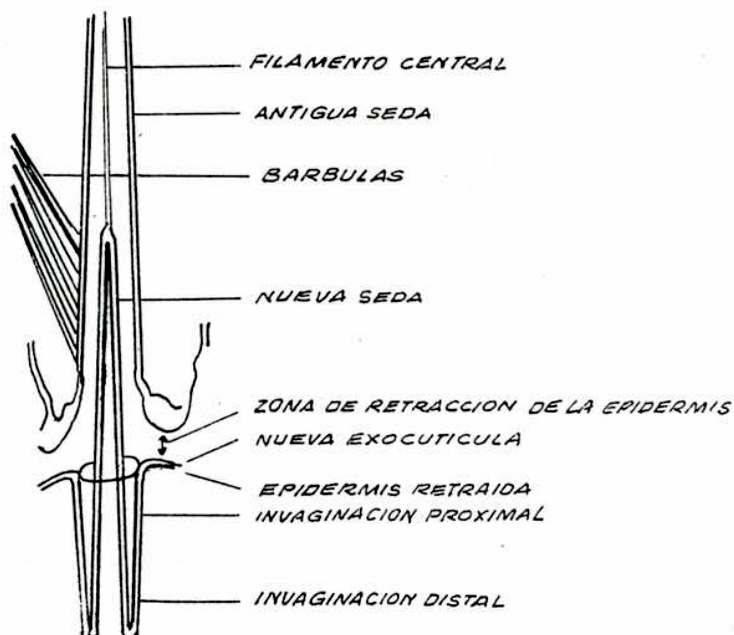


Figura 6: Esquema de una seda de urópodo, en formación.

Inmediatamente después de la muda (estadio A) se observa el urópodo formado por un tejido homogéneo, la hipodermis; la epidermis alcanza la base de articulación de las sedas llenándola totalmente. Las sedas se presentan llenas de citoplasma translúcido o matrix. En algunos ejemplares el tejido subepidérmico aparece recorrido por "canales" que indican los sitios en que se formaron las nuevas sedas, ahora evaginadas (figura 7 A y B). Es el estadio más breve del ciclo, dura entre 12 y 24 horas.





Figura 7. Aspecto morfológico de las sedas en la postmuda. Estadio A.

e: epidermis; m: matriz de la seda

Figura 8. Aspecto morfológico de las sedas en la postmuda. Estadio B.

t: tabique.

La escala representa 50  $\mu\text{m}$ .

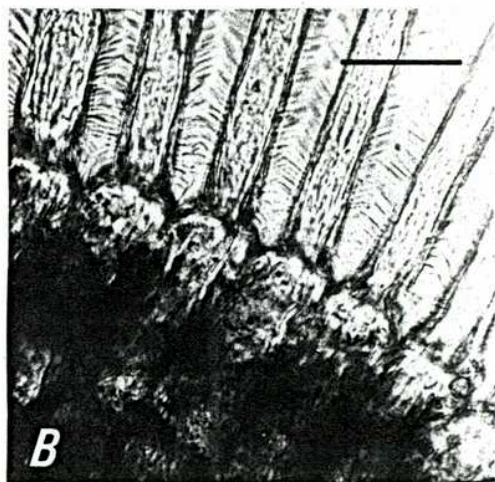
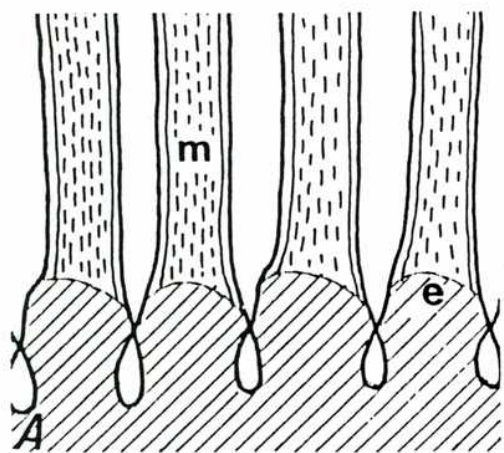


Figura 7

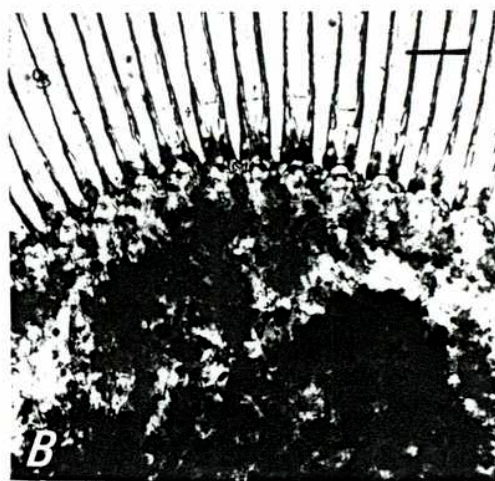
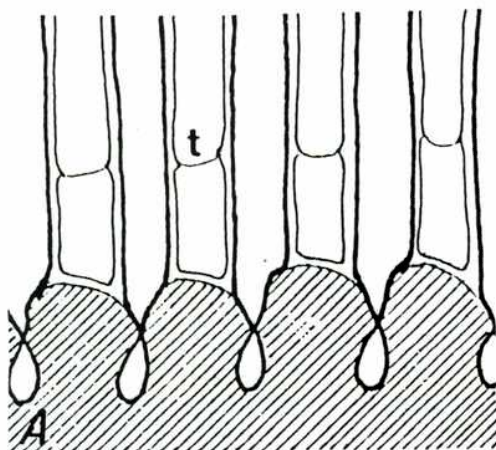


Figura 8

El siguiente estadio se hace evidente por un cambio en el contenido de las sedas. De acuerdo con ello puede subdividirse en dos subestadios. La matrix comienza a perder homogeneidad separándose de las paredes y presentando aspecto ampollado; se retrae hacia la base de articulación, dejando solamente un filamento central. Paralelamente al borde externo del urópodo, en la porción proximal de la seda, se forma un tabique (estadio  $B_1$ ) (figura 8 A y B). El proceso de retracción en el lumen de las sedas continúa y el contenido se reduce, quedando visible sólo el filamento central; en algunas sedas (aproximadamente el 10%) el tabique adopta la forma de un cono ("agutaje conique" de Drach), (estadio  $B_2$ ). El estadio B dura, en total, de 1 a 2 días.

La siguiente etapa o intermuda (estadio C) se caracteriza por la presencia de conos en todas las sedas. Al finalizar la misma el urópodo presenta la epidermis que alcanza la base de las sedas y en éstas los conos completamente formados con el filamento central evidente (figura 9 A y B).

Solamente en algunos de los ejemplares estudiados la epidermis comenzaba a separarse de la zona de articulación; no fue posible subdividir este estadio.

El estadio C es un período de relativa estabilidad en el ciclo y para esta especie representa un 25% de la duración total (de 4 a 6 días).

La premuda (estadio D) es el momento de la formación de las nuevas sedas (setogénesis) y pudo subdividirse en varios subestadios.

Comienza con la retracción de la epidermis o apólisis (Jenkin y Hinton, 1966) que indica que ha concluido el período de mayor estabilidad del ciclo (estadio C). Esta etapa se denomina  $D_0$  y de acuerdo a la profundidad alcanzada por la epidermis puede describirse como temprana o avanzada (figura 10 A y B). Este



Figura 9. Aspecto morfológico de las sedas en la  
intermuda. Estadio C.  
c: cono.

Figura 10. Aspecto morfológico de las sedas en la  
premuda. Estadio D<sub>0</sub>.  
e: epidermis.

La escala representa 50  $\mu\text{m}$ .

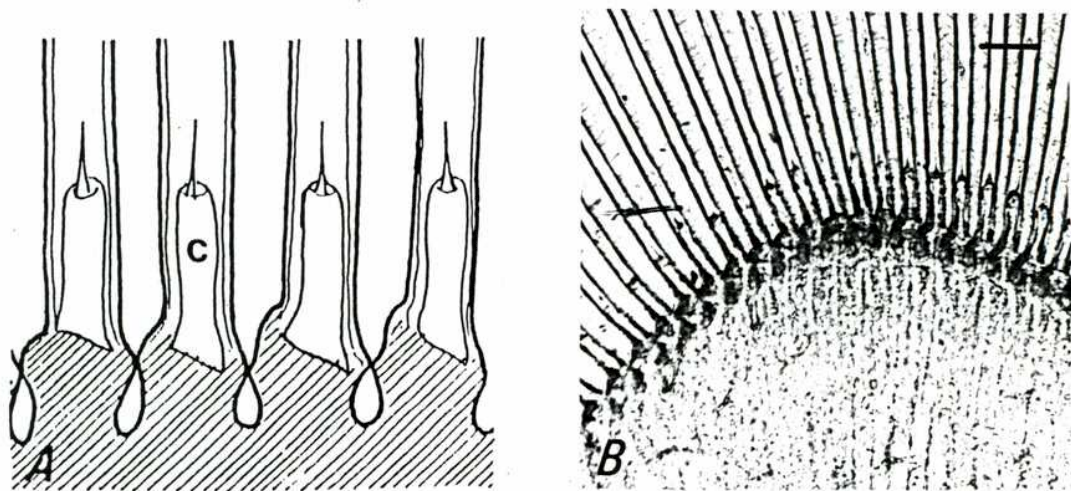


Figura 9

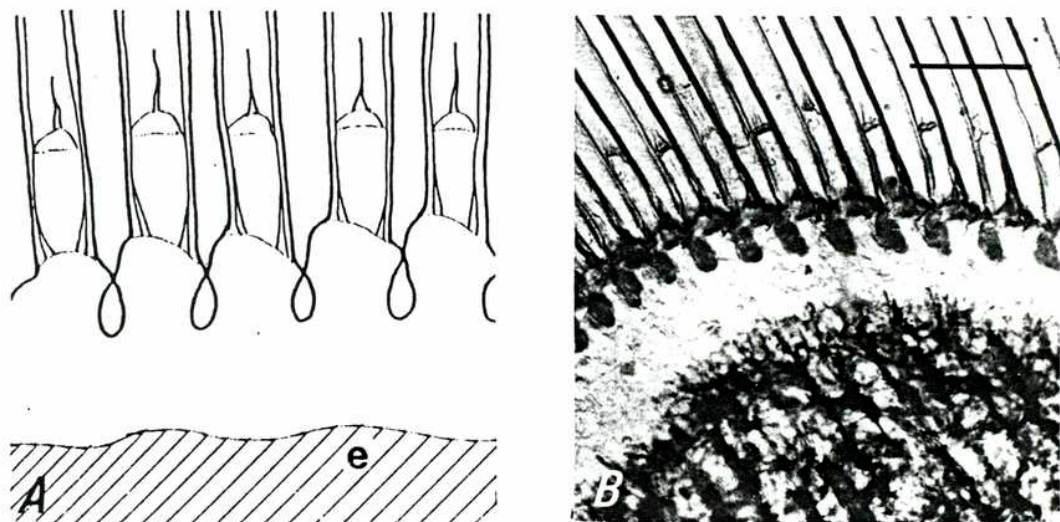


Figura 10

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  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100



estadio tiene una duración de entre 3 y 4 días.

El estadio D en especies con ciclo de muda diecdísico es el de mayor duración; en este caso representa el 60%; en los ejemplares estudiados varió entre 13 y 16 días.

El estadio  $D_1$  es el de mayor duración en la premuda y en su transcurso puede seguirse el desarrollo de las nuevas sedas. El primer indicio es que la epidermis comienza a plegarse invaginándose en la hipodermis ( $D_1'$ ), (figura 11 A y B); los pliegues se profundizan formando una doble pared que se distingue claramente en la zona superior ( $D_1''$ ), (figura 12 A y B).

En la etapa siguiente la doble pared es muy visible, es decir que se ha completado la formación del estuche esqueletario de la seda ( $D_1'''$ ), (figura 13 A, B y C); la profundidad alcanzada por las invaginaciones es máxima y en la porción distal de alguna de ellas se observan bárbulas.

A medida que progresa este estadio se visualiza que las sedas se evaginan como el dedo de un guante, de manera que la pared interna dará origen a la porción distal y la pared externa a la proximal. Este mecanismo se presenta en el siguiente esquema.

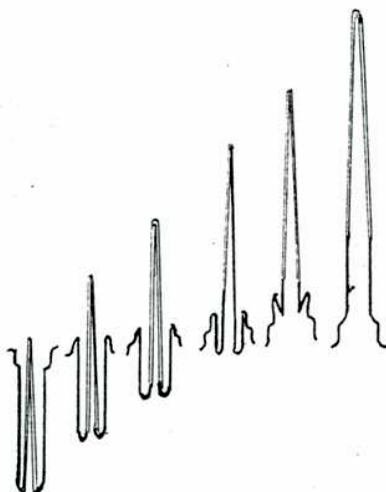


Figura 15: Evaginación de la nueva seda durante los estadios  $D_1$  y  $D_2$ .  
(según Reaka, 1975).

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

Figura 11. Aspecto morfológico de las sedas en la  
premuda. Estadio  $D_1^I$ .  
e: epidermis.

Figura 12. Aspecto morfológico de las sedas en la  
premuda. Estadio  $D_1^{II}$ .  
e: epidermis.

La escala representa 50  $\mu\text{m}$ .

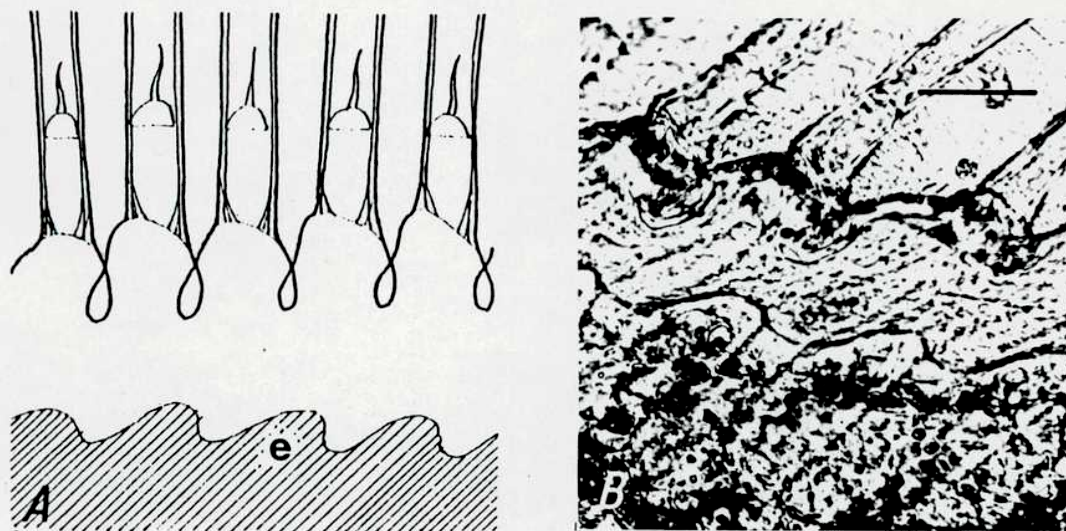


Figura 11

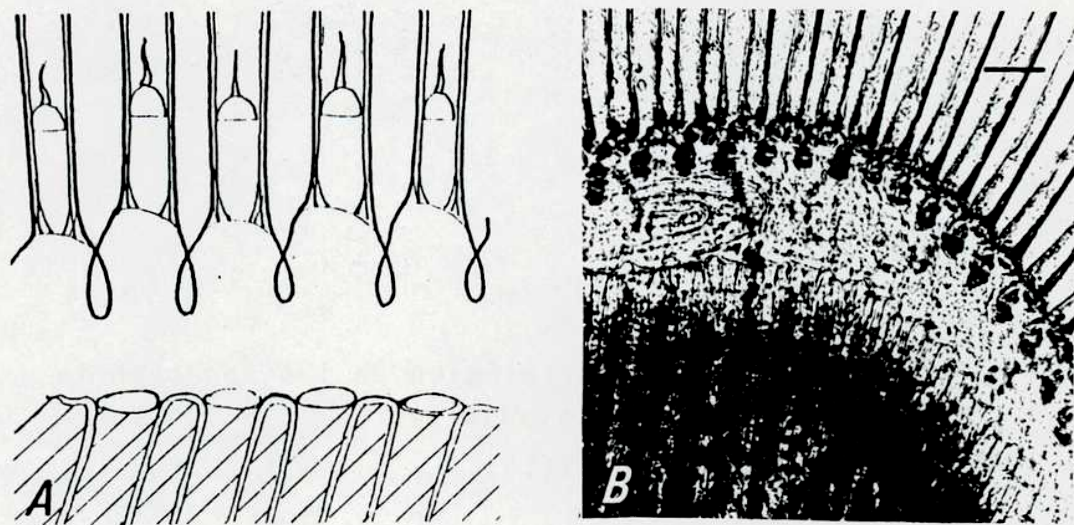


Figura 12

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

Figura 13. Aspecto morfológico de las sedas en la  
premuda. Estadio  $D_1'''$  .  
ns: nueva seda.

La escala representa 50  $\mu\text{m}$ .



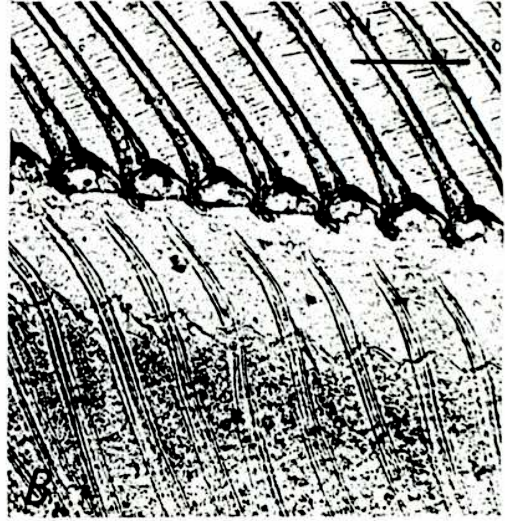
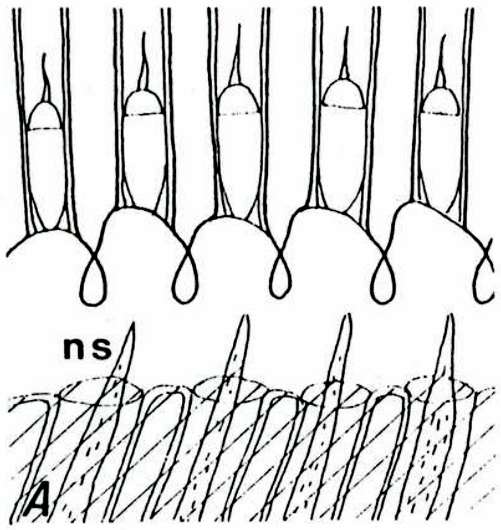


Figura 13





Figura 14. Aspecto morfológico de las sedas en la premuda. Estadio D<sub>2</sub>.  
b: bárbulas. La flecha indica la presencia de la exo y epicutícula.

La escala representa 50  $\mu\text{m}$ .

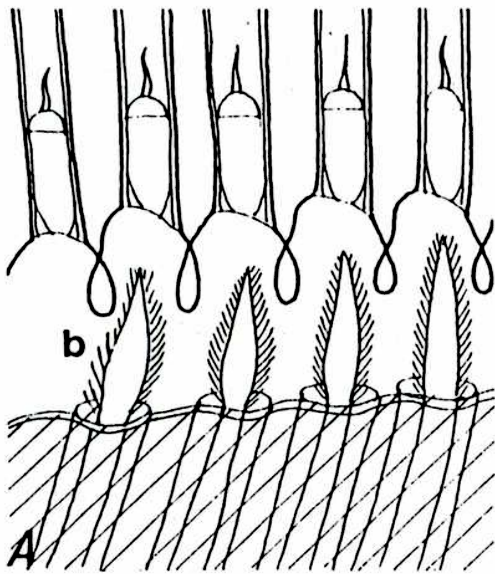
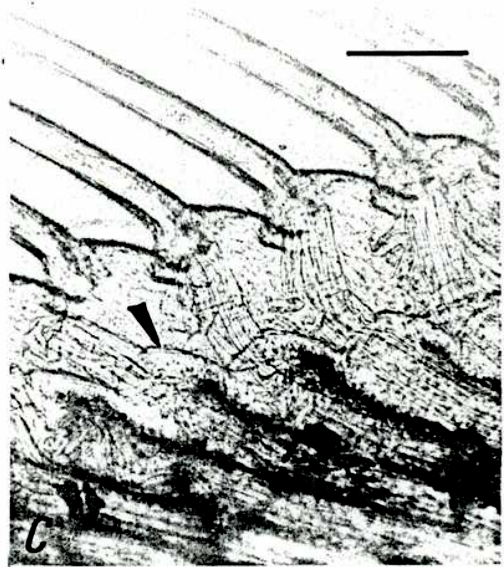


Figura 14



Los subestadios  $D_1'$ ,  $D_1''$  y  $D_1'''$  tuvieron una duración promedio de 2, 4 y 3 días, respectivamente; el estadio  $D_1$ , en conjunto se completa en 8 ó 9 días.

Al finalizar el estadio  $D_1$ , las nuevas sedas ya evaginadas se dirigen hacia la base de articulación de las sedas antiguas: las sedas están completamente formadas, observándose fácilmente bárbulas en todas ellas, correspondiendo al estadio  $D_2$  (figura 14 A, B y C).

Por debajo de la zona de articulación se observa una capa oscura, de naturaleza no celular que corresponde a la formación de las nuevas exo y epicutícula que se completan al finalizar la premuda (figura 14 C).

La duración del estadio  $D_2$  varió entre 2 y 3 días.

La determinación de los estadios  $D_3$  y  $D_4$  fue incierta, ya que sobre material fresco no fue posible distinguir la resorción de los tejidos, característica de estos estadios.

El estadio posterior corresponde a la ecdisis o rupturas de las líneas exuviales (estadio E).

En todos los casos se observó que la setogénesis progresa desde los bordes laterales del urópodo hacia el ápice.

### 3.2 Duración de los estadios del ciclo

Respecto a la duración de los estadios, en la tablas 4 y 5 se presentan los datos del reconocimiento de estadios de camarones provenientes de captura (mayo 1984 y 1985) y de los mantenidos en el laboratorio (tablas I y II, apéndice).

El porcentaje de duración de cada estadio fue calculado tomando el intervalo promedio entre dos mudas igual a 20 días.

Estadio	n	%	Días calculados
A	10	11.90	2.38
B	8	9.52	1.90
C	18	21.42	4.28
D <sub>0</sub>	16	19.04	3.80
D <sub>1</sub>	26	30.95	6.19
D <sub>2</sub>	6	7.14	1.42

Tabla 4: Duración relativa de estadios del ciclo de muda.  
Camarones provenientes de captura; mayo 1984.  
n total = 84

Estadio	n	%	Días calculados
A	8	11.26	2.24
B	5	7.04	1.40
C	15	21.12	4.22
D <sub>0</sub>	12	16.89	3.37
D <sub>1</sub>	29	36.61	7.32
D <sub>2</sub>	5	7.04	1.40

Tabla 5: Duración relativa de estadios del ciclo de muda.  
Camarones provenientes de captura; mayo 1985.  
n total = 71

La duración de los estadios determinada con ejemplares mantenidos en laboratorio y la calculada a partir de los muestreos se presenta en la figura 16.

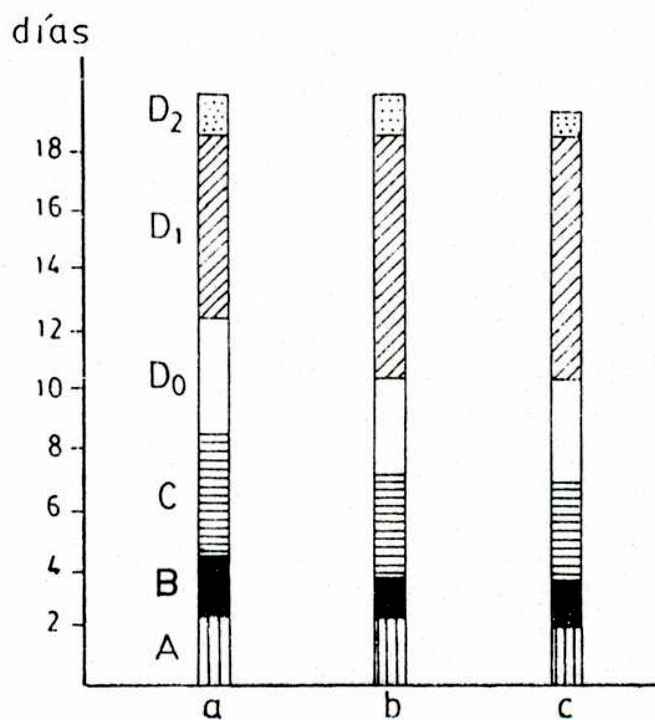


Figura 16. Comparación de los estadios del ciclo de muda de camarones provenientes de captura y mantenidos en el laboratorio.

(a: mayo 1984; b: mayo 1985; c: laboratorio)

En la figura 17 se indica la duración promedio de los estadios y se resumen los criterios de reconocimiento de cada uno de ellos.

Estadio	Duración promedio	Criterios
A	12-24 hs	Sedas llenas de citoplasma translúcido; epidermis llega a la zona de articulación.
B <sub>1</sub>	1-2 días	Comienza la retracción de la matriz de la seda. Se forma un tabique.
B <sub>2</sub>		Aparece el filamento central. Pocas sedas con conos.
C	4-6 días	Conos totalmente formados en todas las sedas. Puede comenzar la retracción de la epidermis.
D <sub>0</sub>	3-4 días	Se completa la retracción de la epidermis: la apólisis es total.
D <sub>1</sub> '	1-2 días	Epidermis plegada.
D <sub>1</sub> ''	3-4 días	Pliegues más profundos. Se observa la doble pared en la nueva seda.
D <sub>1</sub> '''	3 días	Pliegues alcanzan la máxima profundidad. Nuevas sedas con bárbulas.
D <sub>2</sub>	2-3 días	Nuevas sedas se proyectan y alcanzan la base de articulación. Aparece exo y epicutícula.

Figura 17: Duración promedio de los estadios del ciclo de muda en condiciones de laboratorio y criterios para el reconocimiento de cada estadio.

### 3.3 Cambios tegumentarios

#### Estadio A

El epitelio se presenta algo hipertrofiado, constituido por células de revestimiento altas, de citoplasmas densos, basófilos, con núcleos centrales a cromatina costrosa, con uno o varios nucleolos evidentes, como indicadores de activación de procesos de síntesis. Entre ellas se encuentran elementos glandulares unicelulares; todo asentado sobre un estrato conjuntivo de poco espesor (figura 18 A).

Entre ambos tipos celulares se dan transiciones, observándose la presencia de citoplasmas apicales vacuolizados, que sin solución de continuidad pasan a transformarse en células glandulares con vacuolas de secreción.

La cutícula está formada por cuatro estratos: basal amorfo, de  $4\mu\text{m}$  de espesor, intermedio laminar acidófilo ( $12\mu\text{m}$ ) y dos estratos apicales, uno de  $4\mu\text{m}$  de espesor y el último de fuerte reacción acidófila, así como PAS positivo ( $2\mu\text{m}$ ) (figura 18 B).

Estos cuatro estratos corresponden, según la nomenclatura empleada por Skinner (1962) y desde el epitelio hacia el exterior, a la capa membranosa, la endocutícula, la exocutícula y la epicutícula. Los espesores fueron siempre medidos en zonas de máximo desarrollo.

El tejido conjuntivo se encuentra poco desarrollado, expresado en una formación laminar asentada sobre el plano muscular (figura 18 A).

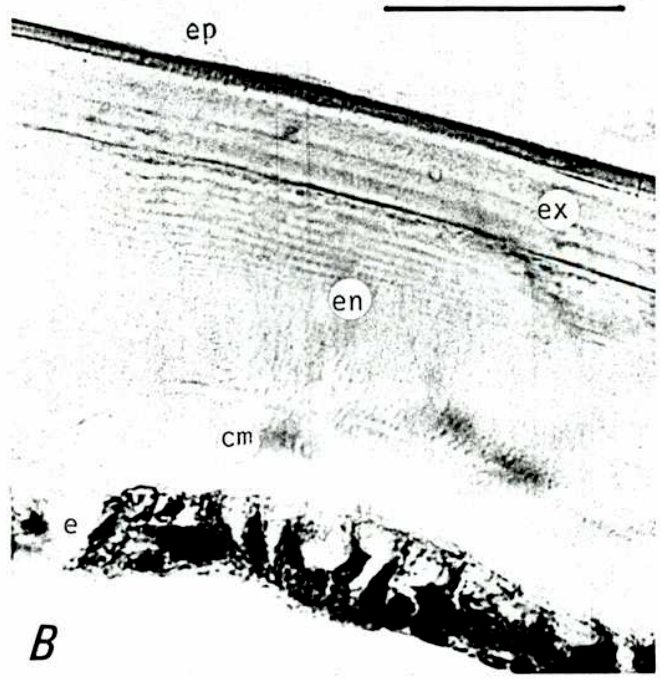
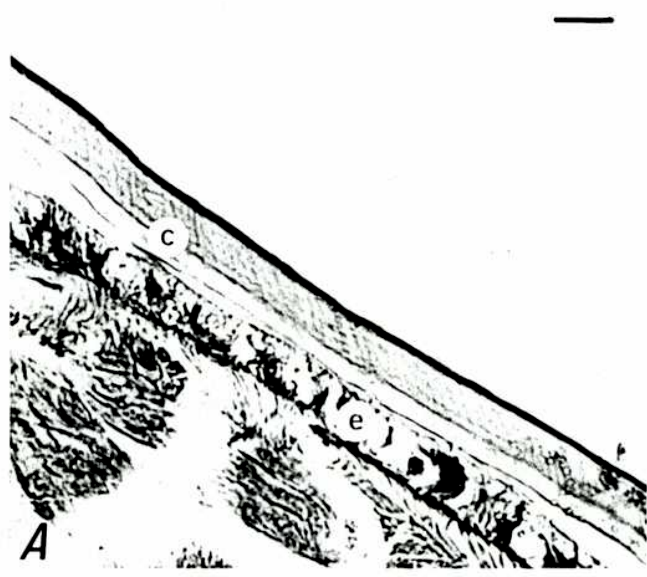
#### Estadio B (postmuda)

El epitelio es cúbico bajo, con núcleos definidos hacia la basal celular; los citoplasmas presentan cierta bipolaridad hacia la basal y apical. En esta última zona en las células epiteliales se observan numerosas vacuolas y escaso citoplasma (figura 19 A).





Figura 18. Estadio A



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

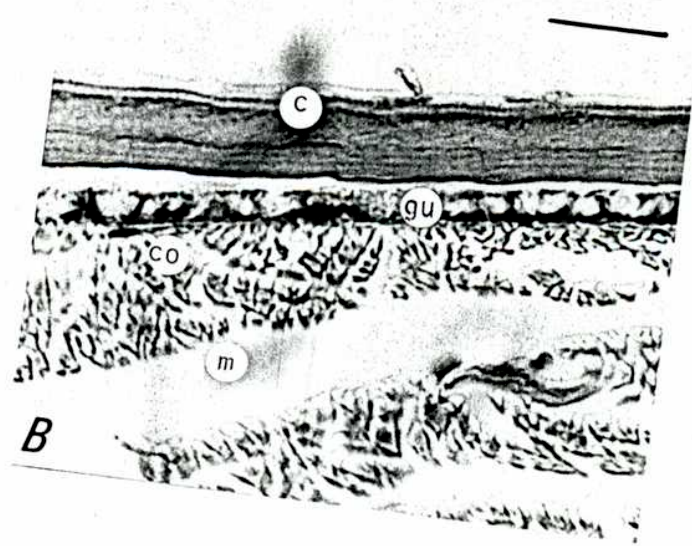
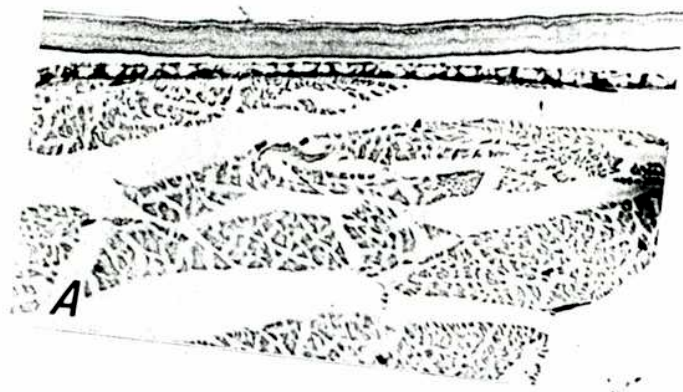
Figura 19. Estadio B

- A: Se aprecia el epitelio parenquimatoso, basófilo, asentando sobre discreto tejido conjuntivo, que en algunas zonas se presenta algo hipertrófico.
- B: Con mayor aumento se advierten los epiteliales secretantes, el tejido conjuntivo laminar y los haces musculares.

co: conjuntivo; e: epitelio; gu: células epiteliales secretantes; m: haces musculares.

La escala representa 50  $\mu\text{m}$

Figura 19. Estadio B



La cutícula está integrada por un estrato significativamente desarrollado, subdividido en dos estratos de 4 y 10 $\mu\text{m}$ , respectivamente, el tercero de 6 $\mu\text{m}$  y el apical, hialino, no muy bien delimitado (figura 19 B).

El tejido conjuntivo es escaso y su estructura no difiere mayormente de la descrita para el estadio anterior.

#### Estadio C (intermuda)

El epitelio, prismático, asienta sobre un tejido conjuntivo laxo, discretamente celular y entre sus componentes se encuentran insertos elementos celulares secretantes que presentan numerosas vacuolas (figura 20 A y B). Las células epiteliales tienen un núcleo central pulverulento, pequeños nucleolos y citoplasma ligeramente acidófilo; se evidencia una estructuración netamente fibrilar constituida por epiteliofibrillas en curso axial, que llamativamente cobran continuidad con la orientación de parte del estroma del conjuntivo subyacente (figura 20 B).

La cutícula presenta un espesor total de 28 $\mu\text{m}$ ; está formada por cuatro capas que en orden de crecimiento de espesor van desde el enrase con el epitelio hacia la superficie libre (figura 20 A y B).

La primer capa de 4 $\mu\text{m}$  de espesor, es acidófila, seguida por otras tres basófilas de 12, 8 y 4 $\mu\text{m}$  de espesor; la última presenta notorias discontinuidades.

El tejido conjuntivo está formado por una riquísima red de lo que se supone son fibras reticulares, orientadas en todos los planos; no obstante predominan aquellos de trayectoria paralela al epitelio y otras que, en un plano normal a dicho epitelio, conforman líneas de tensión siguiendo los planos de orientación de las epiteliofibrillas de la trama epitelial.

Las fibras reticulares son de reacción acidófila, lo que

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  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100

Figura 20. Estadio C

A: Se observa el aspecto histológico del epitelio, cutícula, conjuntivo y estrato muscular.

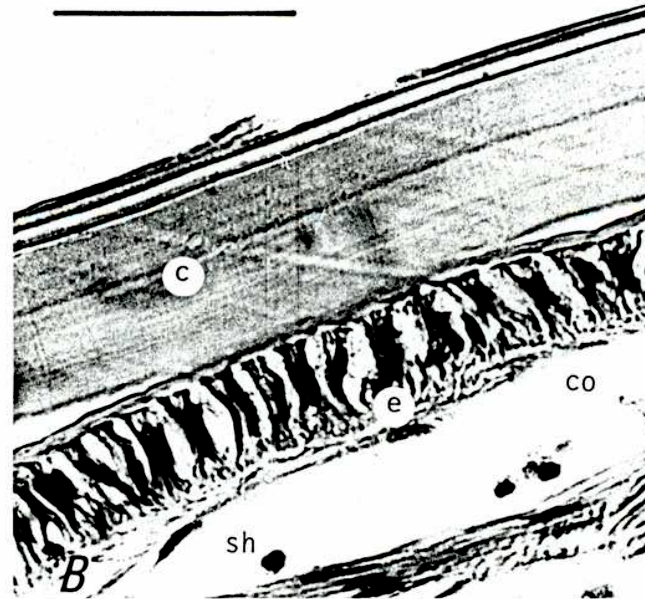
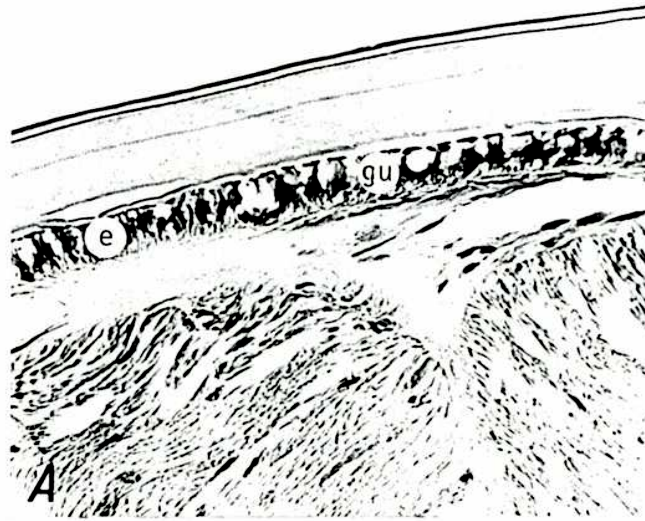
Se aprecia la dualidad epitelial conformada por elementos de revestimiento y secretantes. En plano subyacente elementos del conjuntivo y senos hemolinfáticos.

B: Con mayor aumento se evidencian las características morfológicas de las epiteliofibrillas, la orientación de los componentes formes del conjuntivo y la presencia de parte de un seno hemolinfático.

c: cutícula; co: conjuntivo; e: células epiteliales de revestimiento y epiteliofibrillas; gu: células epiteliales secretantes; sh: seno hemolinfático.

La escala representa 50  $\mu\text{m}$

Figura 20. Estadio C





habla de una composición especial de estos componentes del estroma conjuntivo, dado que habitualmente no se tiñen con eosina.

En este tejido, en disposición subepitelial, se han observado formaciones parenquimatosas cuyo origen y función habrán de establecerse.

#### Estadio D<sub>0</sub> (premuda)

El epitelio es cilíndrico, alto (figura 21 A y B), ricamente fibrilar y por zonas presenta aspectos netamente involutivos.

Cada una de las células epiteliales tiene un núcleo central, ovoide, cromatina densificada sobre la carioteca y uno o dos pequeños nucleolos. El citoplasma es acidófilo, surcado por conspicuas epiteliofibrillas que lo ocupan totalmente, desde la membrana basal hasta el polo apical de las células. En este polo celular las tonofibrillas se hacen más evidentes (figura 21 B) aparentemente como consecuencia de una hialinización del citoplasma que de alguna manera guardaría vinculación con el proceso de disolución cuticular.

La cutícula, de 40 $\mu\text{m}$  de espesor, presenta cuatro capas, con netas evidencias de segregación (figura 21 A y B), permaneciendo la más profunda en relación con el epitelio y apareciendo un espacio entre las otras tres más superficiales. Los espesores son 8 $\mu\text{m}$ , 16 $\mu\text{m}$ , 8 $\mu\text{m}$  y 8 $\mu\text{m}$ , respectivamente.

El tejido conjuntivo subepitelial se presenta notoriamente hipertrofiado, con una dualidad estructural caracterizada por una zona superficial donde es denso, y un estrato más profundo ligado al plano muscular que se presenta laxo, areolar y con significativas concentraciones celulares dispuestas en planos (figura 21 A).

El tejido conjuntivo subepitelial denso (fibroso) está for-

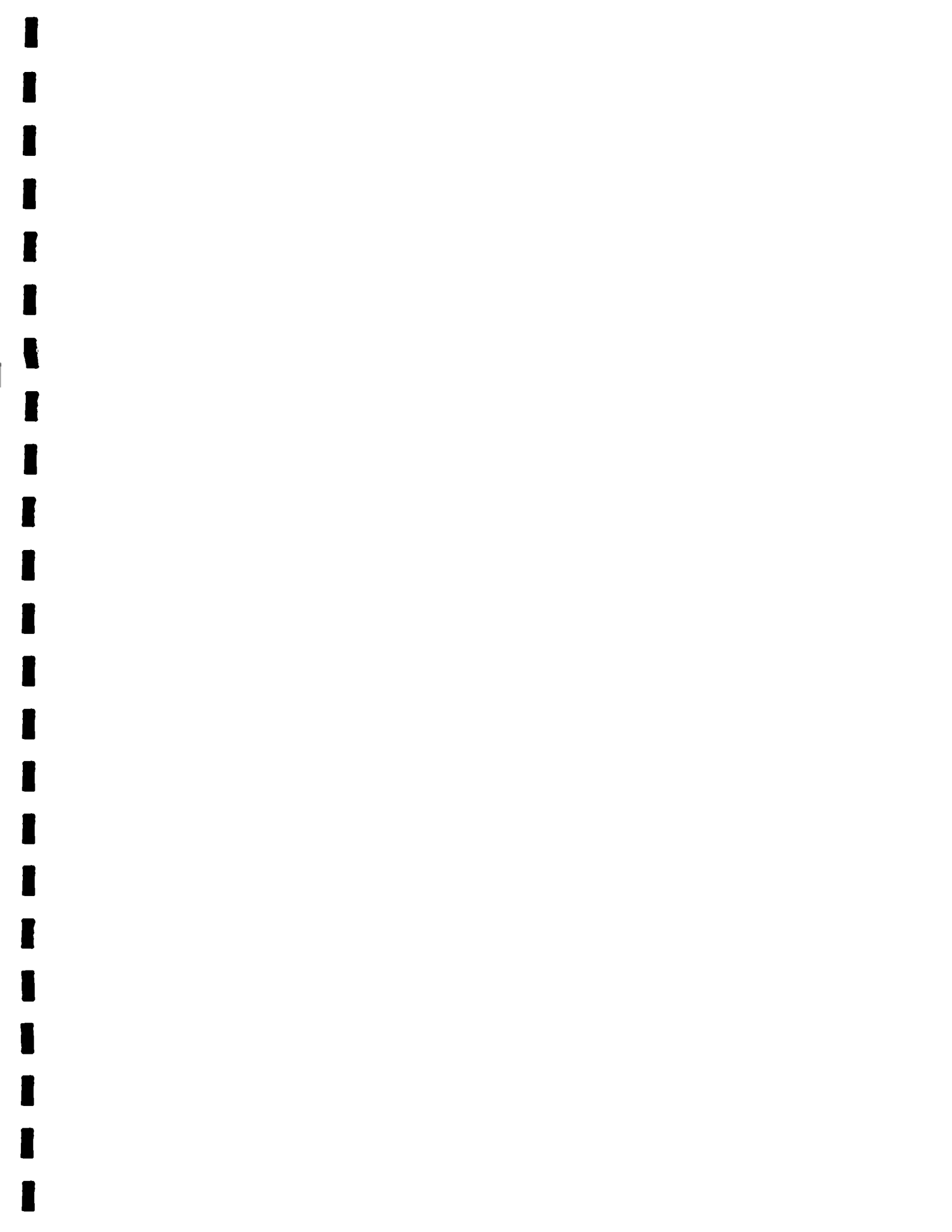
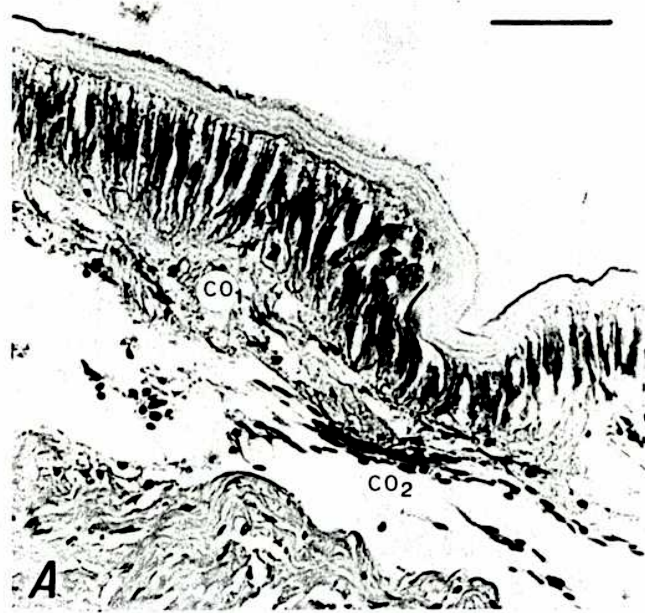


Figura 21. Estadío D<sub>0</sub>

- A: Se advierte el epitelio hipertrófico, altamente diferenciado con una conspicua estructuración epitelio fibrilar. El con juntivo presenta dos estratos: subepitelial y profundo, este último lindante al plano muscular, con diversos componentes fijos y móviles.
- B: Imagen con mayor detalle del epitelio y conjuntivo. Se hacen nítidas las epiteliofibrillas y la trama reticular del conjuntivo, al mismo tiempo que se evidencia la dualidad de éste último en cuanto a su estructuración en dos estratos.

co<sub>1</sub>: conjuntivo subepitelial; co<sub>2</sub>: conjuntivo profundo; e: epitelio

La escala representa 50  $\mu$ m

Figura 21. Estadio D<sub>0</sub>

mado por fibras colágenas y reticulares en diferentes orientaciones, separadas por escaso componente amorfo. Los elementos celulares son fijos y libres, observándose en algunos casos núcleos picnóticos (figura 21 B).

Contrariamente, el estrato conjuntivo profundo presenta una significativa escasez de elementos figurados del estroma, en cambio se advierte un incremento del componente amorfo (figura 21 A y B). Las células de este estrato se presentan dispersas o bien en conjuntos densos y tienen como característica morfológica núcleos con cromatina densa y citoplasma basófilo.

La dualidad descrita podría tener origen en las formaciones densas, parenquimatosas, mencionadas para el estadio C.

#### Transición D<sub>0</sub>-D<sub>1</sub>

La etapa de transición se caracteriza por presentar un epitelio con distintos tipos celulares: células planas de núcleos densos y citoplasmas compactos que asientan sobre una membrana basal densa (figura 22 A), o células cúbicas de citoplasmas vacuolados asentadas sobre una membrana basal laxa (figura 22 B y 23 A) y áreas en que el epitelio se observa conservado e hipertrófico (figura 23 B). Por zonas el epitelio se encuentra en proceso de desintegración (figura 23 B): ésta se manifiesta por vacuolizaciones e incipientes procesos de citólisis e imágenes de licuefacción. Hacia la membrana basal del epitelio conservado se pueden observar elementos poliédricos con núcleos costrosos y en algunos casos con fina pulverulencia (figura 23 A).

El epitelio preexistente desaparece totalmente reabsorbiéndose a nivel del conjuntivo subyacente (figura 23 B) y siendo gradualmente reemplazado por los elementos juveniles desde la periferia al modo de los procesos de cicatrización, donde componentes epiteliales menos diferenciados restauran la formación en un avance de tipo concéntrico.



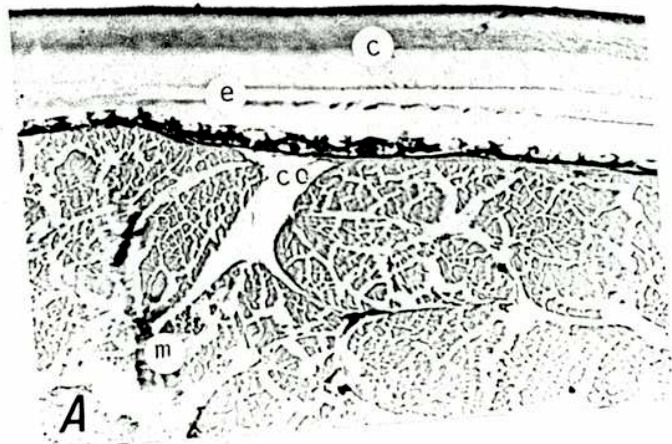
Figura 22. Estadio D<sub>0</sub> - D<sub>1</sub>

- A: Se pueden observar alguno de los aspectos cambiantes correspondientes a este estadio, visualizables en el epitelio en su marcada atrofia y el conjuntivo laminar.
- B: El epitelio, cutícula y conjuntivo presentan por zonas imágenes de licuefacción y desintegración. Se aprecia el plasma interpuesto entre la masa muscular y el epitelio. Este último se advierte notoriamente desintegrado. Se observa en la cutícula una alteración de su estructura normal, mostrando un exudado.

c: cutícula; co: conjuntivo; e: epitelio; p: plasma;  
u: exudado.

La escala representa 50  $\mu$ m

Figura 22. Estadio  $D_0 - D_1$



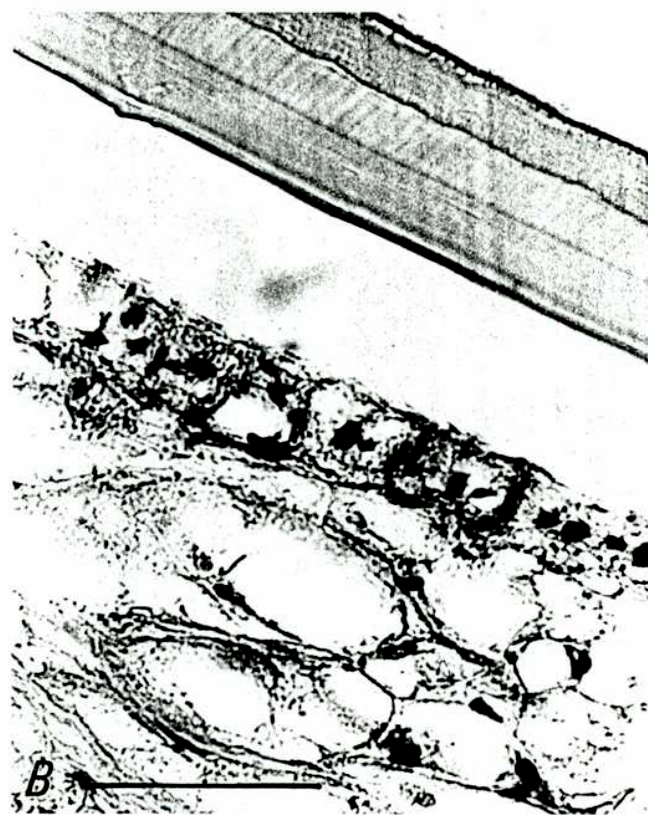
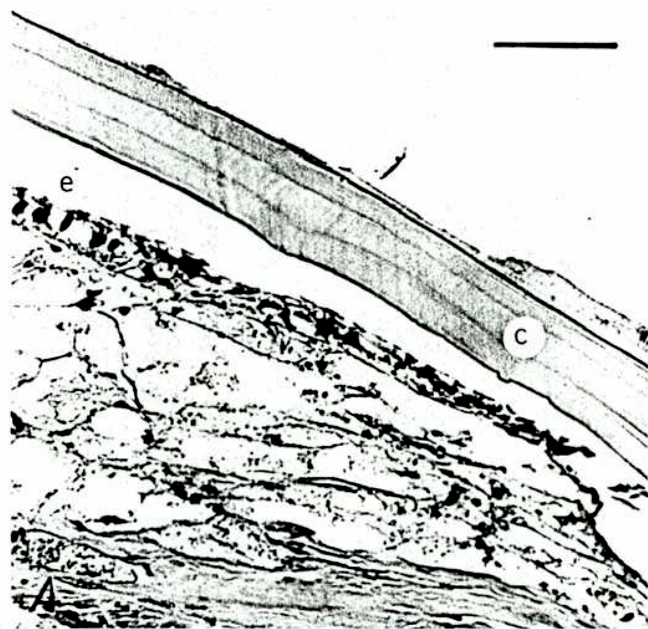


1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100

Figura 23. Estadío  $D_0 - D_1$

- A: Se observa el epitelio conservado, de células cúbicas, con citoplasmas densos o bien vacuolados. En ciertas zonas se presenta conservado e hipertrófico. Conjuntivo hipertrófico areolar.
- B: Con mayor detalle se destacan las características celulares del epitelio y aspectos del conjuntivo areolar. Cutícula conservada.

c: cutícula; co: conjuntivo; e: epitelio  
La escala representa 50  $\mu\text{m}$

Figura 23. Estadio  $D_0 - D_1$ 

La cutícula está integrada por cuatro estratos: uno basal de menor espesor ( $4\mu\text{m}$ ), otro intermedio basófilo ( $20\mu\text{m}$ ), el tercero acidófilo ( $4\mu\text{m}$ ) y el último, también acidófilo ( $4\mu\text{m}$ ) (figura 22 B y 23 A).

El tejido conjuntivo se encuentra o bien en estado fisiológico con plasma o bien diferenciado laminar interpuesto entre epitelio y estrato muscular, no obstante observarse transiciones entre ambos (figura 22 A y 23 B). La presencia de plasma evidencia la reabsorción de líquido, notándose además diversos componentes celulares aparentemente de origen hemático (figura 23 B).

#### Estadio D<sub>1</sub>

Se observa una fase donde todos los componentes del tegumento se han atrofiado, incluyendo tanto el aspecto epitelial como el conjuntivo (figura 24 A y B).

La mayor superficie del epitelio se encuentra formada por elementos retraídos, muchos vacuolizados y con superficies erosionadas. Este epitelio es atrófico y está constituido por una hilera de células dispuestas en dos estratos de núcleos, donde uno corresponde a un epitelio cúbico bajo, entre los que probablemente existen células menos diferenciadas que serían los futuros elementos de reemplazo.

Los elementos celulares vigentes se manifiestan con aparentes procesos desintegrativos, núcleos centrales y paquicromáticos; todo indica la finalización del ciclo de vida celular (figura 24 B).

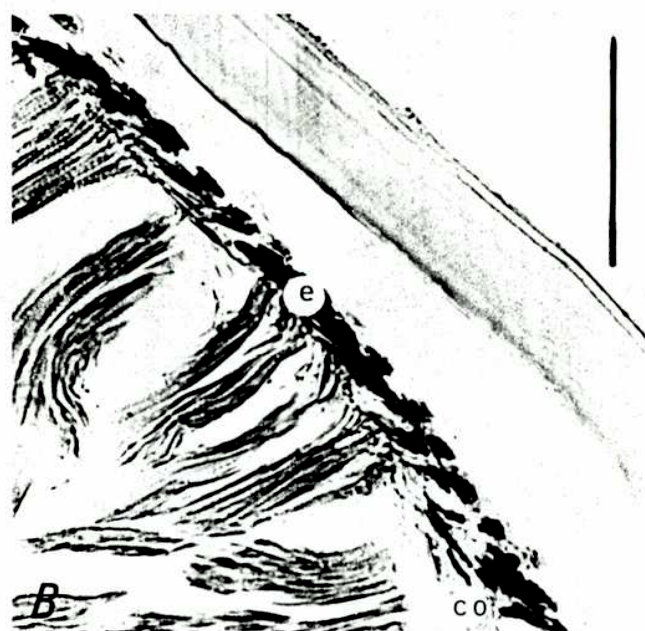
La cutícula, por zonas atrófica e incompleta, se encuentra constituida por cuatro capas, de las cuales la basal (en contacto con el epitelio), de  $4\mu\text{m}$  de espesor, presenta signos de fragmentación evidenciables por los espacios y la estratificación como consecuencia de la disolución que en ella se opera. A ésta



Figura 24. Estadío D<sub>1</sub>

- A: Se aprecia el estado atrófico, tanto del epitelio como del conjuntivo laxo y la cutícula escindida por estratos.
- B: Se advierte el epitelio a dos hileras de núcleos, estrato epitelial superior desintegrado, todo asentado sobre conjuntivo laminar. Cutícula atrófica con estratos no bien delimitados.

c: cutícula; co: conjuntivo; e: epitelio.  
La escala representa 50  $\mu$ m.

Figura 24. Estadio D<sub>1</sub>

le siguen tres estratos, el segundo denso y conservado ( $16\mu\text{m}$  de espesor) al que sigue un estrato lúcido ( $8\mu\text{m}$ ) y finalmente una cutícula apical de reacción acidófila y totalmente conservada ( $4\mu\text{m}$ ) (figura 24 A).

El tejido conjuntivo se presenta reducido a una formación laminar o bien laxa (figura 24 A y B) en la que predomina el componente amorfo con presencia de discretos elementos celulares. La formación laminar es prácticamente acelular manifestándose una trama colágena de poco espesor que separa el epitelio del plano muscular (figura 24 B). Se encuentra constituida por una discreta composición celular de elementos conjuntivos aplanados, paralelos a la superficie.

#### Estadio D<sub>2</sub>

Se observa una recuperación epitelial, no así del tejido conjuntivo que sólo en áreas muy restringidas presenta hipertrofia y diversificación de sus componentes, conservando por lo tanto su connotación de tejido laminar (figura 25 A).

El epitelio se presenta entre típicamente cilíndrico, en algunas zonas cilíndrico alto e intercaladas entre sus células, otras vacuolizadas, como componentes unicelulares secretantes.

En general las células de revestimiento tienen citoplasmas diferenciados con una zona perinuclear basófila, seguido de un citoplasma apical hialino con incipiente diferenciación epiteliofibrilar. Los núcleos son centrales y vesiculosos, con cromatina pulverulenta marginal, rodeando la membrana nuclear.

La cutícula es incompleta, conformada por tres capas, que aparentemente por artificios técnicos no se encuentran muy cohesionadas. Los espesores son desde la basal a la apical: 4, 12 y  $2\mu\text{m}$ . Por debajo de ésta, en ciertas zonas aparece una nueva cutícula, formada por tres capas, dos de  $4\mu\text{m}$  de espesor cada una y una apical formada por dos estratos de  $2\mu\text{m}$  cada uno (figura 25 B).



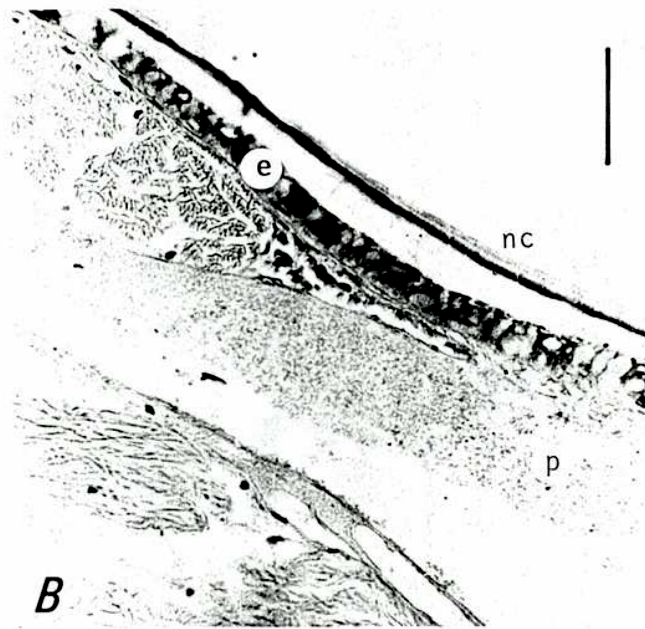
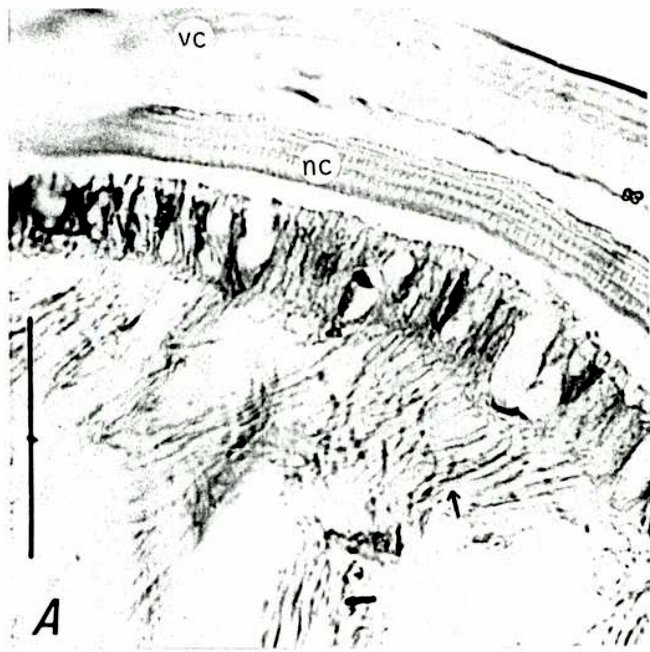


Figura 25. Estadio  $D_2$

A: Se observa el epitelio cilíndrico alto con una conspicua diferenciación epiteliofibrilar. La flecha indica la continuación "funcional" de las epiteliofibrillas con los haces de reticulina. La vieja cutícula se presenta deshicente; en la nueva cutícula se advierte una nítida estriación.

B: Muestra otro aspecto de este estadio. Presenta zonas de licuefacción ya evidenciadas en el estadio anterior ( $D_1$ ). El epitelio es parenquimatoso y se aprecia la cutícula neoformada.

e: epitelio; nc: nueva cutícula; vc: vieja cutícula.  
La escala representa 50  $\mu\text{m}$ .

Figura 25. Estadio D<sub>2</sub>

El tejido conjuntivo presenta áreas de reabsorción del estado de licuefacción y en general toma las características modeladas correspondientes a la estructura laminar; está formado por escasos componentes colágenos y discreto número de elementos celulares (figura 25 B).

Una apreciación de conjunto de las transformaciones ya descritas pueden visualizarse en el esquema de la figura 26. La imagen presenta, sin solución de continuidad, los estratos epitelial y cuticular, conjuntivo y muscular en las transformaciones que acaecen desde la postmuda hasta la premuda.

En la misma pueden verse los cambios, incremento de estructuras y diferenciaciones que acompañan el ciclo de la muda y que en general describen una sinusoide, principalmente ostensible a nivel de epitelio-cutícula y del tejido conjuntivo; en este último con culmen posterior al que ocurre en complejo epitelio-cutícula.

En líneas generales los cambios visualizados forman parte de todo ciclo vital en las poblaciones celulares. Aquellos se manifiestan con fases de proliferación, de síntesis y acumulación, de diferenciación, culminando generalmente en los procesos de envejecimiento, de citólisis y en algunos casos con manifestaciones histológicas severas.

Comenzando por las variaciones del epitelio y cutícula, se ve en la parte referente a los estadios A y B que corresponden a etapas de diferenciaciones, que seguramente ocurren luego de una fase previa de proliferación celular. La especificidad celular propia de las diferenciaciones de la trama epitelial se hace más evidente en el estadio C donde existe un crecimiento culminar reconocible por la significativa hipertrofia celular y marcada diferenciación citoplasmática, evidenciable por la formación de conspicuas epiteliofibrillas.

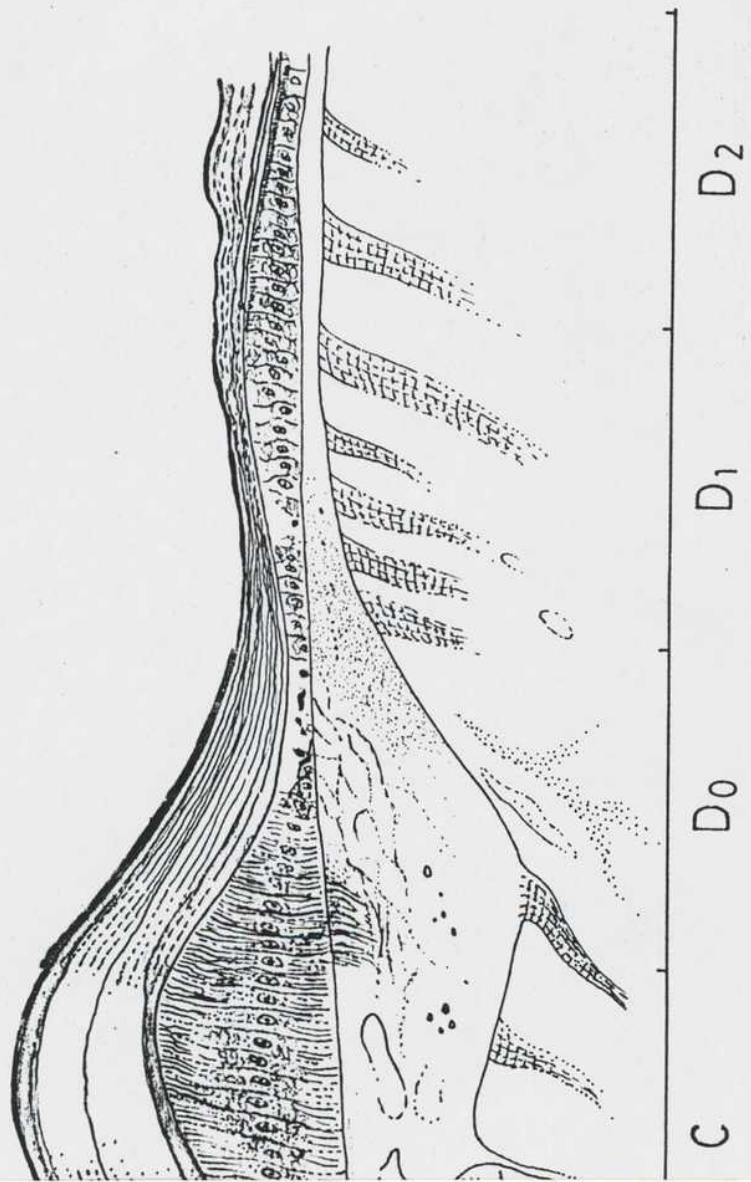


Figura No. Relación de los diversos componentes del tegumento, en los diferentes estadios del ciclo de muda de *A. longinavis*.

Esta diferenciación, acompañando ya la senectud celular se destaca aún más en el estadio siguiente ( $D_0$ ) en el que a la par de un decrecimiento en la talla de las células, se nota una mayor diferenciación y engrosamiento epiteliofibrilar y cuyo proceso de sucesión se encuentra vinculado a la posterior atrofia, descamación y reabsorción de sus componentes en el conjuntivo, que se observa hacia el final de este estadio.

En la fase siguiente (estadio  $D_1$ ) se visualiza la reconstitución del epitelio, con una neta polarización de los citoplasmas que se hace aún más conspicua hacia el final del estadio  $D_2$ , involucrando también en el cambio a la cutícula.

Tampoco escapan a las transiciones descritas otras modificaciones que afectan tanto a la cutícula y al conjuntivo, como al estrato muscular.

Así, en la cutícula se aprecia su incremento, acompañando las modificaciones ya mencionadas: un gradual aumento del espesor cuticular que alcanza su culmen en el estadio C, con un posterior decrecimiento hasta los estadios de la premuda, en que son reemplazados por nuevos estratos.

Los aspectos cuantitativos de los cambios operados a nivel cuticular se han representado, a escala, en la figura 27. En la misma se advierte que en los estadios de la postmuda (A y B) la cutícula está formada por cuatro capas (capa membranosa, endocutícula, exocutícula y epicutícula) que aún no alcanzan su máximo espesor. Se advierte luego un incremento lineal, debido principalmente al crecimiento de la capa membranosa y la endocutícula, que culmina en el estadio  $D_0$ , para decrecer posteriormente durante la premuda (estadios  $D_1$  y  $D_2$ ) por acción del líquido de la muda, secretado por células epiteliales, que lleva a la desaparición de la capa membranosa y parte de la endocutícula del viejo exoesqueleto. Las dos capas más externas se mantienen constituyendo la exuvia en el momento de la ecdisis. Al mismo tiempo, y también por la actividad secretante del epitelio, comienzan a de-

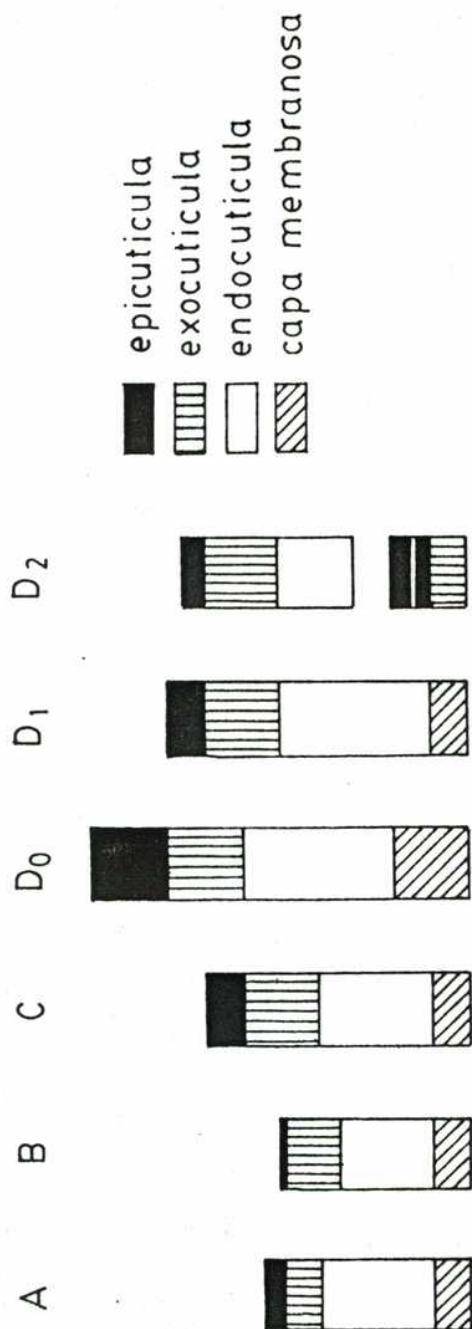


Figura 27: Síntesis de las diferentes capas cuticulares durante el ciclo de muda de *A. longinatis*.

positarse las capas preexuviales de la nueva cutícula: epicutícula y exocutícula.

De la misma manera el conjuntivo (figura 26) pasa por las transiciones de tejido laminar (estadios A y B), laxo con significativa vascularización (estadio C); cuando alcanza el máximo desarrollo se estratifica, presentando un estrato superficial dérmico y otro "hipodérmico" asentado sobre el plano muscular, todo ello unido a profundos cambios de los componentes celulares e intercelulares tanto amorfos como formes. Es así como en el estadio A el tejido conjuntivo se observa poco desarrollado, con hipertrofia incipiente, y con predominio del componente amorfo, con escasos elementos celulares dispuestos sin mayor orden que le dan connotación de tejido laxo, y con presencia de significativas formaciones vasculares hacia el final de este estadio.

En el estadio C aparece una notoria estratificación en dos planos por parte de esta trama que presenta una estructura superficial fibro reticular muy parecida a la descrita en el párrafo anterior y un estrato más profundo, areolar. Esta estratificación se hace aún más evidente durante el estadio  $D_0$ : la parte forme del conjuntivo, constituido principalmente por los elementos reticulares en la parte subepidérmica, forma un estroma de fibras en distinta orientación, no obstante predominar aquellas que siguen las líneas de fuerza con la misma orientación que la de las epiteliofibrillas. Los planos profundos presentan a su vez un aspecto de movilización de componentes conjuntivos, observándose un discreto número de elementos linfocitoides como integrantes de esta trama. Hacia el final de este estadio ( $D_1$ ) se advierten procesos de licuefacción y remoción de estructuras hasta llegar nuevamente a una expresión mínima del tejido conjuntivo que vuelve a tener características modeladas de estructura laminar, cerrándose así el ciclo.

Llamativamente no escapa a estas transformaciones el tejido



muscular estriado. Sabido es que esta trama corresponde a las poblaciones estables o estáticas; no obstante ello en los estadios  $D_0$  y  $D_1$  se advierten procesos histolíticos que involucran esta trama conjuntamente con el estado higropico del conjuntivo.

Se establece de esta manera un estado sincrónico por parte de los tejidos epitelial, conjuntivo y muscular en cuanto a significativas transiciones que acompaña a la de disolución de estructuras. En estos aspectos, el tejido conjuntivo desempeña un rol dirimente en cuanto a la reabsorción de componentes y a la posterior canalización metabólica emergente. Los estadios  $D_0$  y  $D_1$  se constituyen así como el límite entre la finalización de la muda, conjuntamente con el inicio proliferativo y de rejuvenecimiento de estructuras en un marco que a no dudarlo es de maor amplitud y trascendencia que el específicamente considerado en la muda.

En cuanto a la figura 28, que representa los cambios establecidos según secuencias temporales, se obtiene una interpretación que si bien en lo morfológico es equivalente a lo explicitado más arriba, entraña algunas diferencias en cuanto al tiempo involucrado en los mismos.

Estas abarcan espacios distintos, correspondiendo los más breves a los estadios A y B (postmuda) y el mayor al  $D_1$  (muda temprana).

Asimismo se hacen más notorias la elongación y el desfasaje de los niveles cúlminales de los complejos epitelio-cutícula respecto a aquél que se observa para el conjuntivo, teniendo respectivamente puntos de inflexión al promediar el estadio C (intermuda) y en la transición del  $D_0$  al  $D_1$ .

Por otra parte, por las marcadas variaciones en el tejido conjuntivo, es claro que desempeña un rol importante con relación a distintas funciones: primero en cuanto al aporte nutricional, que se hace significativo por su vinculación con el período de

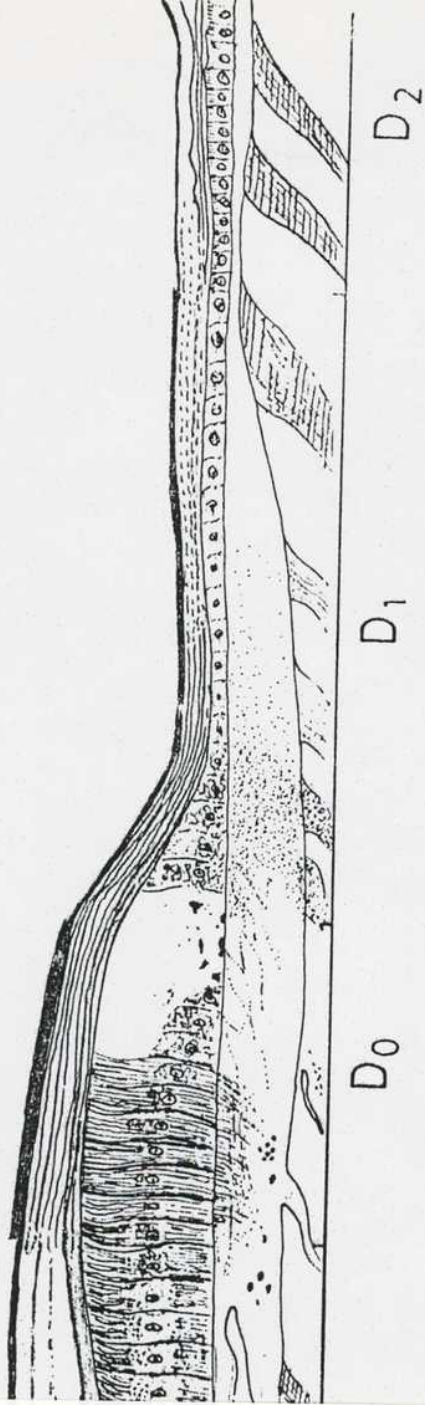


Figura 1. Secuencia temporal de los cambios tegumentarios durante el ciclo de muda de *A. longinatis*.

B. A. C.

mayor crecimiento epitelial y cuticular; en su función mecánica que se hace evidente durante la transición del estadio C al  $D_0$ : el estrato subepitelial incrementa el estroma conjuntivo con haces, que tal como ya se ha expresado, siguen las líneas de tensión de las epiteliofibrillas; en su carácter de anticipador referente a las reabsorciones en que se verá particularmente exigido en la remoción de desechos celulares y, finalmente, en su función de reparación de estructuras, hasta cerrar el ciclo.

Estas transformaciones del conjuntivo se ven muy claramente durante los estadios C,  $D_0$  y  $D_1$ , que resulta el de mayor duración, estando involucrados los procesos de reabsorción y reparación mencionados.

Llama la atención la abrupta ruptura de la solución de continuidad en el límite entre el estadio  $D_0$  y el  $D_1$ , por lo que cabe suponer la existencia de un importante disparo proliferativo, muy breve, seguido de rápida reparación del epitelio que restaura sus estructuras y se prepara para la nueva secreción cuticular a partir del estadio  $D_2$ . Durante este estadio se completa la normalización del epitelio, la formación de las capas preexuviales de la cutícula, la modelación del conjuntivo y el eventual reemplazo de las miocélulas.

No estaría completa esta descripción temporal si no se interpretara la periodicidad de los cambios en función del ciclo vital de la especie. Un esquema de las sucesivas fases de repoblamiento celular, rejuvenecimiento conjuntivo, crecimiento y reemplazo cuticular puede verse en la figura 29 en la cual se encuentran representados estos componentes. En la misma puede apreciarse la formación de una sinusoide con notable paralelismo entre el complejo epitelio-cuticular y el desfaseamiento entre éstos y aquélla del conjuntivo, que la sigue, significativamente desplazada, en sus ondulaciones. La interpretación de la figura permite definir distintos segmentos que enmarcan las sucesivas fases de las transformaciones involucradas en las tramas analizadas.

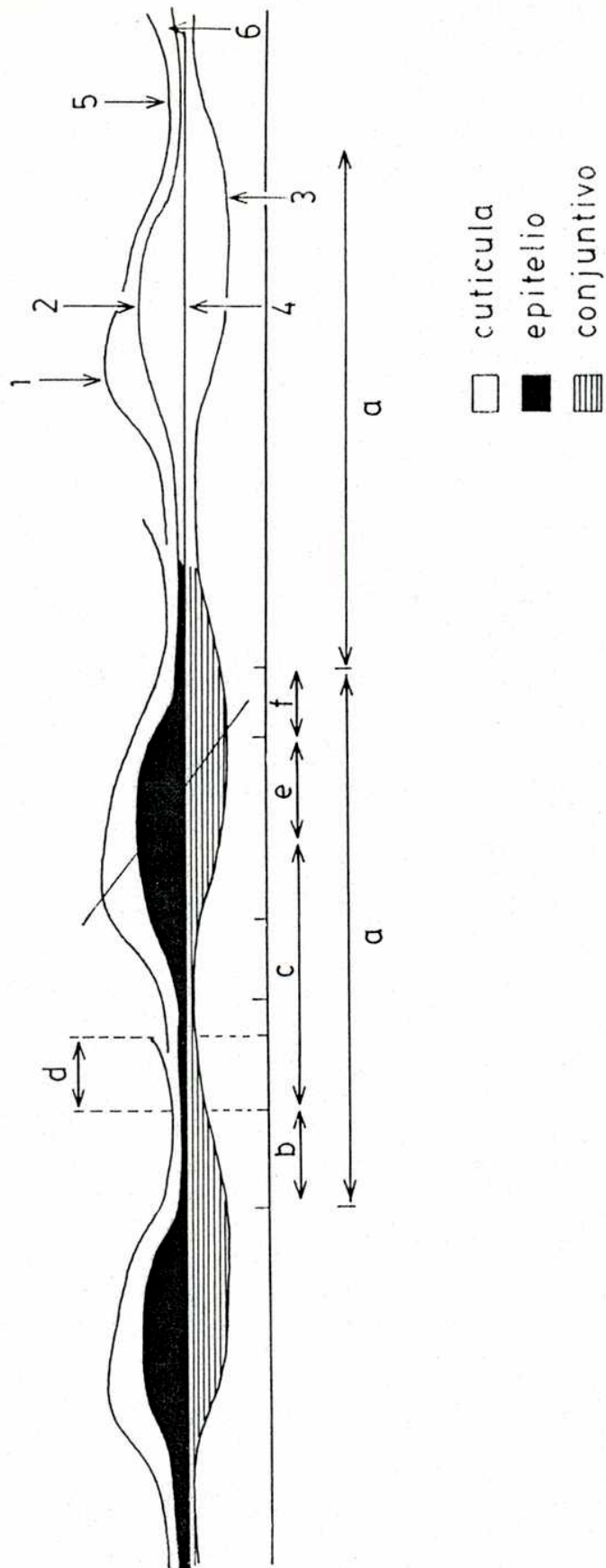


Figura 29: Variaciones periódicas del tegumento de *A. longinatus*.

El segmento a denota la "longitud de onda" (período) acotado entre dos momentos sucesivos de reinicio del ciclo.

Este segmento puede ser subdividido de acuerdo a lo siguiente: la fase b se caracteriza por el reinicio de proliferación del ciclo epitelial, la resorción de la antigua cutícula y formación de la nueva y la modelación del conjuntivo. La segunda etapa o fase c es la de mayor duración y durante ella se alcanza la hipertrofia epitelial y del conjuntivo con el máximo desarrollo cuticular. Entre estas dos etapas se cumple la fase d en la que se observa la superposición de las dos cutículas y se sitúa el momento de la exuviación. La etapa siguiente (e) corresponde a la máxima hipertrofia epitelial y del tejido conjuntivo y diferenciación epiteliofibrilar y del estroma de reticulina; es la etapa de adultez y estabilidad de todas las estructuras. La última etapa (f) es un período breve, de necrobiosis epitelial, del tejido conjuntivo y en algunos casos, de miocélulas, cerrándose así el ciclo.

En la parte derecha de la figura se indica, mediante flechas según un orden secuencial, los momentos culmen de desarrollo de los tejidos que forman el tegumento (1: cutícula; 2: epitelio; 3: conjuntivo; 4: máximo desarrollo simultáneo de los tres componentes del tegumento) y de disminución (5: epitelio-cutícula; 6: conjuntivo).

El segmento x-x indica el desplazamiento temporal de los culmenes epitelio-cutícula y conjuntivo.

La periodicidad de estos cambios en *A. longinaris*, de acuerdo a los resultados ya presentados en este estudio, es de aproximadamente 18-20 días, con una prolongación de la misma con el envejecimiento de los individuos y obviamente variable según las condiciones ambientales o experimentales a que puedan estar sometidos.

### 3.4 Modalidad de la exuviación

#### Comportamiento pre y postmuda

Las observaciones realizadas permiten concluir que la exuviación se realiza durante las horas nocturnas, ya que todas las exuvias fueron encontradas a la mañana.

El proceso de la exuviación puede describirse así: el animal permanece apoyado sobre los pereiópodos, batiendo permanentemente los pleópodos y flexionando el abdomen en forma de arco; la separación del exoesqueleto comienza al abrirse la sutura entre el cefalotórax y el abdomen. Luego, mediante flexiones bruscas se separa la porción correspondiente a ojos, escafoceritos, antenas, piezas bucales y pereiópodos y por último, por contracciones anteroposteriores libera el abdomen y el telson.

Este mecanismo de desprendimiento del antiguo exoesqueleto dura aproximadamente 30-40 segundos; el camarón queda apoyado sobre el fondo, en actitud de reposo, sin enterrarse y batiendo los pleópodos; pocas horas después se desplaza y nada en forma habitual. Si bien solamente en cuatro oportunidades pudo observarse la exuviación, ésta debe efectuarse tal como se ha descrito, ya que en el total de los casos restantes las exuvias se encontraron intactas, siendo reconocibles las dos porciones en que se separan durante la ecdisis.

No se observó depredación sobre la propia exuvia y es poco común que sea comida por otros camarones, en caso de estar agrupados en tanques.

#### Alimentación

En cuanto a la alimentación se determinó que al igual que en otros Decápodos, *A. longinavis* cesa de alimentarse en los últimos estadios de la premuda: en el caso de los 30 ejemplares estudiados, el período de ayuno varió entre 4 y 6 días: en premu-

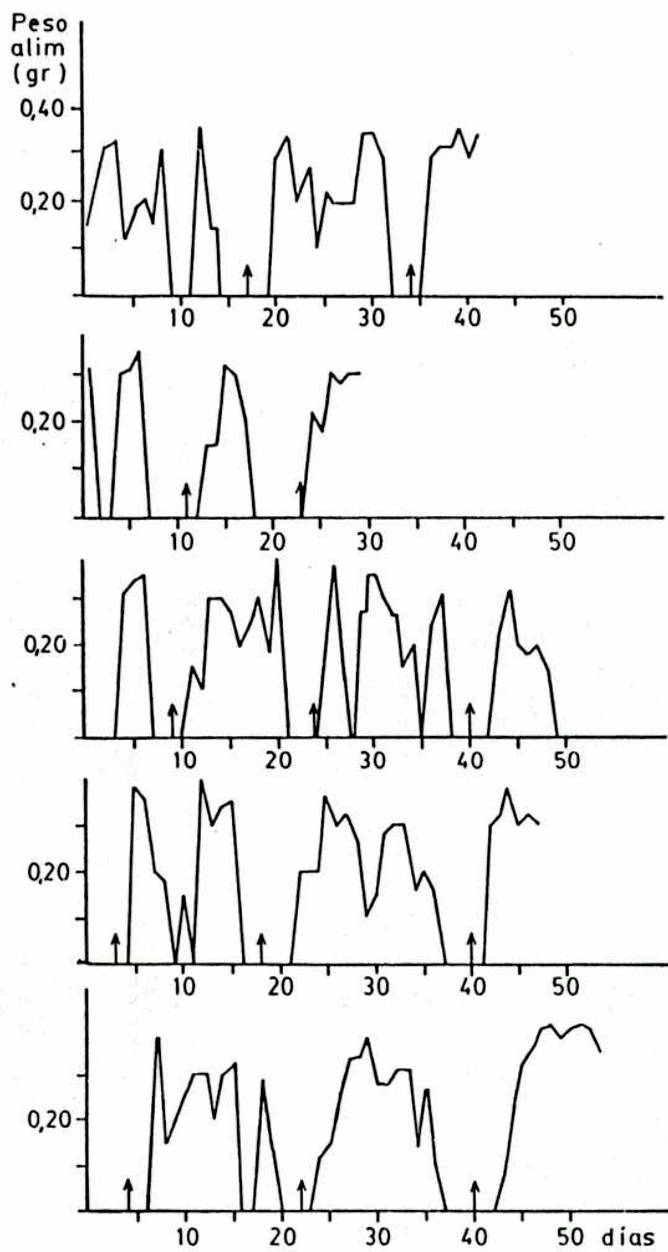


Figura 30. Registro de consumo de alimento de cinco ejemplares de *A. longinaris*.

La flecha indica el día de la exuviación.

da 3-4 días que corresponderían al estadio  $D_2$ - $D_3$ , reconocidos a través de la setogénesis y en postmuda 1 a 2 días (estadios A y B). La figura 30 muestra las variaciones en la alimentación diaria de cinco individuos que mudaron por lo menos dos veces durante la experimentación. Se indica en cada uno el lapso en que los camarones no se alimentan.

#### Frecuencia de muda

La frecuencia de muda promedio fue de 17 días, para las condiciones de temperatura a las que se trabajó (17.5-19°C).

La duración de la intermuda varía según el peso inicial de los ejemplares, pudiendo agruparlos en tres rangos:

$w_i$ (g)	n	N° de días de intermuda (promedio)
0.50-2.50	14	14
2.51-4.50	10	18
4.51-6.50	6	21

Tabla 6: Duración de la intermuda de *A. longinarius*, según el peso.

Por otra parte se estableció que la relación entre el peso inicial y el número de días de intermuda se ajusta al modelo de regresión potencial positivo (figura 31).

### 3.5 Crecimiento

Los valores de peso y largo total inicial y final, porcen-



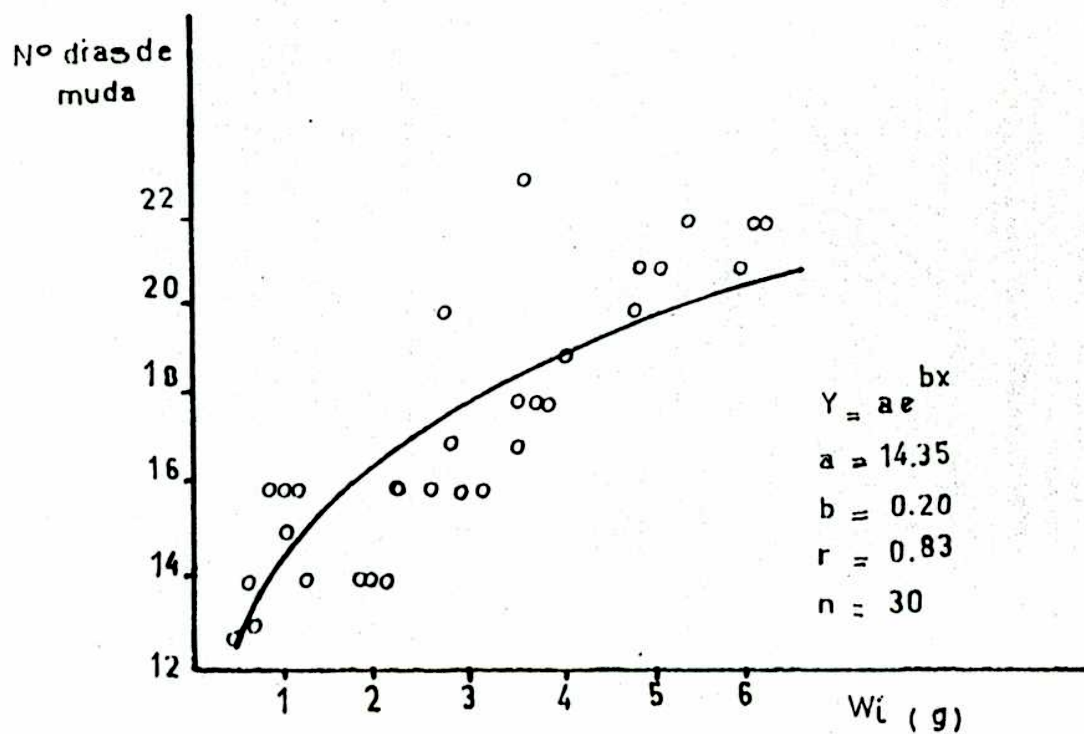


Figura 31. Relación entre el peso premuda y el número de días de intermuda de *A. longinaria* mantenidos en laboratorio.

taje de incremento en peso y número de días de intermuda se muestran en la tabla III (apéndice).

Los pesos oscilaron entre 0.60 y 6.20 g y los finales entre 0.72 y 6.28 g, respectivamente.

Al comparar el peso pre y postmuda, aplicando el modelo de Hiatt (1948), se determinó un ajuste lineal con un coeficiente de correlación  $r = 0.99$  (figura 32).

En cuanto a la relación entre el peso premuda y la duración del período de intermuda, como ya se mencionó, se estableció un ajuste al modelo potencial positivo, con un coeficiente de correlación  $r = 0.83$  (figura 31) para valores entre 0.60 y 6.20 g de peso inicial y 13 a 22 días de intermuda.

Los porcentajes de incremento en peso variaron entre 20 y 1.29 y al ser comparados con el peso inicial mostraron un ajuste al modelo potencial negativo ( $r = 0.80$ ) (figura 33).

Respecto al crecimiento en largo, la regresión entre el largo total premuda y el largo total postmuda se ajusta al modelo lineal con  $r = 0.99$  (figura 34).

Los valores iniciales variaron entre 49 y 120 mm y los finales entre 54 y 121 mm (tabla III, apéndice).

La relación entre el largo total premuda y el N° de días de intermuda demostró un ajuste a un modelo potencial positivo, con  $r = 0.86$  (figura 35).

Por último, los valores de largo total inicial y peso postmuda, se ajustaron a un modelo potencial positivo, con  $r = 0.97$  (figura 36).

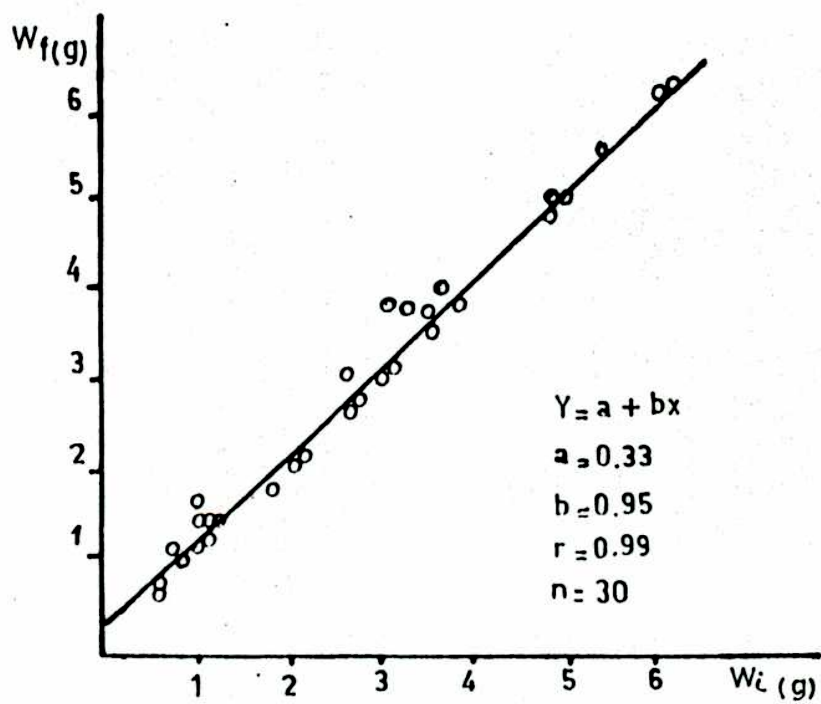


Figura 32. Relación entre el peso premuda y el peso postmuda de *A. longinaria* mantenidos en laboratorio,

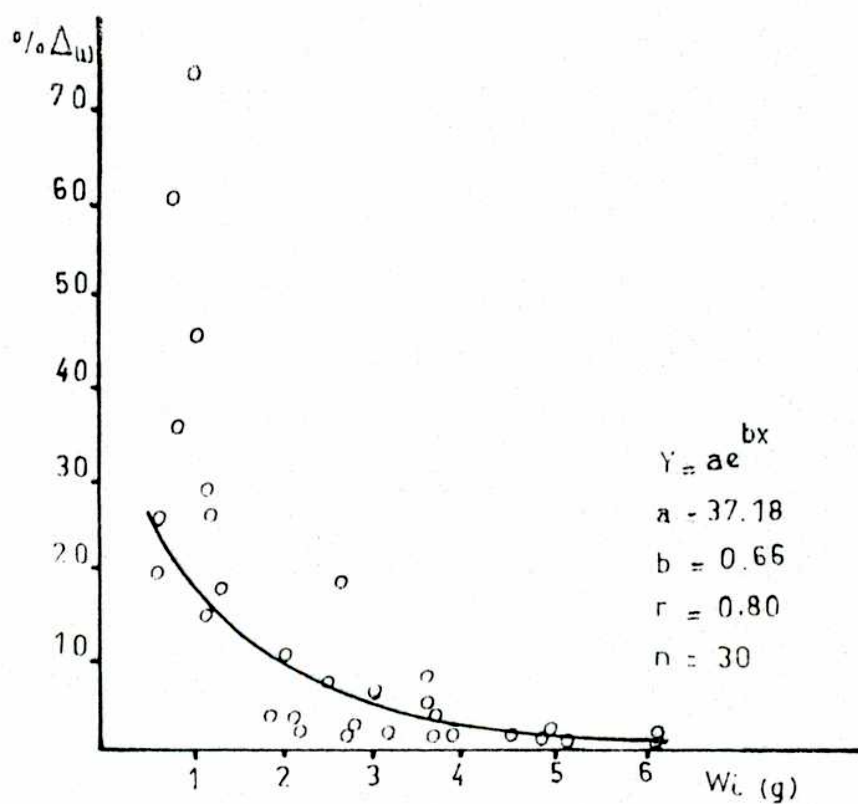


Figura 33. Relación entre el peso premuda y el porcentaje de incremento en peso de *A. longinaris* mantenidos en laboratorio.

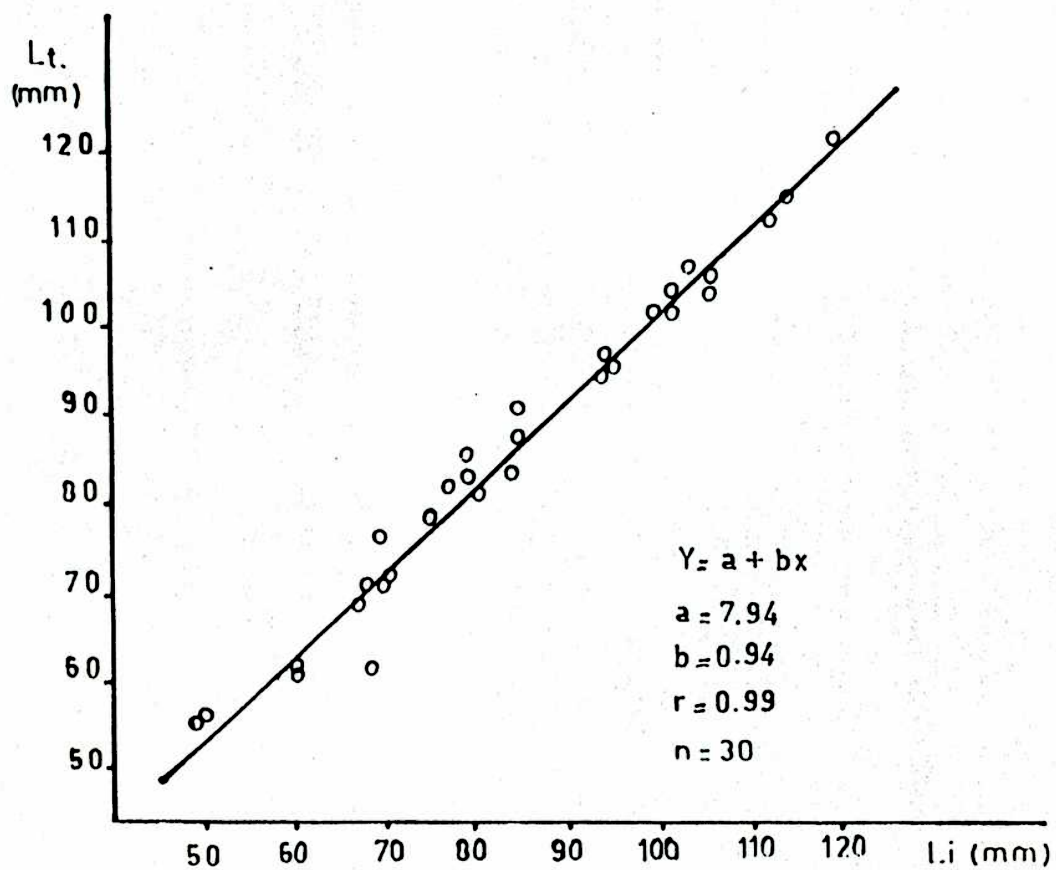


Figura 34. Relación entre el largo total premuda y el largo total postmuda de *A. longinaria* mantenidos en laboratorio.

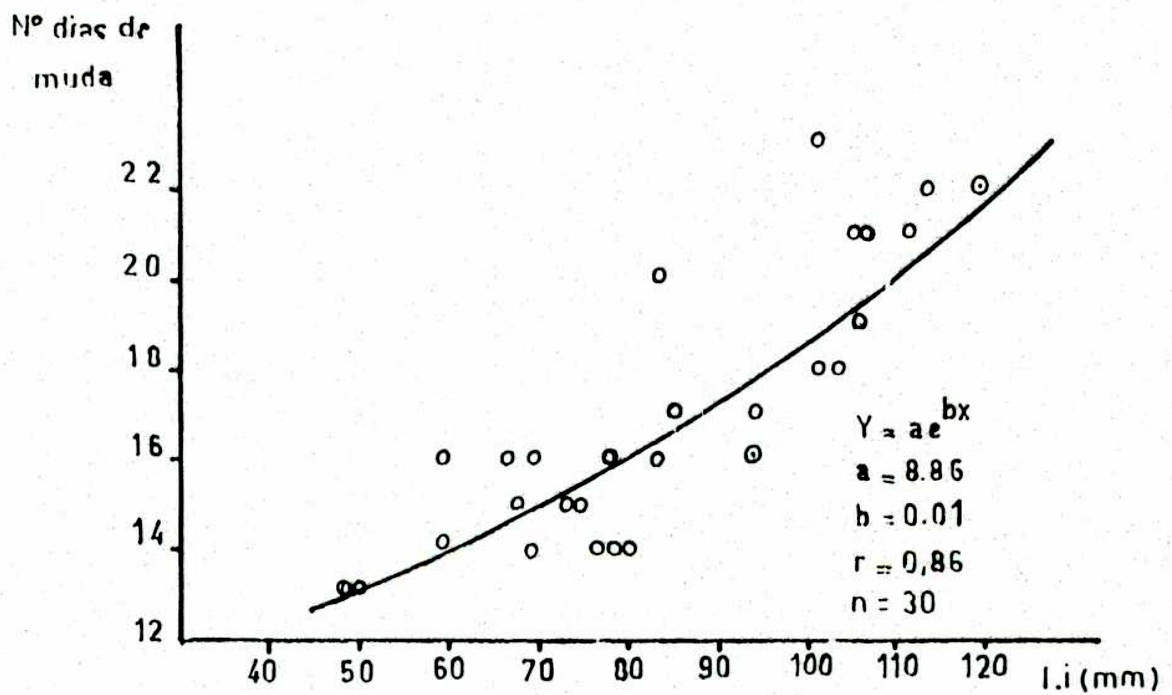


Figura 35. Relación entre el largo total premuda y el número de días de intermuda de *A. longinarius* mantenidos en laboratorio.

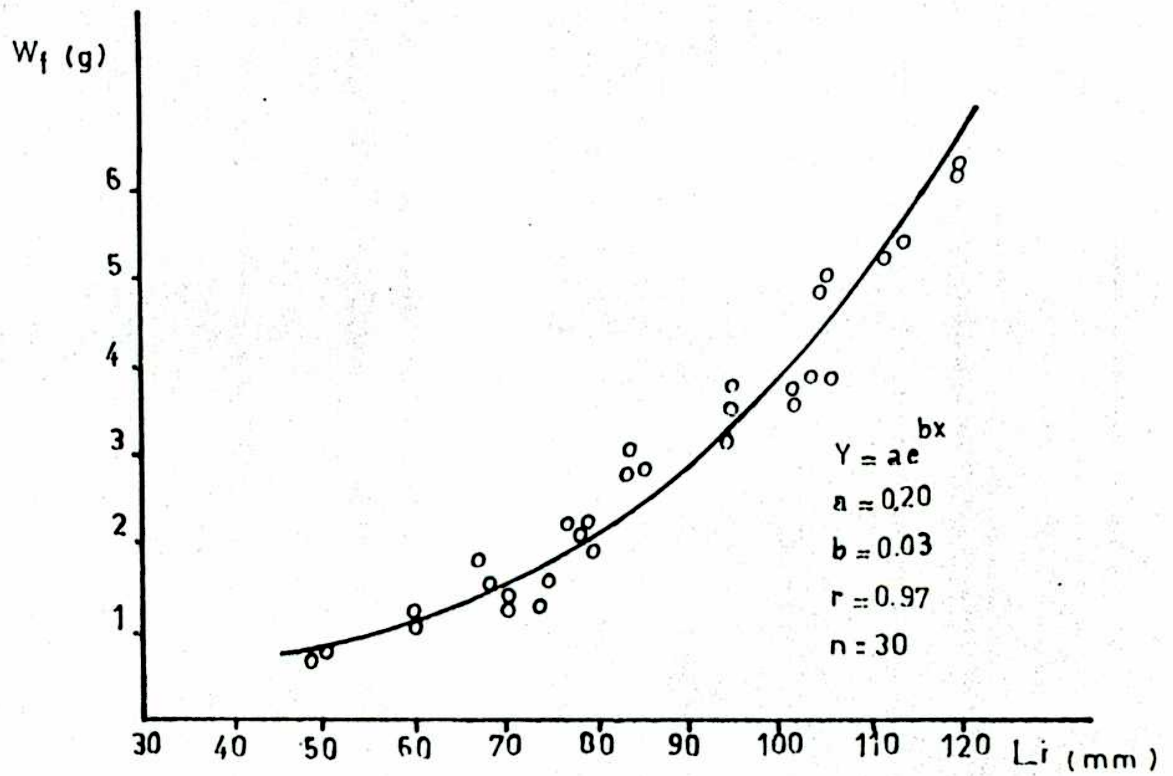


Figura 36. Relación entre el largo total premuda y el peso postmuda de *A. longinaria* mantenidos en laboratorio.

### 3.6 Influencia del colesterol

#### 3.6.1 Resultados de los experimentos

##### Experimento 1

Los resultados de este experimento de 43 días de duración se muestran en la tabla 7 (datos por tanque: tabla IV, apéndice). El análisis de la regresión para los valores del contenido de colesterol de las dietas y el porcentaje de supervivencia muestra un ajuste a un modelo lineal, con un  $r = 0.91$  (figura 37), lo cual significa que a un mayor contenido de colesterol le corresponde una mayor supervivencia. La menor supervivencia correspondió a los ejemplares alimentados con la dieta desgrasada ( $E_{0.2}$ ) y la mayor a los de la dieta suplementada con 1.3% de colesterol, siendo el valor logrado con esta última estadísticamente significativo respecto a los de las dietas  $E_{0.2}$  y  $E_{0.4}$  (tabla V, apéndice).

Los valores para tanques combinados de la tasa de muda variaron entre 2.08 para la dieta  $E_{0.2}$  y 4.13 para la  $E_{0.7}$  (tabla 10). Los datos por tanque se presentan en la tabla VI, apéndice. El análisis de la varianza entre las tasas de muda (tabla VII, apéndice), demostró diferencias estadísticamente significativas para  $p \leq 0.05$ . Del LSR resulta que hay diferencias significativas entre las tasas de muda calculadas para las dietas  $E_{0.7}$  y  $E_{1.3}$  respecto a las correspondientes a las  $E_{0.2}$  y  $E_{0.4}$ ; no existiendo diferencias significativas al comparar los valores de las dos primeras (tabla VIII, apéndice).

Respecto al crecimiento, el peso medio inicial varió entre 0.78 y 0.80 g; al finalizar el experimento el mayor peso medio alcanzado fue 1.14 g (dieta  $E_{0.7}$ ) y el menor 1.07 g (dieta  $E_{0.4}$ ) (tabla 7).

El incremento en peso medio varió entre 0.28 g (dieta  $E_{0.4}$ ) y 0.34 g (dieta  $E_{0.7}$ ); en cuanto al porcentaje de incremento en peso medio, el menor correspondió a la dieta  $E_{0.4}$  (35.44%) y el



## Experimento 1

Dieta	Peso Medio		Final	Variación		% Supervivencia
	Inicial			Peso Medio	% Peso Medio	
E <sub>0.2</sub>	0.79 ± 0.009	1.10 ± 0.110		0.31	39.24	46.42
E <sub>0.4</sub>	0.79 ± 0.012	1.07 ± 0.045		0.28	35.44	64.28
E <sub>0.7</sub>	0.80 ± 0.003	1.14 ± 0.045		0.34	42.50	77.50
E <sub>1.3</sub>	0.78 ± 0.008	1.10 ± 0.024		0.32	41.02	91.70

Tabla 7. Crecimiento y supervivencia de *A. longinatus* alimentados con dietas con diferentes porcentajes de colesterol.  
 Valores promedio de tres tanques ± SE; número individuos inicial para cada tratamiento: 28.

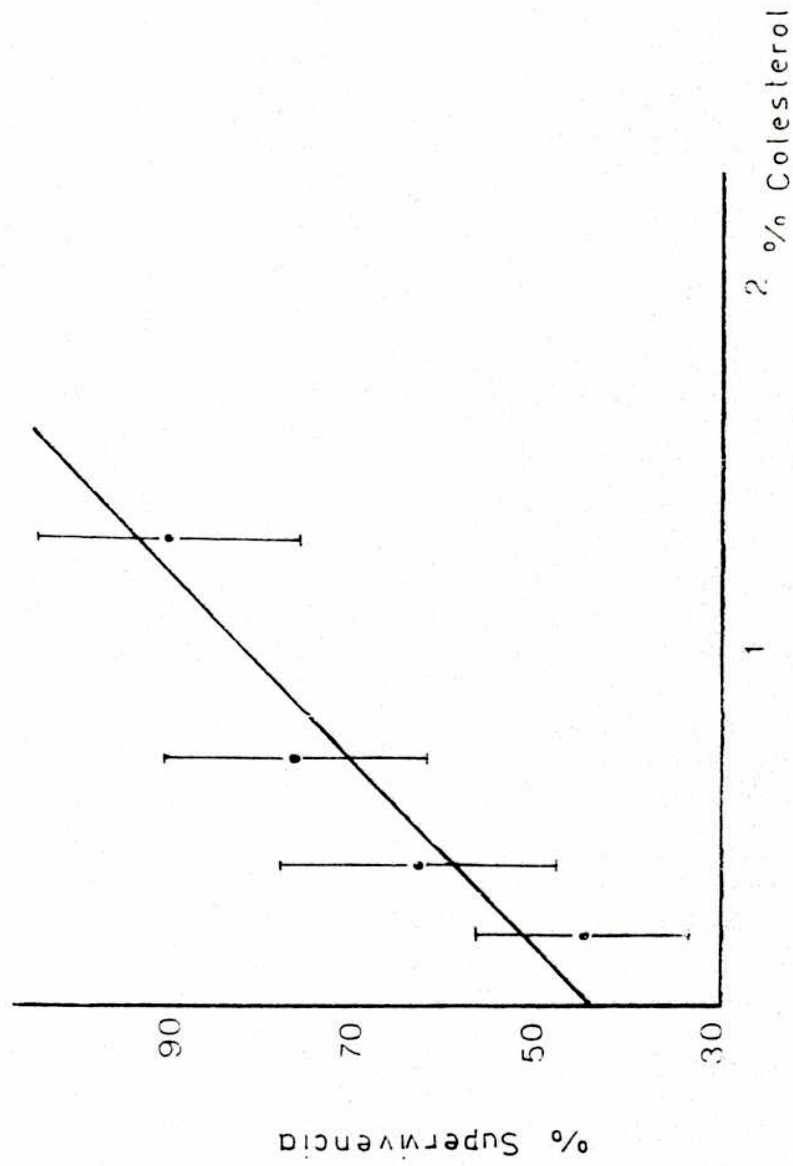


Figura 37. Experimento 1. Relación entre el porcentaje de colesterol de la dieta y la supervivencia de *A. longinatis* (valores de tres tanques combinados).

mayor a la  $E_{0.7}$  (42.50%). Al analizar estos tres parámetros mediante ANOVA, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas (tablas IX, X y XI, apéndice).

### Experimento 2

En la tabla 8 se presentan los resultados de este experimento, que tuvo una duración de 45 días. ( Los datos por tanque figuran en la tabla XII, apéndice ).

Mediante el análisis de regresión entre porcentaje de colesterol y supervivencia se demostró un ajuste al modelo lineal ( $r = 0.91$ ) (figura 38).

La menor supervivencia se observó en los camarones alimentados con la dieta desgrasada (39.28%), la mejor (77.57%) correspondió a la dieta adicionada con 2.1% de colesterol mientras que con las dos restantes,  $E_{0.7}$  y  $E_{1.3}$ , se alcanzó el mismo valor (53.57%). Al analizar estos valores se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la dieta  $E_{2.1}$  y las otras tres (tabla XIII, apéndice).

Los valores de tasa de muda por tanque se muestran en la tabla XIV (apéndice). Respecto a las tasas de muda para tanques combinados variaron entre 2.31 (dieta  $E_{0.2}$ ) y 4.46 (dieta  $E_{2.1}$ ) (tabla 10), con diferencias estadísticamente significativas al ser analizadas mediante ANOVA (tabla XV, apéndice).

El análisis del LSR demuestra diferencias significativas entre la tasa calculada para la dieta  $E_{0.2}$  y las otras tres, entre las que no hay diferencias estadísticas (4.32; 3.90 y 4.46 para las dietas  $E_{0.7}$ ,  $E_{1.3}$  y  $E_{2.1}$ , respectivamente) (tabla XVI, apéndice).

En este experimento el peso medio inicial varió entre 0.85 g (dieta  $E_{0.2}$ ) y 0.87 g (dietas  $E_{1.3}$  y  $E_{2.1}$ ) (tabla 8); al término de los 45 días de experimentación, el peso medio final varió desde 1.12g (dieta  $E_{0.2}$ ) a 1.28g (dieta  $E_{2.1}$ ); el incremento

Experimento 2

Dieta	Peso Medio		Variación		% Supervivencia
	Inicial	Final	Peso Medio	% Peso Medio	
E <sub>0.2</sub>	0.85 ± 0.008	1.12 ± 0.032	0.27	31.59	39.28
E <sub>0.7</sub>	0.86 ± 0.006	1.19 ± 0.045	0.33	37.81	53.57
E <sub>1.3</sub>	0.87 ± 0.003	1.19 ± 0.035	0.31	35.87	53.57
E <sub>2.1</sub>	0.87 ± 0.006	1.28 ± 0.020	0.42	48.06	77.57

Tabla 8. Crecimiento y supervivencia de *A. longicirris* alimentados con dietas con diferentes porcentajes de colesterol.

Valores promedio de tres tanques ± SE; número individuos inicial para cada tratamiento: 28.

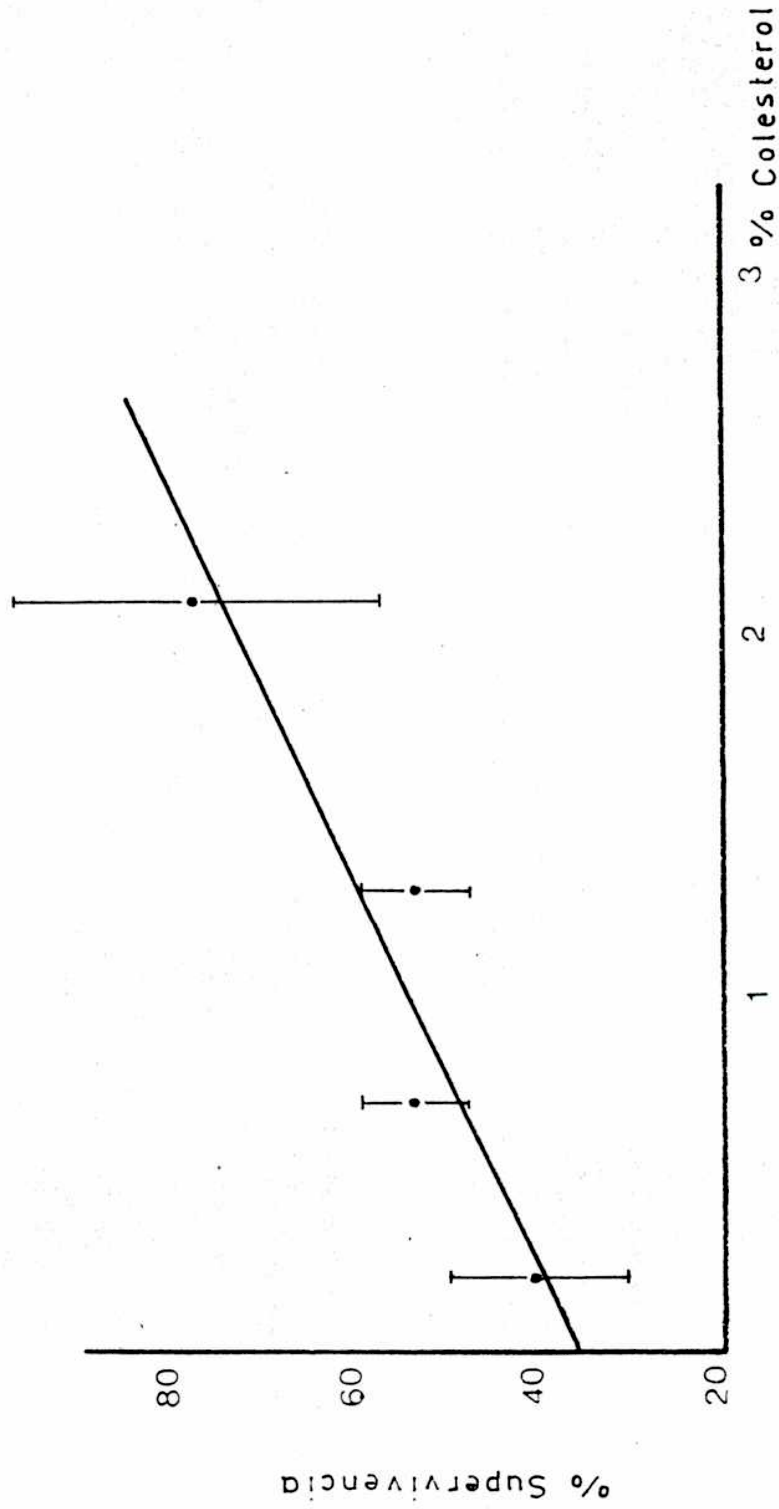


Figura 38. Experimento 2, Relación entre el porcentaje de colesterol de la dieta y la supervivencia de *A. longinatis* (valores de tres tanques combinados).

en peso medio menor (0.27g) correspondió a los camarones alimentados con la dieta E<sub>0.2</sub> y el mayor (0.42g) a los de la dieta E<sub>2.1</sub>. Respecto al tercer parámetro analizado, el menor porcentaje de incremento en peso medio (31.59) se alcanzó con la dieta E<sub>0.2</sub> y el mayor (48.06) se logró con la dieta E<sub>2.1</sub>.

Para ninguno de los tres parámetros de crecimiento analizados se comprobaron diferencias estadísticamente significativas con relación al contenido de colesterol (tablas XVII, XVIII y XIX, apéndice).

### Experimento 3

Este experimento duró 45 días y los resultados figuran en la tabla 9 (datos por tanque: tabla XX, apéndice).

El análisis de regresión entre el contenido de colesterol y la supervivencia mostró un ajuste a un modelo cuadrático, con  $r = 0.99$ , es decir que existe un óptimo de contenido de colesterol respecto a la supervivencia, calculado en 1.8% (figura 39).

La mejor supervivencia (71.43%) se obtuvo con las dietas E<sub>1.3</sub> y E<sub>2.1</sub>, mientras que con las dietas E<sub>0.7</sub> y E<sub>2.9</sub> se hallaron valores más bajos: 50 y 46.43%, respectivamente. El valor 71.43% (dietas E<sub>1.3</sub> y E<sub>2.1</sub>) resultó ser estadísticamente significativo respecto a los otros dos (tabla XXI, apéndice).

La tasa de muda varió entre 3.49 (dieta E<sub>0.7</sub>) y 4.39 (dieta E<sub>2.9</sub>) (tabla 10), (valores por tanque: tabla XXII, apéndice); el ANOVA demostró diferencias significativas entre las cuatro dietas probadas (tabla XXIII, apéndice).

Al comparar las tasas de muda con el LSR se comprobaron diferencias estadísticamente significativas entre la correspondiente a la dieta E<sub>2.9</sub> y las de las otras tres, aunque entre éstas (dietas E<sub>0.7</sub>, E<sub>1.3</sub> y E<sub>2.1</sub> de colesterol) las diferencias no fueron significativas (tabla XXIV, apéndice).

El peso medio inicial de los camarones empleados en este

experimento varió entre 1.24 g (dieta E<sub>0.7</sub>) y 1.29 g (dietas E<sub>1.3</sub> y E<sub>2.1</sub>) (tabla 9). Al finalizar el experimento el menor peso medio (1.69 g) correspondió a la dieta E<sub>0.7</sub> y el mayor a la dieta E<sub>2.1</sub> (1.78 g).

En cuanto al incremento en peso medio, el menor correspondió a la dieta E<sub>1.3</sub> y el mayor a la dieta E<sub>2.1</sub>; este mismo comportamiento se observó respecto al porcentaje de incremento en peso medio (tabla 9).

Al igual que en los dos experimentos anteriores, el ANOVA demostró que no hubo diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros de crecimiento analizados (tablas XXV, XXVI y XXVII, apéndice).

La información obtenida de estos tres experimentos puede resumirse así:

Supervivencia: Los menores porcentajes de supervivencia correspondieron a los lotes de camarones alimentados con dieta E<sub>0.2</sub> (experimentos 1 y 2), aumentando a medida que se incrementa el porcentaje de colesterol de las dietas, hasta 2.1 (experimentos 1, 2 y 3). Mayor contenido de colesterol (2.9%) aumenta la mortalidad (experimento 3).

Tasa de muda: Las dietas con contenido de colesterol menor que 0.7%, provocan un menor número de mudas (experimento 1).

Los camarones alimentados con dietas con 0.7, 1.3 y 2.1% aumentan el número de mudas (experimento 2), es decir que a mayor porcentaje de colesterol mayor tasa de muda. Este mismo comportamiento se observó en el tercer experimento, para porcentajes de colesterol entre 0.7 y 2.9.

Crecimiento: Aunque se observa una tendencia a un mejor crecimiento a medida que aumenta el contenido de colesterol de

Experimento 3

Dieta	Peso Medio		Variación		% Supervivencia
	Inicial	Final	Peso Medio	% Peso Medio	
E <sub>0.7</sub>	1.24 ± 0.015	1.69 ± 0.102	0.45	36.22	50.00
E <sub>1.3</sub>	1.29 ± 0.025	1.69 ± 0.082	0.41	31.29	71.43
E <sub>2.1</sub>	1.29 ± 0.012	1.78 ± 0.018	0.49	38.19	71.43
E <sub>2.9</sub>	1.28 ± 0.006	1.74 ± 0.115	0.46	35.50	46.43

Tabla 9. Crecimiento y supervivencia de *A. longinatus* alimentados con dietas con diferentes porcentajes de colesterol.  
 Valores promedio de tres tanques ± SE; número individuos inicial para cada tratamiento: 28.



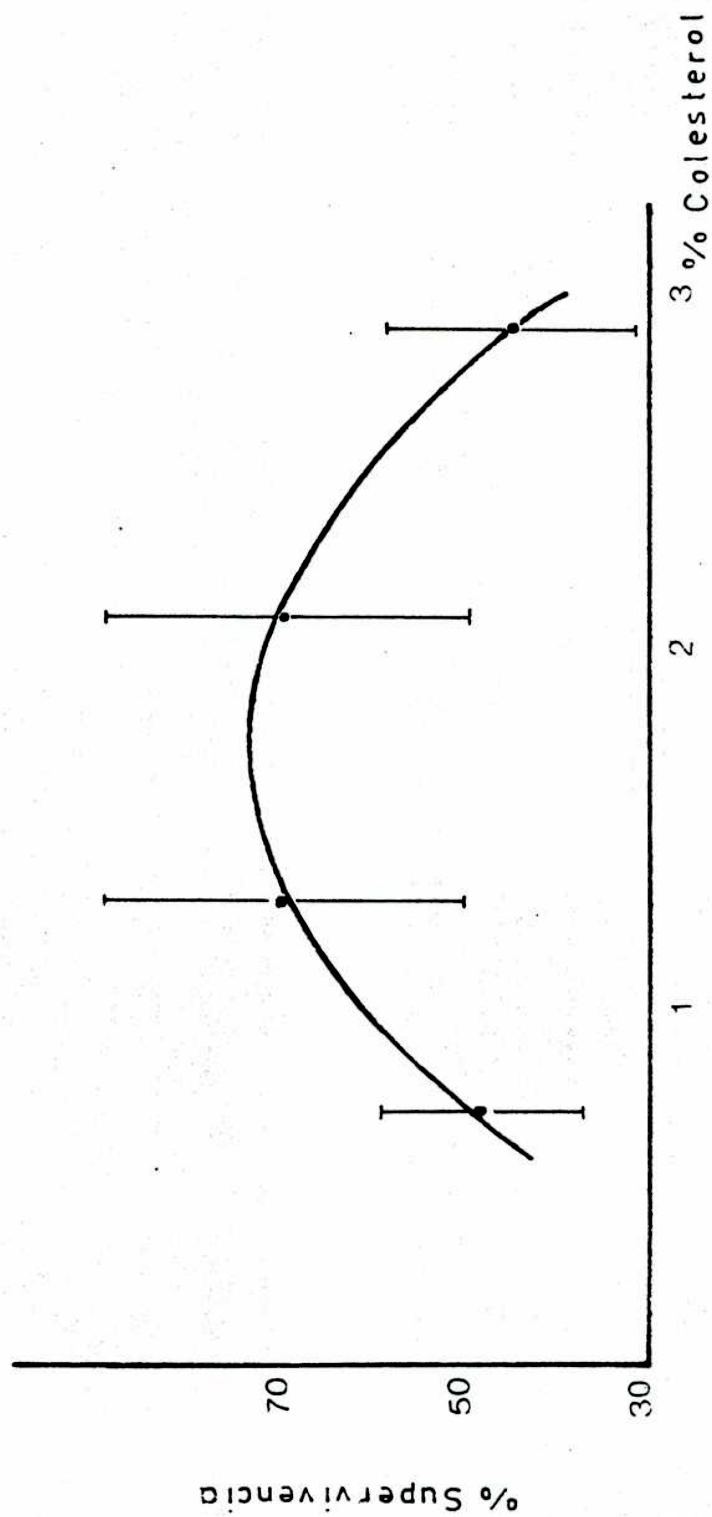


Figura 39. Experimento 3. Relación entre el porcentaje de colesterol de la dieta y la supervivencia de *A. longinavis* (valores de tres tanques combinados).

Dieta	$E_{0.2}$	$E_{0.4}$	$E_{0.7}$	$E_{1.3}$	$E_{2.1}$	$E_{2.9}$
Exp. 1	$2.08 \pm 0.621$	$2.54 \pm 0.532$	$4.13 \pm 0.571$	$3.72 \pm 0.276$		
Exp. 2	$2.31 \pm 0.126$		$4.32 \pm 1.16$	$3.90 \pm 0.035$	$4.46 \pm 1.299$	
Exp. 3			$3.49 \pm 0.202$	$3.62 \pm 0.464$	$3.62 \pm 0.420$	$4.39 \pm 0.960$

Tabla 10. Valores de Tasa de Muda (Brown y Cunningham, 1939). (valores promedio de tres tanques combinados  $\pm$  varianza).

las dietas hasta 2.1% (experimentos 1, 2 y 3) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los tres parámetros analizados.

### 3.6.2. Influencia del colesterol sobre la Setogénesis

La setogénesis se estudió en 33 ejemplares alimentados con dieta E (no desgrasada) adicionada con 2% de colesterol (tabla XXII, apéndice).

La observación de los cambios ocurridos en las sedas de los urópodos demostró lo siguiente:

En todos los casos, en la matriz del urópodo se visualizaron modificaciones similares a las descritas para los camarones provenientes de captura o de laboratorio alimentados con dieta E standard.

Sin embargo, en un gran número de casos se detectó una anomalía respecto al momento de formación de los conos en las sedas antiguas: los conos no aparecen o lo hacen tardíamente, de manera muy irregular, completándose su formación durante la premuda tardía (estadio  $D_2$ ). Igualmente la retracción del contenido de la seda y la aparición del filamento central se retrasan. En algunos casos no se pudo correlacionar el estadio observado con los determinados en condiciones normales.

De los 33 individuos en los que pudo establecerse el estadio, se detectaron anomalías en la formación de conos en 22 casos, según el detalle que se muestra en la tabla siguiente:

Conos	C	D <sub>0</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>
Normales	2	4	2	3
Anormales	5	10	3	4

Una vez alcanzado el estadio D<sub>2</sub>, el proceso de setogénesis y exuviación progresa normalmente. No se evidenciaron cambios en la consistencia del exoesqueleto a través del ciclo de muda.

En las figuras 40 y 41 se presentan las microfotografías correspondientes a los estadios C, D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>, en las que puede observarse las alteraciones morfológicas descritas.

- Estadio C (figura 40 A): en la antigua seda el contenido se presenta aún vacuolado, no se ha formado el filamento central; en cuanto a los conos se observa la formación del tabique paralelo al borde del urópodo. Este aspecto correspondería a un estadio A-B de la setogénesis normal.
- Estadio D<sub>0</sub> (figura 40 B): el estadio se identifica fácilmente por la retracción total de la matrix del urópodo. En las sedas antiguas no se han formado los conos; el contenido continúa vacuolar.
- Estadio D<sub>1</sub> (figura 41 A): los eventos del plegamiento de la antigua epidermis y formación de las nuevas sedas se desarrollan de igual manera que en la setogénesis normal. Los conos aún no se han formado aunque se visualiza la retracción del contenido de la antigua seda, con lo que se inicia la formación del filamento central.
- Estadio D<sub>2</sub> (figura 41 B): se observan las nuevas sedas formadas en la matrix del urópodo. En las sedas antiguas se acentúa la retracción del contenido y en algunas se observa el cono completamente formado y el filamento central.

No se observaron diferencias de comportamiento alimentario o durante la ecdisis respecto al establecido para condiciones de laboratorio.

En cuanto a la duración de la intermuda, se estableció que varía entre 8 y 13 días (tabla XXVIII, apéndice), con un promedio de 11.15 días

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

Figura 40

Alteraciones morfológicas de las sedas  
por efecto del colesterol.

A: Estadio C.

B: Estadio D<sub>0</sub>.

La escala representa 50  $\mu\text{m}$ .

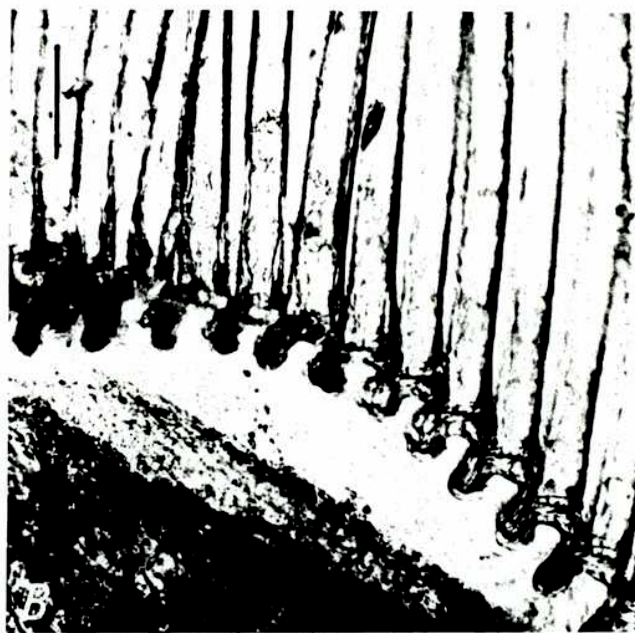


Figura 40





Figura 41

Alteraciones morfológicas de las sedas  
por efecto del colesterol.

A: Estadio  $D_1$ .

b: Estadio  $D_2$ .

La escala representa 50  $\mu\text{m}$ .

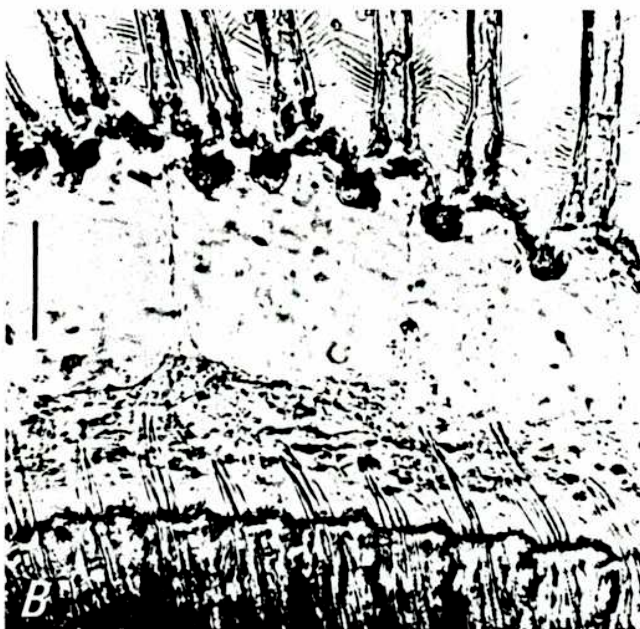
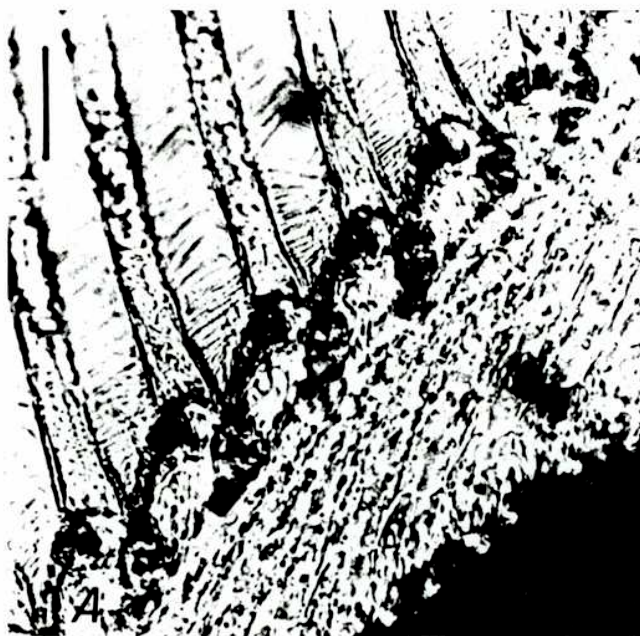


Figura 41

Duración de los estadios

También se determinó la duración relativa de cada estadio; la tabla 11 muestra estos valores:

Estadio	Duración
A	12 horas
B	1-2 días
C	2-3 días
D <sub>0</sub>	2-4 días
D <sub>1</sub> '	12-24 horas
D <sub>1</sub> "	1-2 días
D <sub>1</sub> '''	12-24 horas
D <sub>2</sub>	24 horas

Tabla 11: Duración de los estadios de intermuda de *A. longinaris* alimentados con dieta adicionada con 2% de colesterol.

Determinación de frecuencia de estadios

Este aspecto se desarrolló por comparación de dos lotes de camarones mantenidos en laboratorio durante 30 días.

El experimento comenzó con igual número de individuos para cada tratamiento (dieta E y dieta E<sub>2</sub>) y la siguiente distribución de estadios:

Estadio	n	%
C	4	14.8
D <sub>0</sub>	10	37.0
D <sub>1</sub>	6	22.2
D <sub>2</sub>	7	25.9

n total = 27

La tabla 12 muestra la frecuencia de estadios luego de 30 días de tratamiento.

	dieta E		dieta E <sub>2</sub>	
	n	%	n	%
A	3	12.5	-	-
B	4	16.7	-	-
C	-	-	-	-
D <sub>0</sub>	5	20.8	6	26.1
D <sub>1</sub>	9	37.5	12	52.2
D <sub>2</sub>	3	12.5	5	21.7

Tabla 12: Frecuencia de estadios del ciclo de muda, al finalizar el experimento.

La figura 42 compara el histograma de frecuencias para cada tratamiento.

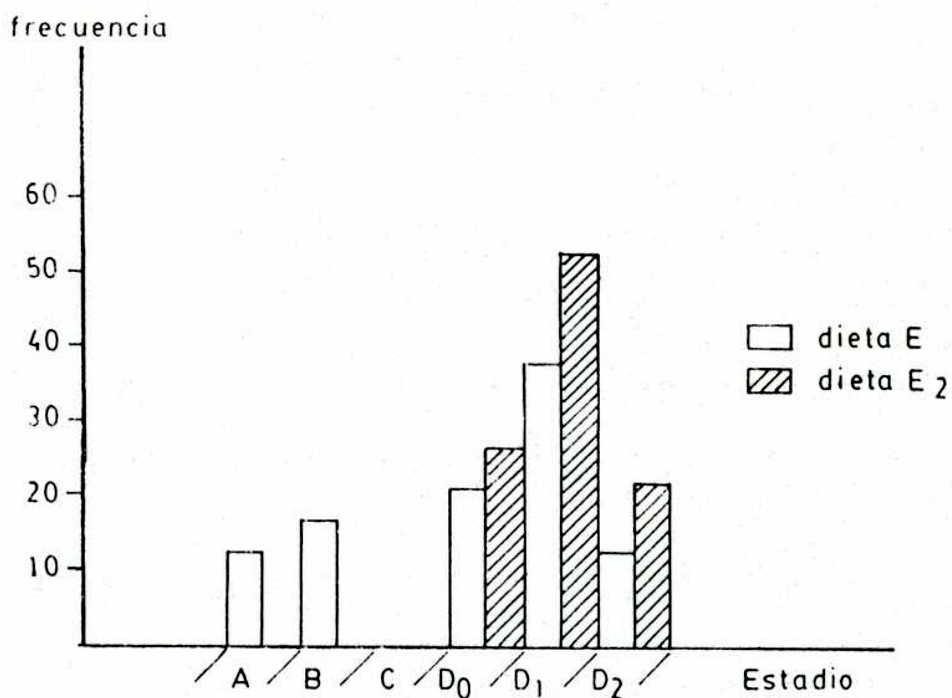


Figura 42: Comparación de la frecuencia de estadios del ciclo de muda de camarones alimentados con dieta E y dieta E<sub>2</sub>.

En cuanto al número de mudas, al término del experimento para la dieta E fue de 17, mientras que para la E<sub>2</sub> fue de 23.

Los valores de tasa de muda (Brown y Cunningham, 1939) fueron 2.09 y 3.05, para las dietas E y E<sub>2</sub>, respectivamente.

#### 4. DISCUSSION

## 4. DISCUSION

### 4.1 Reconocimiento de los estadios del ciclo

La descripción de la setogénesis de *Artemesia longinaris* se basó en el esquema presentado por Drach en 1939 y su modificación posterior (Drach y Tchernigovzeff, 1967).

Dado que el género *Artemesia* es monoespecífico los resultados se compararán con los obtenidos en especies afines de *Natantia* y en particular con diversas especies del género *Penaeus* y otras de las familias Solenoceridae y Sicyoniidae, que junto a Penaeidae integran la Superfamilia Penaeoidea (Bowman y Abele, 1982). La figura 43 muestra los rasgos usados para el reconocimiento de los estadios del ciclo de muda en las tres familias nombradas.

El proceso de formación de las nuevas sedas (setogénesis) puede relacionarse con cambios externos sólo en especies muy calcificadas. Así, los estadios de la muda pueden determinarse según la dureza del exoesqueleto de ciertos segmentos o los apéndices (Kurup, 1964; Drach y Tchernigovtzeff, 1967; Stevenson et al., 1968; Aiken, 1973; Vranck y Durliat, 1978) o por variaciones en la pigmentación (Aiken, op. cit.; Peebles, 1977) En especies poco calcificadas como *A. longinaris* estos criterios no pueden aplicarse ya que la consistencia del cuerpo es prácticamente la misma durante todo el ciclo y la pigmentación se mantiene invariable.

De las observaciones realizadas en el presente estudio se desprende que el primer estadio de la postmuda (A) es fácilmente identificable, aunque no pudo ser subdividido tomando en cuenta la morfología de las sedas o la dureza del exoesqueleto; igualmente en el langostino *Pleoticus muelleri* el estadio A no puede ser subdividido (Diaz y Petriella, en prensa ).

Para especies afines, Anderson et al. (1985), en *Sicyonia*



	<i>Artemesia longinaria</i> (Petriella, 1984)	Gen. <i>Penaeus</i> *	<i>Pleoticus muellicii</i> (Diaz y Petriella, en prensa)	<i>Sicyonia ingentis</i> (Anderson et al., 1985)
<u>Estadios A-B</u>	A: Sedas llenas de citoplasma translúcido. B <sub>1</sub> -B <sub>2</sub> : Se forma un tabique cerca de la zona de articulación.	A: Sedas llenas de material translúcido. B: Comienza la formación de conos.	A: La matriz celular llena la seda. B <sub>1</sub> -B <sub>2</sub> : Matriz de la seda re- traída. Se observa el filamento central.	A-B: Conos no formados.
<u>Estadio C</u>	Conos formados. Comienza la retracción.	Conos formados.	Comienza la retracción de la epidermis. No presenta conos.	Conos formados.
<u>Estadio D</u>	D <sub>0</sub> : Máxima retracción de la epidermis. D <sub>1</sub> : Epidermis plegada. D <sub>1</sub> <sup>''</sup> : Se forman canales paralelos. D <sub>1</sub> <sup>'''</sup> : Nuevas sedas formadas. D <sub>2</sub> : Nuevas sedas en la base de las antiguas.	Comienza la retracción. Epidermis plegada. Se profundizan los pliegues. Se completa la invaginación. Las nuevas sedas comienzan a evaginarse.	La retracción de la epidermis es máxima. Epidermis plegada. Se forman canales paralelos. Nuevas sedas formadas dentro de los canales. Se evaginan las nuevas sedas alcanzando la zona de articulación.	Comienza la retracción epidérmica. D <sub>1</sub> -D <sub>2</sub> : Epidermis plegada. Nuevas sedas progresivamente visibles.

(\*) *P. duorarum* (Schafer, 1968); *P. californiensis* y *P. stylacostus* (Huner y Colvin, 1979); *P. meiguicensis* (Longmuir, 1983); *P. esculentus* (Smith y Dall, 1985).

Figura 43: Comparación de los criterios de reconocimiento de los estadios del ciclo de muda de la Super Familia Penaeoidea.

*ingentis* caracterizan un solo estadio de postmuda (A-B), reconociéndolos por el grado de rigidez del cefalotórax (extremadamente blando en A y cede a la presión en B), mientras que para *Penaeus californiensis* y *P. stulirostris*, Huner y Colvin (1979) no encontraron rasgos que permitan separar estos estadios. Sin embargo, para *P. esculentus*, Smith y Dall (1985) distinguen los estadios A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> utilizando como criterio no morfológico el grado de consistencia del exoesqueleto (membranoso, de menor o mayor grado de rigidez).

El siguiente estadio de la postmuda (B) comienza con la retracción de la matriz de la seda, que puede manifestarse de dos maneras: por la presencia de conos ("agutaje conique" de Drach, 1944) o por la formación del filamento central.

Si bien Drach y Tchernigovtzeff (1967) expresan que no hay desarrollo de conos en las nuevas sedas de los peneidos, en *A. longinarius* se demuestra la aparición de un septo oclusivo en la base de la seda, que permite subdividir el estadio B y distinguirlo del estadio siguiente (C): la presencia del septo en todas las sedas define al estadio B<sub>1</sub> y la aparición del filamento central corresponde al B<sub>2</sub>. Otros autores han demostrado la existencia de conos en varias de las especies del género *Penaeus* y el inicio de su formación se emplea para definir este estadio: *P. duorarum* (Schafer, 1968), *P. merguensis* (Longmuir, 1983) y *P. esculentus* (Smith y Dall, op. cit.), aunque no lo subdividen en ningún caso. Las sedas de *Pleoticus muelleri* no presentan conos y el estadio B se reconoce por la formación del filamento central, coincidiendo con lo descrito para otras especies como *Astacus leptodactylus* (Van Herp y Bellon-Humbert, 1978), *Nephrops norvegicus* (Sardá, 1983) y *Panulirus marginatus* (Lyle y McDonald, 1983).

Durante la intermuda el reconocimiento del estadio C puede realizarse en *A. longinarius* con precisión por la presencia de conos completamente formados en la totalidad de las sedas y de un filamento central evidente. De la bibliografía disponible se concluye que este mismo criterio es válido para las especies del géne-

ro *Penaeus* ya mencionadas; asimismo, según la revisión presentada por Reaka (1975) el mecanismo de formación de los conos sería similar al que ocurre en los demás taxa de Decápodos.

De los estadios siguientes, el  $D_0$ , que inicialmente fue descrito por Charniaux-Legendre (1952) para Anfípodos, se intercala entre la intermuda (estadio C) y la premuda (estadios  $D_1$ - $D_4$ ) quedando definido por la ápolisis (Jenkin y Hinton, 1966), es decir, la retracción de la epidermis, siendo éste un proceso universal para todos los Crustáceos. En el presente estudio se define para *A. longinarius* al estadio  $D_0$  como aquél en que la retracción epidérmica es máxima: la profundidad alcanzada por la epidermis es aproximadamente igual a la altura de los conos. Se optó por emplear este rasgo en forma comparativa dado que en algunos de los ejemplares analizados, se vió que la retracción comienza al finalizar el estadio C, coincidiendo con la formación de los conos en el 100% de las sedas; esto evidencia un cambio gradual, no abrupto entre ambos estadios. Scheer (1960) menciona una transición similar en especies de Natantia, asignándole características de intermuda tardía y denominando  $C_b$  a este estadio; también Smith y Dall (1985) indican para *Penaeus esculentus* el inicio de la retracción al final del estadio C. Asimismo, este comportamiento ha sido observado por otros autores en distintos taxa: Kurup (1964) en una especie de Anomuro; Aiken (1973) en *Homarus americanus*; Reaka (1975) en varias especies de Estomatópodos y Vranck y Durliat (1978) en *Astacus leptodactylus*.

La génesis de las nuevas sedas (setogénesis) en *A. longinarius* es similar a la que se describió para *Palaemon serratus* (Drach, 1944) y es coincidente con lo que ocurre en varias especies de pe-neidos: *Penaeus californiensis*, *P. duorarum*, *P. esculentus*, *P. merguensis* y *P. stylirostris*. El proceso puede resumirse así: la epidermis se retrae, se invagina y se forma una estructura cilíndrica de doble pared (que se distingue en el estadio  $D_1$ ) que, al finalizar el estadio  $D_2$  se evagina como el dedo de un guante;

la pared interna dará origen a la porción distal y la externa a la proximal; este mecanismo fue descrito por Passano (1960) para otros Natantia y la estructura de doble pared puede representarse como "un tubo dentro de otro tubo" según lo observado por Stevenson et al. (1968) en el macruro *Orconectes sanborni*. El siguiente estadio (premuda avanzada:  $D_2$ ) puede reconocerse en la especie aquí estudiada por dos estructuras de fácil identificación: la presencia de bárbulas bien desarrolladas en la nueva seda, que no se visualizan en estadios anteriores, si bien en otras especies como *Penaeus californiensis* y *P. stylirostris* el desarrollo de bárbulas corresponde al estadio  $D_1$ " (Huner y Colvin, 1979). El otro rasgo que define al estadio  $D_2$  es la aparición de las capas preexuviales (epicutícula y exocutícula) que se visualizan como una línea paralela a la epidermis, tal como sucede en la mayoría de las especies de Decápodos (Vranck y Durliat, 1978).

En los ejemplares analizados no fue posible determinar las diferencias entre los estadios  $D_3$  y  $D_4$ ; para ello debería recurrirse a métodos histológicos, empleados comúnmente para especies de mayor calcificación (Drach y Tchernigovtzeff, 1967; Stevenson, 1968; Aiken, 1973). El estadio  $D_4$  corresponde al inicio de la abertura de las líneas exuviales; para algunos autores esta etapa correspondería al estadio E (Van Herp y Bellon-Humbert, 1978) aunque en este estudio se define al último estadio (E) como el momento del abandono del viejo exoesqueleto, es decir, la ecdisis propiamente dicha.

Finalmente, respecto a la setogénesis debe mencionarse que en todos los ejemplares estudiados se advirtió que no es sincrónica en los distintos apéndices (escafoceritos, pleópodos y urópodos) y que aún en un mismo apéndice presenta un gradiente. En el caso de *A. longianalis* y en particular en los urópodos, la formación de las nuevas sedas se inicia en los bordes laterales, progresando hacia el ápice. Un comportamiento similar fue obser-

vado por Reaka (1975) en Estomatópodos, Van Herp y Bellon-Humbert (1978) en *Astacus leptodactylus* y Longmuir (1983) en *Penaeus merguensis*.

#### 4.2 Duración de los estadios

La duración de cada estadio de muda comparado con el ciclo de muda total conforma en *A. longinarius* un patrón típicamente diecdísico, en el cual el período de postmuda es mucho más corto que el de la premuda. El ciclo de muda total para los ejemplares mantenidos en laboratorio varía entre 14 y 21 días, de los cuales la postmuda ocupa el 15%, la intermuda (C) el 25-30 % y la premuda (D) el 50-60% de ese lapso. Estos resultados son similares a los obtenidos por otros autores en distintas especies de Natantia (Passano, 1960), Processidae (Scheer, 1960) y en particular en peneidos con ciclos de muda de aproximadamente la misma duración como: en *Penaeus duorarum* (Schafer, 1968), en *Penaeus esculentus* (Smith y Dall, 1985) y en *Pleoticus muelleri* (Diaz y Petriella, en prensa), o con ciclos más breves (12-14 días) como *P. stylirostris* y *P. setiferus* (Robertson et al., 1987). Difieren, en cambio, con lo presentado por Huner y Colvin (1979) para *Penaeus californiensis* y *P. stylirostris*. Estos autores describen un patrón diecdísico del ciclo, en el cual el estadio  $D_1$  es más breve que el  $D_0$  afirmando que la duración decrece a medida que se acerca la ecdisis. Por otra parte mencionan que este comportamiento es común a todos los Crustáceos, citando a Passano (1960). Cabe destacar que este autor establece la duración de los estadios en Natantia, indicando que la duración relativa decrece en los subestadios del estadio  $D_1$ , aunque no con relación al  $D_0$ .

Respecto a la duración de los estadios calculada a partir de datos de muestreo, su análisis demuestra la concordancia con los resultados obtenidos en laboratorio.

Debe aclararse que la época de realización de los muestreos se eligió de modo que la temperatura del agua coincidiera con el rango de la empleada durante la experimentación y en un momento del ciclo de vida en que la maduración gonadal no interfiriera con el proceso de muda.

De lo expuesto precedentemente y en relación al reconocimiento de los estadios del ciclo y su duración, puede concluirse que:

- El reconocimiento de los estadios del ciclo de muda de *A. longinaris* puede realizarse mediante la observación directa de los cambios operados en los urópodos. En estos apéndices la visualización es mejor que en otros tales como los pleópodos o escafoceritos.

- El proceso de la setogénesis concuerda con lo descrito para otros grupos de Crustáceos y en particular para Peneidos.

- Este procedimiento permite determinar cinco estadios (A, B, C, D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>) y nueve subestadios (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub><sup>'</sup>, D<sub>1</sub><sup>''</sup>, D<sub>1</sub><sup>'''</sup> y D<sub>2</sub>). No fue posible reconocer los estadios D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub>.

- No se detectaron cambios en la consistencia del tegumento ni de pigmentación a través del ciclo.

- La intermuda dura, en promedio, 17-18 días.

- La duración relativa de cada estadio demostró un patrón diecdisico con una postmuda breve (1-2 días) y una premuda mucho más extensa, donde el estadio D<sub>1</sub> (setogénesis propiamente dicha) es el más largo.

- La concordancia entre la duración de cada estadio determinada en condiciones de laboratorio y la calculada a partir de muestras poblacionales, indicaría que el confinamiento no altera el proceso de muda de los individuos en estudio.

- La técnica empleada permite trabajar con animales vivos, ya que el manipuleo no afectaría la muda siguiente.

#### 4.3 Cambios tegumentarios

Este estudio se realizó sobre la base de observaciones del tegumento de ejemplares adultos, considerando como tegumento las diferentes capas de la envoltura quitinosa (cutícula) más los tejidos subyacentes que le dan origen.

En los párrafos siguientes se discutirán las modificaciones que acontecen durante un ciclo completo, es decir, entre dos ecdisis sucesivas, con vistas a una interpretación dinámica de los procesos que ocurren en las distintas estructuras involucradas. Es por ello que se optó por describir los cambios a nivel de cada uno de los principales componentes (epitelio, cutícula y conjuntivo).

El primero de los tejidos considerados es la epidermis. En *A. longinarius*, como en el resto de los Crustáceos, está constituida por una sola capa de células que asientan sobre una membrana basal.

En el primer estadio de la postmuda (A), se presenta algo hipertrofiada y con signos evidentes de procesos de síntesis, visualizándose, por zonas, citoplasmas apicales vacuolizados, que indicarían una actividad secretora. Este mismo aspecto tiene en este estadio, la epidermis de *Orconectes limosus* (Keller y Adelung, 1970) y *Penaeus esculentus* (Smith y Dall, 1985).

En la postmuda tardía (B) no hay grandes diferencias en la morfología celular, aunque el epitelio es más bajo y cúbico, coincidiendo con lo observado en *P. esculentus* (op. cit.). En el resto de la bibliografía consultada no se mencionan modificaciones para este estadio, respecto al anterior.

A medida que progresa el ciclo, ya en la intermuda (C) se advierten cambios en la morfología celular que indican diferente actividad. Así, en *A. longinarius* el epitelio es prismático, con numerosos elementos secretantes, vacuolados. El rasgo más llamativo es la estructuración netamente fibrilar formada por el gran

desarrollo de las epiteliopibrillas.

La tendencia al crecimiento en sentido axial de las células epiteliales durante las fases finales de la intermuda ha sido mencionada para varias especies de Decápodos, desde el antiguo trabajo de Vitzou (1881) sobre *Astacus fluviatilis*, *Panilurus argus* (Travis, 1955), *Metapeneus mastersii* (Dall, 1965) y *Penaeus esculentus* (Smith y Dall, 1985).

La presencia de las tonofibrillas que recorren las células epidérmicas cobrando continuidad funcional o de líneas de tensión con el estroma del conjuntivo subyacente ha sido también descrita por otros autores: Vitzou (1881) para *Astacus fluviatilis* y *Homarus vulgaris* se refiere a esa particular disposición definiéndola como una columnata. Cantacuzène y Damboviceanu (1932) también para *A. fluviatilis* advierten la aparición de fibrillas densas y paralelas, que formarían canaliculos intracelulares, relacionados con el paso de sustancias secretadas por las células epidérmicas.

Es evidente que los cambios operados en este estadio están claramente vinculados a la capacidad secretante del epitelio, ya que es durante esta etapa que se completa la formación de la cutícula. Sin embargo, por lo que se conoce de la bibliografía, este aspecto dinámico no ha sido estudiado, debiéndose aclarar mediante estudios bioquímicos y microscopía electrónica. En los siguientes estadios ( $D_0$  al  $D_2$ ) se han visualizado en *A. longinarius*, modificaciones mucho más abruptas que indican el fin del ciclo, preanunciando la próxima exuviación.

Así, durante el primer estadio de la muda ( $D_0$ ) el epitelio se mantiene cilíndrico alto y ricamente fibrilar en ciertas zonas, mientras en otras comienza a evidenciar fenómenos de involución. Este mismo aspecto es mencionado para *Astacus fluviatilis* y *Homarus vulgaris* para la "época cercana a la muda" (Vitzou, op. cit.) y para *Gecarcinus lateralis* (Skinner, 1962).

Las mayores diferencias observadas en el caso de *A. longina-*



ris, respecto a lo descrito para especies afines en la bibliografía, se registran para una etapa de transición entre los estadios  $D_0 - D_1$  y para el estadio  $D_1$ : aquí las células epiteliales se presentan ya sea planas con citoplasmas compactos o cúbicas con citoplasmas vacuolados; por zonas el epitelio se halla en vías de desintegración, manifestándose procesos de citólisis y licuefacción.

Esta descripción no concuerda con la que se ha generalizado para los Decápodos, ya que se acepta que hay un crecimiento lineal de las células epidérmicas desde el estadio  $D_0$  al  $D_2$  (Skinner, 1985; Stevenson, 1985), si bien en los trabajos citados no se ha profundizado el estudio del aspecto histológico.

Sin embargo, hay una mención de que un proceso similar al aquí descrito ocurre en *Panilurus argus*: Travis (1955) se refiere a la desintegración de la epidermis interna, diciendo que los núcleos celulares quedan atrapados en lo que parece ser el líquido de la muda. También Keller y Adelung (1970) dicen que en el estadio  $D_1$  del ciclo de *Orconectes limosus* las células pasan de prismáticas a cúbicas, aunque no hablan de desintegración o licuefacción.

En *A. longinaxis*, en el estadio  $D_1$  todos los componentes del tegumento presentan algún signo de atrofia y en el epitelio se notan algunas células menos diferenciadas que serían los futuros elementos de reemplazo.

En el siguiente estadio, la premuda avanzada ( $D_2$ ), se manifiesta una recuperación epitelial: las células son cilíndricas observándose también células vacuolizadas como componentes unicelulares secretantes. Este mismo aspecto, con claros indicios de recuperación celular ha sido descrito para varias especies: Smith y Dall (1985) encuentran que las células epidérmicas de *Penaeus esculentus* alcanzan su máxima dimensión en este estadio; también Vitzou (1881) y Cantacuzène y Damboviceanu (1932) lo indican en sendos trabajos sobre *Astacus fluviatilis*, así como Skinner (1962)

para *Gecarcinus lateralis*.

Estos cambios del tamaño celular durante el estadio  $D_2$  de *A. longinavis* junto con la presencia de numerosas vacuolas dispuestas en la zona apical de las células indicarían una mayor actividad secretora que se manifiesta por la formación del líquido de la muda. Ese líquido, que se observó en ciertas zonas como exudado, contiene las enzimas necesarias para la lisis de las capas cuticulares (Dennell, 1960; Passano, 1960). En este estadio se advierte un decrecimiento del espesor de la cutícula con desaparición de las capas más cercanas a la epidermis, manteniéndose sólo las externas, que constituirán la exuvia. Este comportamiento concuerda totalmente con el descrito por Passano (op. cit.) y generalizado para todos los Crustáceos.

Otro aspecto que debe considerarse es que durante el estudio de los cambios epidérmicos aquí presentado no se observaron figuras mitóticas. Passano (op. cit.) indica que durante la premuda no hay cambios en el número de células y que aparentemente no habría respuesta mitótica a la hormona de la muda, que actuaría en este momento del ciclo. Esta observación se contrapone con la presentada en una revisión más reciente por Stevenson (1985): en la epidermis las divisiones celulares ocurren en un período muy breve de la premuda, después de la apólisis ( $D_0$ ); este fenómeno fue observado en *Palaemon serratus* y *Orconectes sanborni*. Stevenson también menciona el aumento de la tasa de renovación del ARN durante la premuda, citando a *Gecarcinus lateralis* (Skinner, 1962), *Orconectes limosus* (Keller y Adlung, 1970) y *O. obscurus* (Stevenson y Tung, 1971).

Respecto a la estructura cuticular, lo observado en *A. longinavis* se ajusta, en general, a lo descrito para otras especies de Decápodos, aunque en pocos casos, los autores correlacionan las modificaciones que sufren las distintas capas con los estadios del ciclo.

De acuerdo a la descripción ya presentada, después de la

ecdysis (estadio A), la cutícula de *A. longinarius* está formada por cuatro capas, aunque todavía no se ha completado su desarrollo; es por ello que, por zonas, se advierten distintos espesores de la endocutícula y la capa membranosa, como indicio de que aún continúa su secreción.

Si bien se notó una disminución del espesor cuticular total para el siguiente estadio (B), se advirtió un crecimiento relativo de las dos capas anteriormente mencionadas.

Esta secuencia de la síntesis cuticular difiere, en ciertos aspectos, de la presentada por Skinner (1985) para *Gecarcinus lateralis* ya que sitúa la iniciación de la secreción de la endocutícula durante el estadio B, mientras que para *Penaeus esculentus*, Smith y Dall (1985) indican que ésta se inicia en el estadio  $A_2$ . Esto significaría que para *A. longinarius* la formación de esta capa comenzaría en la postmuda pero más tempranamente que en las especies mencionadas.

La deposición de las capas cuticulares continúa durante el estadio C (intermuda) alcanzando su máxima complejidad en el estadio  $D_0$  coincidiendo con lo descrito en los trabajos citados en el párrafo anterior y mostrando que el aumento de espesor está en clara vinculación con la actividad epitelial.

Al promediar el período de la premuda ( $D_1$ ) se manifiesta la acción del líquido de la muda (Passano, 1960), que por la presencia de sus enzimas inicia la resorción de la capa más cercana a las células epidérmicas. Este proceso pudo visualizarse en este estudio por la disminución del espesor total; de las referencias bibliográficas se concluye que ocurre de manera similar en todas las especies estudiadas, según la revisión presentada por Stevenson (1985).

En el estadio sucesivo ( $D_2$ , premuda) se observa la vieja cutícula, delgada, en la que ha sido reabsorbida la mayor parte de la endocutícula y reconociéndose las dos capas más externas: epi

y exocutícula, que no se destruyen, ya que ha sido demostrada su resistencia al líquido de la muda (Stevenson, 1985). Esas dos capas constituyen, al desprenderse, la exuvia.

Al mismo tiempo se inicia la actividad secretante de la epidermis, que resulta en la síntesis de las capas preexuviales de la nueva cutícula (epi y exocutícula); éstas pudieron visualizarse fácilmente entre la antigua cutícula y la epidermis, aunque como una estructura plegada. Skinner (1985) menciona, para *Gecarcinus lateralis*, el comienzo de la síntesis de la epicutícula en el estadio  $D_2$  temprano, mientras que para la exocutícula indica el estadio  $D_2$  avanzado; otros autores (Stevenson, op. cit.) no hacen esta diferencia, quizá porque, como en el caso de *A. longinarius* no hay un criterio morfológico que permita subdividir ese estadio.

A partir de esta etapa se reinicia el ciclo, reconociéndose en la especie estudiada nítidamente la epicutícula formada por dos capas, coincidiendo con lo descrito para *Panílurus argus* (Travis, 1955), *Gecarcinus lateralis* (Skinner, 1962) y *Metapaneus mastersii* (Dall, 1965), por lo cual aparecería como un rasgo general en Decápodos.

De lo expuesto precedentemente se concluye que en *A. longinarius* los cambios a nivel cuticular se ajustan a lo descrito y generalizado para especies afines, si bien desde el punto de vista morfológico, y dado que en algunos estadios sucesivos el número de capas no varía y su espesor depende de otros factores individuales, no se lo considera un buen elemento de reconocimiento de las diferentes etapas del ciclo.

En cuanto al tejido conjuntivo sobre el que se asienta la epidermis, hay menos información bibliográfica.

De las observaciones realizadas en este estudio, se ha visto que en los estadios de la postmuda (A y B) el conjuntivo tiene poco espesor y es una estructura laminar asentada sobre

el plano muscular. Esta configuración coincide con la descrita por Smith y Dall (1985) para *Penaeus esculentus* que indican que el conjuntivo es de tipo laminar y por Dall (1965) para *Metapenaeus mastersii* que lo describe formado por fibras paralelas a la superficie.

En *A. longinaxis* se advierte un aumento de espesor de este tejido a medida que se progresa hacia la intermuda. Es así que al finalizar este estadio (C) está formado por una red de fibras orientadas en todos los planos, pero mayormente paralelas a la epidermis. Aquí también aparecen otras fibras que se ordenan siguiendo la línea de las epiteliofibrillas. Este arreglo ya fue observado por Vitzou (1881) que para *Astacus fluvialtilis* y *Homarus vulgaris*, en un estadio homologable al de la intermuda, se refiere a un conjuntivo bien desarrollado, en el que se reconocen elementos celulares y fibras que corren en todas direcciones. También para *A. fluvialtilis*, Cantacuzène y Damboviceanu (1932) describen un conjuntivo muy denso, con senos sanguíneos evidentes; igualmente, Smith y Dall (op.cit.) para *Penaeus esculentus* dicen que durante la intermuda el conjuntivo alcanza su máximo crecimiento.

Como un rasgo llamativo, debe mencionarse que en este estadio en el conjuntivo de *A. longinaxis* aparecen formaciones parenquimatosas no citadas para otras especies y cuyo origen y función deberán aclararse posteriormente; por su aspecto podría suponerse que son terminaciones neurodérmicas.

La hipertrofia de la trama conjuntiva alcanza en *A. longinaxis* su máxima expresión en el primer estadio de la premuda (D<sub>0</sub>) Lo más destacable es su disposición en dos estratos, uno subepitelial denso y otro más profundo ligado al plano muscular. Esta mayor diferenciación también ha sido observada en *A. fluvialtilis* y *H. vulgaris* (Vitzou, op. cit.): en momentos cercanos a la muda hay un gran crecimiento del conjuntivo y sus fibras se disponen formando el soporte del tejido epitelial ("columnata").

En *A. longinaris*, en el estadio siguiente ( $D_1$ ) la trama conjuntiva sufre grandes modificaciones, que acompañan, aunque retrasadas, los cambios operados en la epidermis. Es así que aparece como una formación laminar, o bien laxa, con escasos elementos celulares y mayor predominio del componente amorfo.

Características similares se mencionan para *A. fluvialticis* (Catancuzène y Damboviceanu, 1932) donde los senos sanguíneos alcanzan el máximo desarrollo, ocupando todo el espesor del conjuntivo. Dall (1965) indica, para la premuda de *Metapenaeus mastersii*, la presencia de amebocitos y presenta una fotomicrografía en que se destaca la estructura areolar de este tejido.

En la premuda avanzada ( $D_2$ ) el tejido conjuntivo del tenumento de *A. longinaris* presenta aspectos diversos: áreas de reabsorción del estado de licuefacción y otras donde retoma las características de la estructura laminar, que luego dará origen a la trama observada en la postmuda temprana (A).

No hay referencias bibliográficas para otras especies sobre el aspecto de este tejido en este estadio.

Cabe aquí mencionar que no se observaron glándulas tegumentales en ningún estadio del ciclo estudiado. Si bien se ha indicado la presencia de distintos tipos de glándulas bajo la epidermis de los crustáceos (Dennell, 1960; Stevenson, 1985), éste no parece ser un rasgo general. Drach (1939) dice que no están ampliamente distribuidas, mientras Dall (op cit.) al describir los cambios tegumentarios de *Metapenaeus mastersii* enfatiza sobre la ausencia tanto de las glándulas como de sus canalículos.

Del análisis efectuado respecto a las transformaciones observadas en las distintas estructuras, se puede expresar sucintamente que el epitelio pasa por las modificaciones inherentes a aquéllas que ocurren en todas las poblaciones celulares y que, con muy escasas excepciones, es la modalidad existente

en todos los epitelios de la escala zoológica: proliferación, crecimiento, alta diferenciación, senectud, muerte y reinicio del ciclo.

También en estos cambios se encuentra involucrada la cutícula, que, sin embargo, no está sujeta a metamorfosis tan severas; de hecho, su eliminación se produce sólo cuando se ha consolidado la reparación del epitelio y modelado el conjuntivo. Este es un claro ejemplo del ajuste con que se cumple la periodicidad de la ecdisis, ya que de estar incluida la cutícula en la reabsorción observada en las otras tramas tisulares, dejaría expuesto al tejido conjuntivo y por ende al medio interno, a la agresión del medio circundante.

Al mismo tiempo llaman la atención las profundas modificaciones que acontecen en los derivados del mesodermo, en cuanto a notables procesos de reabsorción observables a nivel de la trama de reticulina, al rejuvenecimiento periódico a que es sometido este tejido a través de la hipertrofia del componente amorfo y a la interesante observación puntual de la reabsorción de algunos fascículos miocelulares, fenómeno que es mencionado sólo una vez en la bibliografía (Kleinholz y Keller, 1979), en forma muy suscita.

En el tejido conjuntivo se pueden apreciar fundamentalmente cuatro etapas caracterizadas por el incremento de su vascularización y por el aumento de su masa amorfa que coinciden y se relacionan con la etapa de mayor hipertrofia del complejo epitelio-cutícula; esta fase es seguida inmediatamente por una alta diferenciación del estroma reticular, una atrofia del componente amorfo y la simultánea aparición de una formación areolar, epimuscular, significativamente infiltrativa y acompañada a su vez por el paulatino descenso cuticular. La tercera etapa es de reabsorción de toda la estructura, incluyendo la de derivados del mesodermo como músculo y la última de reparación y diferenciación de estructuras, cerrando así el ciclo.

El aumento del estroma conjuntivo es indicador de un estado de "senectud" celular que por otra parte es común a lo que se observa en la evolución de este tejido en grupos animales superiores y que para el caso acompaña el nivel de máxima diferenciación epiteliofibrilar y disminución de la cutícula, también como clara manifestación de la "senectud" de esa trama.

Lo interesante es destacar que tanto la parte forme como amorfa del tejido conjuntivo, la trama epitelial y aún el músculo son asiento de procesos de reabsorción, que si bien son comunes en la dinámica de una población celular, no tiene connotaciones de generalización en lo que se refiere a reabsorción de reticulina, colágeno y menos aún de músculo, aunque para este último tejido se menciona como habitual su lisis en procesos de metamorfosis de insectos (Locke, 1974).

La descripción precedente implica procesos biológicos sumamente interesantes y novedosos que sería importante aclarar en investigaciones posteriores

#### 4 4 Exuviación

La fase activa de la exuviación dura, por lo menos en los casos en que pudo presenciarse, unos 30 segundos. San Feliú (1966) al describir la ecdisis de *Penaeus kerathurus* menciona una fase pasiva previa y una fase activa (exuviación) que dura 8 segundos. Para *P. esculentus*, Wassenberg y Hill (1984) determinaron que la preecdisis dura 18 segundos; Longmuir (1983) observó que todo el proceso de exuviación se cumple en aproximadamente 40 segundos, mientras que en *P. esculentus* (Smith y Dall, 1985) el tiempo empleado es mayor: 60 segundos. Asimismo se ha comprobado que la fase activa tiene mayor duración en especies calcificadas o de gran tamaño: *Pachygrapsus crassipes* (Hiatt, 1948); *Paralichrus argus* (Travis, 1954).

Coincidiendo con lo aseverado por los autores antes cita-



dos la exuviación de *A. longinaxis* se lleva a cabo en horas de la madrugada. Durante el desarrollo de este estudio se comprobó que los camarones permanecen activos antes y después de la muda, sin modificar marcadamente sus hábitos, contrariamente a lo descrito por Elred et al, (1961) para *Penaeus duorarum* y por Wasseberg y Hill (1984) para *P. esculentus*; estos autores observaron que los individuos después de mudar permanecen apoyados sobre un costado sobre el fondo, por un lapso variable de alrededor de 30 minutos; idéntico comportamiento se advierte en *Pleoticus muelleri* (obs. per.).

Respecto a las líneas ecdisiales que permiten la remoción del antiguo exoesqueleto, se determinó que en *A. longinaxis* el cefalotórax es separado del resto de la exuvia de manera similar a lo que ocurre en otras especies de peneidos: *Penaeus mexquensis* (Longmuir, 1983), *P. esculentus* y *P. duorarum* (Wasseberg y Hill, op. cit.), difiriendo del comportamiento que presentan otros grupos de Natantia, en los cuales la separación se efectúa detrás de los ojos: *Panulirus argus* (Travis, 1954), *Palaemonetes varians* (Jefferies, 1964) y *Macrobrachium australiense* (Lee y Fielder, 1982).

En cuanto a la alimentación diaria se pudo definir un patrón similar al de otras especies, es decir un período de ayuno que abarca los últimos estadios de la premuda ( $D_2$ - $D_4$ ) y el primero de la postmuda (A); aunque no se dispone de mucha información relacionada con este aspecto, Chittleborough (1975) presenta un esquema similar para *Panulirus longipes* con el que coinciden Brito Perez y Diaz Iglesias (1983) para *Panulirus argus*, aunque el período de ayuno es más extenso, proporcional a la duración de la intermuda. Drach (1944, 1955) menciona este comportamiento para *Palaemon serratus* y lo generaliza para Brachyura, coincidiendo con Hiatt (1948) que en *Pachygrapsus crassipes* determina un ayuno en premuda de 4 a 5 días. Respecto a peneidos, en *Penaeus californiensis* y *P. stultitestrís*, Huner y

Colvin (1979) registraron un período de ayuno previo a la exuviación de 12 a 14 horas y de 6 a 12 horas posteriores, aunque dicen que esos tiempos aumentan para tallas mayores; Wasseberg y Hill (1984) arriban a conclusiones semejantes trabajando con *P. esculentus*. En todos los casos, la falta de movilidad y de alimentación estaría relacionada con la poca consistencia de los apéndices en las fases posteriores a la ecdisis.

Con relación a la predación sobre la propia exuvia, en ningún caso los ejemplares de *A. longinavis* ingirieron el viejo exoesqueleto, en contraposición a lo observado por Lobao y Sawaya (1979) al analizar el comportamiento del carideo *Mactobranchium holthuisi*, que relatan apetito voraz durante la postmuda.

Tampoco se registraron casos de autotomía de miembros durante la ecdisis de *A. longinavis*, mencionado como comportamiento habitual de *Panulirus argus* (Chittleborough, 1975) y varias especies de cangrejos (Skinner y Graham, 1972). La ausencia de predación sobre la exuvia y de autotomía parecería ser un patrón comportamental en peneidos, ya que coincide con lo descrito para las especies del género *Penaeus* ya mencionadas y con las observaciones personales realizadas con *Pleoticus muelleri* y serían indicios de que los animales soportan el cautiverio en muy buenas condiciones.

#### 4.5 Crecimiento

El estudio del crecimiento de *A. longinavis* hasta el momento sólo se había realizado mediante muestreos poblacionales (Boschi, 1969a) o con relación a la nutrición (Fenucci et al., 1983), pero de acuerdo con las conclusiones detalladas en párrafos anteriores se infiere que pueden lograrse datos confiables a partir de ejemplares mantenidos en laboratorio.

Como parámetros de crecimiento se optó por emplear el largo total y el peso. Dado que en esta especie no hay crecimiento alométrico (Boschi, 1969a el largo total permite en individuos vivos, una medición más precisa que la del cefalotórax; el peso es un valor importante ya que se ha demostrado que en Crustáceos puede haber aumento de talla pero sin verdadero crecimiento (Burkenroad, 1951; Bliss y Boyer, 1963). Los datos fueron analizados mediante ecuaciones de regresión propuestas por Kurata (1962) a las que llamó diagrama de Hiatt, que relacionan los valores de postmuda con los de premuda.

Se ha estudiado el crecimiento de algunas especies de crustáceos empleando este método: Forster (1974) para estadios larvales de *Palaeomon serratus*, Hewett (1974) en *Homarus vulgaris*; Lobao y Sawaya (1979) en *Macrobachium helthuisi*; sin embargo, en muy pocos casos fue aplicado en especies de peneidos, con excepción de *P. japonicus* (Choe, 1971).

Mauchline (1977) realizó una revisión de los métodos empleados para el estudio del crecimiento en crustáceos, en particular el presentado por Kurata, concluyendo que el factor de crecimiento (largo o peso) es una constante, por lo menos durante ciertos períodos del ciclo de vida. En algunos casos el valor de la constante cambia, en lo que llama punto de inflexión; ese punto puede estar asociado al cambio larva-juvenil o a la maduración sexual. En cuanto a pruebas estadísticas postula utilizar regresiones logarítmicas aunque al compararlas con las lineales indica que los valores de los coeficientes de correlación no son estadísticamente diferentes; es por ello que en este trabajo se optó por realizar regresiones lineales, no habiéndose observado punto de inflexión, debido seguramente a que todos los ejemplares eran adultos y no estaba próxima la madurez sexual.

Los resultados obtenidos permiten caracterizar el crecimiento de *A. longinaris*, a través del ciclo de muda, para largo to-

tal como geométrico regresivo ( $b = 0.95$ ), es decir que el incremento en talla postmuda decrece con el tamaño premuda un valor similar de  $b$  fue determinado para *P. japonicus* (Choe, 1971). Lidner y Anderson (1956) hallaron este mismo tipo de crecimiento en largo para hembras de *P. setiferus*, pero no para machos, en los que el valor de  $b$  fue de 1.05, por lo que lo definen como geométrico progresivo; sin embargo, estos valores no difieren de los presentados aquí, ya que el número de hembras de *A. longinaris* estudiadas fue mayor que el de machos.

En cuanto al peso, los valores registrados durante este estudio se ajustan a crecimiento de tipo aritmético:  $b < 0.95$  es decir, que el crecimiento postmuda es independiente del peso premuda y permanece constante, por lo menos para el rango de pesos con los que se trabajó. Hay poca información sobre este aspecto en otros peneidos, así Choe (op. cit.) lo describe como "geométrico progresivo moderado", mientras que para especies afines, en *Macrobrachium holthuisi* (Lobao y Sawaya, 1979) aparece como geométrico regresivo; Hewett (1974) para *Homarus vulgaris* presenta un ajuste a una curva potencial y Bennet (1974) encuentra una relación lineal para *Cancer pagurus*.

La diferente modalidad de crecimiento de los ejemplares analizados según el peso o talla se explicaría por el hecho que estas variables se vinculan por un ajuste de tipo potencial; esta relación se demostró en otras especies de peneidos y en particular para la especie aquí estudiada por Boschi (1969a).

Respecto a la duración de la intermuda, la regresión obtenida versus el peso premuda es del tipo potencial positiva, lo cual significa que la frecuencia de muda disminuye a medida que aumenta el peso de los camarones. El aumento del período de intermuda con la edad ha sido mencionado para un sinnúmero de especies de crustáceos relacionándolo con diversos factores internos (metamorfosis, maduración sexual, vitelogénesis) o am-

bientales, en particular temperatura y fotoperíodo, pudiendo nombrarse: *Penaeus setiferus* (Lidner y Anderson, 1956); *P. duorarum* (Iversen e Idyll, 1960; Elred et al., 1961); *P. kerathurus* (San Feliú et al., 1973); *Palaeomon serratus* (Drach, 1955; Richard, 1978); *Neptunus pelagicus* (Raghu Prasad y Tampi, 1954). Este comportamiento ha sido demostrado a través de regresiones en los trabajos citados anteriormente para *P. japonicus*, *Macrobrachium holthuisi* y *Homarus vulgaris*.

Con relación al porcentaje de incremento en peso según el peso inicial, se determinó su ajuste al modelo potencial negativo, que demuestra un menor aumento en biomasa en individuos de mayor edad, coincidiendo con el presentado por Choe (1971) para *P. japonicus*.

De lo expuesto precedentemente se puede concluir que:

- El crecimiento de adultos de *A. longinaris* puede estudiarse a través del ciclo de la muda, en laboratorio.
- La exuviación se realiza durante la noche, según el patrón conocido para otras especies de peneidos. El período de ayuno pre y postmuda dura, aproximadamente, 6 días.
- La frecuencia de muda promedio es de 13 a 21 días, a 19°C.
- La duración de la intermuda disminuye con relación al aumento de edad, según un modelo potencial positivo.
- El crecimiento puede caracterizarse como aritmético para peso y como geométrico regresivo para largo total, lo cual indica crecimiento alométrico (aumento de biomasa en detrimento de aumento en talla).
- El porcentaje de incremento en peso disminuye con la edad, ajustándose a un modelo potencial negativo.
- Se demuestra la similitud de modalidad de exuviación y crecimiento con las observadas en especies afines al género *Penaeus*.

#### 4.6 Influencia del colesterol sobre el ciclo de muda

Como ya se mencionó en la Introducción, la incapacidad para sintetizar colesterol a partir de precursores tales como el acetato o el mevalonato fue demostrada para algunos Artrópodos (Zandee, 1966) y para varios grupos de Crustáceos (Van den Oord, 1964; Zandee, 1967; Whitney, 1969) y en especial, tanto para Peneidos adultos (Teshima y Kanazawa, 1971) como para sus estadios larvales (Teshima et al., 1983).

Esta ausencia de síntesis ha sido vinculada con la incapacidad de los Artrópodos para degradar el colesterol por falta de ácidos biliares (Zandee, 1966); sin embargo, posteriormente se ha constatado una alta eficiencia de asimilación de este compuesto presente en la dieta, por lo menos en dos especies de peneidos: *Penaeus japonicus* (Teshima et al., 1974) y para la especie objeto de este estudio *Artemesia longinaris* (Martínez et al., en prensa).

En cuanto a la influencia del colesterol sobre el proceso de muda del camarón, se debe destacar que el análisis de la bibliografía muestra que, aunque se conocen varios trabajos en los que se relaciona el contenido de colesterol de la dieta con el crecimiento y la supervivencia, existen pocos antecedentes de estudios encaminados a aclarar su vinculación con el ciclo de la muda.

Respecto a la supervivencia, los resultados del primer y segundo experimento muestran que los menores porcentajes, 45 y 39 respectivamente, correspondieron a los camarones alimentados con la dieta de menor contenido de colesterol ( $E_{0.2}$ ), coincidiendo con los resultados logrados para esta misma especie: empleando dietas desgrasadas suplementadas con colesterol y ácidos grasos se determinó la menor supervivencia (30%) con la dieta sin colesterol (Petriella et al., 1984). También para *A. longinaris*, Martínez et al. (op. cit.), usando dietas no desgrasa-

das, obtuvieron los menores valores de supervivencia (25%) con los lotes alimentados con las dietas de 0.4 y 3.7% de colesterol. Para *Penaeus japonicus* se conocen resultados similares: con adultos, Kanazawa et al. (1971) determinaron la menor supervivencia (45-78%) con la dieta sin colesterol y para estadios larvales con esa dieta se alcanzó el 30% de supervivencia (Teshima et al., 1983).

Por otra parte, de los mismos experimentos (1 y 2) se concluye que el porcentaje de supervivencia de *A. longinarius* aumenta a medida que se incrementa el contenido de colesterol de la dieta hasta 2.1%, con el que se logró el 77.5% de supervivencia. Este resultado se ajusta a lo conocido para otras especies: para *Penaeus japonicus* el óptimo determinado por Kanazawa et al. (op. cit.) fue el 1%, mientras que, para la misma especie, posteriormente Deshimaru y Kuroki (1974) indican el 2.1%; para *Carcinus maenas* ese valor se sitúa entre 1.4 y 2.1% (Poniat y Adelung, 1983). En un trabajo anterior con *A. longinarius* el mejor valor de supervivencia (40%) se alcanzó con la dieta de 1.2% de colesterol (Martínez et al., en prensa).

Sin embargo, los resultados del tercer experimento realizado en este estudio, demuestran que sobrepasando el valor de 1.8% de colesterol la supervivencia disminuye, coincidiendo con lo referido en párrafos anteriores respecto a que Martínez et al. (op. cit.) observaron menor supervivencia con la dieta de mayor porcentaje de colesterol (3.7%).

Esta misma respuesta se ha constatado en otras especies: así por ejemplo en *Penaeus japonicus* la supervivencia de los ejemplares alimentados con dieta con 5% de colesterol es menor que la de aquéllos que consumieron dietas con porcentajes entre 0.5 y 1% (Kanazawa et al., op. cit.); debe aclararse que los autores no probaron dietas de valores intermedios.

Este comportamiento se relacionaría con la eficiencia de

asimilación del colesterol ya que se ha comprobado que un mayor porcentaje en la dieta, una vez superado cierto valor, no implica mayor absorción, pudiendo ser un factor de inhibición del crecimiento, como indican Ponat y Adelung (1983) para larvas de *Carcinus maenas*. En el caso de *A. longinarius* el óptimo de asimilación se alcanzó con la dieta de 2.36% (Martínez et al., en prensa). Este mismo comportamiento fue observado por Teshima et al. (1974) quienes trabajando con *Penaeus japonicus* comprobaron que la mayor absorción fue la de las dietas con 0.5-1% de colesterol, respecto a la de 2.5% de ese compuesto.

También debe considerarse que, como se menciona en los párrafos siguientes, las dietas de mayor contenido de colesterol provocan un mayor número de mudas y éste podría ser un factor coadyuvante al aumento de la mortalidad, dado que el momento de la ecdisis es el de mayor vulnerabilidad del ciclo.

Respecto a la tasa de muda, los experimentos fueron diseñados para verificar la influencia del colesterol sobre la duración del período de intermuda, partiendo de la hipótesis de que esta molécula es la precursora de la hormona de la muda; por ello se usaron dietas desgrasadas, evitando así la asimilación de otros esteroides, que podrían haber modificado los resultados.

Esta hipótesis fue corroborada, ya que del análisis de los tres experimentos se concluye que a mayor porcentaje de colesterol, mayor número de mudas, siendo los valores de la tasa de muda 2.08 para la dieta  $E_{0.2}$  y 4.46 para la dieta  $E_{2.1}$ .

Referente a este tema no se dispone de mucha información bibliográfica: Guary et al. (1976) establecieron un valor de tasa de muda de 2.2 para *Penaeus japonicus* alimentados con una dieta desgrasada de 1% de lípidos totales. Castell et al. (1975) trabajando con juveniles de *Homarus americanus* concluyen que con una dieta adicionada con 1% de colesterol se logra



la mayor tasa de muda (3.25) y citan un trabajo anterior en que observaron igual respuesta de ejemplares adultos. Para estadios larvales de *Carcinus maenas* se determinó un período de intermuda más largo para los individuos alimentados con la dieta sin colesterol, aunque la tasa de muda no fue calculada (Ponat y Adelung, 1983).

En los experimentos realizados con *A. longinavis* durante este estudio se observó que, aún con la dieta de menor contenido de colesterol (0.2%) los camarones continuaban mudando; esta respuesta puede explicarse considerando el nivel de colesterol que tienen al comienzo del experimento y que disminuye muy lentamente.

El tercer aspecto estudiado fue el crecimiento, habiéndose analizado tres parámetros relacionados: peso medio final, incremento en peso medio y porcentaje de incremento en peso medio. Los resultados muestran que en cuanto a crecimiento, no hubo diferencias estadísticamente significativas. Los datos disponibles de la bibliografía no son demasiado concluyentes: Deshimaru y Kuroki (1974) trabajando con *Penaeus japonicus* lograron el mejor crecimiento con la dieta adicionada con 2.1% de colesterol; para los estadios larvales de esta especie el óptimo contenido de colesterol fue establecido en el 1% (Teshima et al., 1983). Para juveniles de *Homarus americanus* las referencias bibliográficas se contraponen: así Castell et al. (1975) mencionan un mayor crecimiento con la dieta de 1% de colesterol total, mientras que posteriormente D'Abramo et al. (1984) indican el óptimo como 0.12%, siendo éste el valor más bajo que figura en la bibliografía.

La falta de crecimiento observada en la serie de experimentos presentados en este estudio, puede explicarse ya que las dietas, por ser desgrasadas carecen de los ácidos grasos polinsaturados indispensables para el normal desarrollo y supervivencia de los peneidos, como ha sido demostrado previamente para

*A. longinaris* (Petriella et al., 1984) y para varias especies del género *Penaeus*: *P. indicus* (Guary et al., 1974; Kanazawa et al., 1977 y 1979); *P. setiferus*, *P. aztecus* y *P. duorarum* (Bottino et al., 1980).

Otra causa que debe considerarse es que, como se indicó antes para la supervivencia, varios autores determinaron que superado cierto valor, mayores concentraciones de colesterol no inducen mejor crecimiento: Kanazawa et al. (1971) y Deshima-ru y Kuroki (1974) para *Penaeus japonicus*; Castell et al. (1975) para *Homarus americanus*; Ponat y Adelung (1983) para *Carcinus maenas*.

Algunos autores se refieren a la ausencia de crecimiento como resultado de una acción inhibidora de una alta concentración de colesterol en la dieta. Esta respuesta podría explicarse por dos motivos: el primero, como ya se dijo es la falta de absorción del colesterol una vez superado el valor óptimo para cada especie; el segundo, por el aumento de la tasa de muda. Esta modificación implica un acortamiento del período de intermuda (período c) que como se sabe es, estrictamente, el único momento de crecimiento durante todo el ciclo.

Luego de repetidas observaciones sobre la muda del camarón *A. longinaris* en distintas condiciones ambientales se ha constatado una falta de crecimiento cuando diversos factores como aumento de temperatura y alteración del fotoperíodo determinan un incremento importante de la tasa de muda (obs. per.).

El último aspecto que resta por considerar es el de la experimentación realizada para comprobar las modificaciones de la setogénesis y duración del ciclo por influencia del colesterol; no se dispone de bibliografía relacionada con este tema. En cuanto a la setogénesis, se observó que la diferencia se produce fundamentalmente en la formación de los conos, la cual se ve retrasada, por lo que se pierde la correlación con el

resto de los rasgos morfológicos que definen cada estadio en condiciones normales. Desde este punto de vista la modificación involucra los estadios  $B_1$ ,  $B_2$ , C y  $D_0$ , observándose los conos totalmente formados hacia el final del  $D_1$ . De acuerdo a la hipótesis planteada, los resultados indican que un aumento en el porcentaje de colesterol respecto a la dieta standard, acorta el ciclo de muda. Así, para los camarones alimentados con la dieta  $E_{2.0}$  (que resultó la mejor en cuanto a supervivencia y tasa de muda de los experimentos anteriores), se determinó una duración promedio del ciclo de 11 días, mientras que con la dieta no suplementada con colesterol, el promedio fue de 18 días, lo cual representa un acortamiento del ciclo del 35%.

También se constató que todos los ejemplares mantenidos con la dieta  $E_{2.0}$  se hallaban en premuda (estadios  $D_0$ ,  $D_1$  y  $D_2$ ), en tanto de los alimentados con la dieta E, el 30% se hallaba en postmuda (estadios A y B).

Respecto a la duración de los estadios el diseño del experimento permitió comprobar que el ciclo se acorta a expensas de la duración de los estadios C y  $D_0$ , es decir que la mayor disponibilidad de colesterol afectaría principalmente a la intermuda y la premuda temprana, aunque hasta el momento no se disponga de una explicación para este fenómeno.

Una consecuencia directa de lo anterior es el aumento de la tasa de muda que fue de aproximadamente 2 para el lote de camarones alimentados con la dieta E, mientras que la tasa correspondiente a la dieta  $E_{2.0}$  fue 1.5 veces mayor (3.05).

Los resultados logrados permiten inferir que al igual que en otros Artrópodos y en Crustáceos en particular el colesterol es un nutriente indispensable que promueve el crecimiento y la supervivencia del camarón, habiéndose determinado el valor óptimo cercano al 2% y que superado dicho valor en la dieta no se obtiene mayor eficiencia.

Con relación a la tasa de muda, el empleo de dietas desgrasadas adicionadas con distintos porcentajes de colesterol permite comprobar que la síntesis de las hormonas esteroideas que regulan la muda depende de la presencia de esta molécula precursora.

Desde el punto de vista morfológico, se ha demostrado una alteración de la setogénesis, con acortamiento de la intermuda y la premuda temprana, que implica un aumento en la frecuencia de muda.

## 5. CONCLUSIONES

## 5. CONCLUSIONES

De las observaciones y resultados obtenidos en este estudio se puede concluir que:

El proceso de la setogénesis en *A. longinavis* concuerda con lo descrito para otros grupos de Crustáceos y en particular para peneidos.

La observación de los cambios en los urópodos permitió determinar cinco estadios (A, B, C, D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>) y nueve subestadios (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub>' , D<sub>1</sub>" , D<sub>1</sub>"'" y D<sub>2</sub>). No fue posible reconocer los estadios D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub>. Tampoco se detectaron cambios en la consistencia del tegumento ni de pigmentación durante el ciclo.

En cuanto a la frecuencia de muda, la intermuda dura en promedio 17-18 días, en las condiciones de laboratorio en que se trabajó.

La duración relativa de cada estadio se ajusta a un patrón diecdísico con una postmuda breve (1-2 días) y una premuda mucho más extensa, donde el estadio D<sub>1</sub> (setogénesis propiamente dicha) es el más largo.

La exuviación se realiza durante la noche. La abertura de las líneas exuviales y los movimientos para abandonar el viejo exoesqueleto ocurren de forma similar a lo conocido sobre otras especies del género *Penaeus*. El período de ayuno pre y postmuda dura, en promedio, 6 días.

La observación de los cambios tegumentarios permitió visualizar las importantes transformaciones celulares que ocurren a nivel de las distintas estructuras involucradas (epidermis, cutícula y conjuntivo).

Entre dos mudas sucesivas la epidermis muestra modificaciones en su actividad secretora y cambios en el tamaño celular, con crecimiento axial durante la intermuda. Deben destacarse los procesos de desintegración y citólisis que se observaron durante la premuda (estadio  $D_1$ ) y la posterior recuperación celular.

La cutícula, formada por cuatro capas, cumple un ciclo en su síntesis desde la premuda avanzada (estadio  $D_2$ ) hasta la intermuda (estadios C- $D_0$ ) en que alcanza su máximo espesor. Como carácter diferencial debe mencionarse el inicio de la secreción de la endocutícula en la postmuda temprana (estadio A).

En el tejido conjuntivo se advirtieron profundas modificaciones que se corresponden, aunque desplazadas temporalmente, con las que ocurren en la epidermis. La estructura laminar que se observa en la postmuda (estadio A) se hipertrofia, alcanzando su máximo desarrollo en la premuda temprana (estadio  $D_0$ ). Los procesos posteriores de citólisis involucran este tejido, alcanzando incluso al estrato muscular. No se observaron glándulas tegumentarias en ningún estadio del ciclo.

Los fenómenos de desintegración y recuperación celular, así como ciertas estructuras observadas en estos tejidos, que no se mencionan en la bibliografía referente al tema, deberían aclararse mediante estudios bioquímicos y/o de microscopía electrónica.

Respecto al crecimiento, se concluye que:

- El crecimiento de sub-adultos y adultos de *Artemesia longinaris* puede estudiarse, a través del ciclo de muda, en laboratorio.
- El crecimiento puede caracterizarse como aritmético para peso y como geométrico regresivo para largo total, lo cual indicaría un crecimiento alométrico, con aumento de biomasa en detrimento del aumento de la talla total.

- Se comprobó una disminución de la duración de la intermuda a medida que aumenta la edad, con ajuste a un modelo potencial positivo, al mismo tiempo que disminuye el porcentaje de incremento en peso, según un modelo potencial negativo.

Con referencia a la influencia del colesterol, este estudio permitió comprobar que es un nutriente indispensable que promueve el crecimiento y la supervivencia del camarón, al igual que en otros Artrópodos y en particular Crustáceos.

La relación entre el porcentaje de colesterol de la dieta y el porcentaje de supervivencia se ajusta a un modelo lineal para valores entre 0.2 y 2.1% de colesterol; superado este último valor el ajuste corresponde a un modelo cuadrático, con un valor máximo en 1.8% de colesterol. Con porcentajes mayores no se alcanzó mayor supervivencia.

El empleo de dietas desgrasadas de bajo contenido de colesterol (0.2%) demostró una disminución en la frecuencia de muda, que se manifestó en bajos valores de la tasa de muda, que permiten inferir que la síntesis de la hormona de la muda depende de la molécula precursora en la dieta. Un mayor contenido de colesterol en la dieta aumenta la tasa de muda, que, sin embargo, no se acompaña de aumento de biomasa.

Desde el punto de vista morfológico el mayor contenido de colesterol dietario altera la setogénesis; en particular se observó un retraso en la formación de conos durante los estadios C y D<sub>0</sub>.

También se comprobó que el aumento de la frecuencia de muda (cada 11 días, promedio) se debe fundamentalmente al acortamiento de la intermuda (estadio C) y la premuda temprana.



na ( $D_0$ ). No se constataron diferencias de comportamiento durante el proceso de exuviación.



Dr. Jorge L. Fenucci  
Director de Tesis



Lic. Ana M. Petriella

## 6. BIBLIOGRAFIA

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Abramowitz, R.K. y A.A. Abramowitz. 1940. Molting, growth and survival after eyestalk removal in *Uca pugilator*. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 78: 179-188.
- Adiyodi, K.G. y R.G. Adiyodi. 1970. Endocrine control of reproduction in Decapod Crustacea. Biol. Rev., 45: 121-165.
- Aiken, D.E. 1973. Pro-ecdysis, setal development, and molt prediction in the American lobster (*Homarus americanus*). J. Fish. Res. Board Canada, 30(9): 1377-1344.
- Anderson, S.L.; W.H. Clark y E.S. Chang. 1985. Multiple spawning and molt synchrony in a free spawning shrimp (*Squilla ingentis* Penaeoidea). Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 168: 377-394.
- Angelescu, V. y E.E. Boschi. 1959. Estudio biológico pesquero del langostino de Mar del Plata en conexión con la operación nivel medio. Secret. Marina Serv. Hidrog. Naval, 1017: 1-135.
- Bargman, W. y B. Scharrer. 1951. The site of origin of the hormone of the posterior pituitary. Amer. Sci., 39: 255-259.
- Bellon-Humbert, C. y J. Chaigneau. 1982. Caractères ultrastructuraux de l'organe de Bellonci de la crevette *Palaemon serratus* Pennant. Influence de l'ablation de l'organe X de la medulla externa. Ann. Sci. Nat. Zool., 13 Série (4): 63-76.
- Bellon-Humbert, C.; F. Van Herp; G.E. Strolenberg y J.M. Denuce. 1981. Histological and physiological aspects of the medulla externa X organ, a neurosecretory cell group in the eyestalk of *Palaemon serratus* Pennant (Crustacea, Decapoda, Natantia). Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 160: 11-30.
- Bennett, D.B. 1974. Growth of the edible crab (*Cancer pagurus* L.) of south west England. J. mar. biol. Ass. U.K., 54: 803-823.
- Bliss, D.E. 1951. Metabolic effects of sinus gland or eyestalk removal on the land crab, *Gecarcinus lateralis*. Anat. Rec., 111: 502-503.
- Bliss, D.E. 1953. Endocrine control of metabolism in the land crab, *Gecarcinus lateralis* (Fréminville). I. Differences in the respiratory metabolism of sinus glandless and eyestalkless crabs. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 104: 275-296.
- Bliss, D.E. y J.R. Boyer. 1963. Environmental regulation of growth in the Decapod Crustacean *Gecarcinus lateralis*. Gen. Comp. Endocr., 4: 15-41.
- Bonacic, J.C. 1980. Contribution a l'étude de la biologie du développement chez l'araignée *Pisaura mirabilis* (Clerck 1758). Approche physiologique des phénomènes de mue et de diapause hivernale. Tesis. Académie de Montpellier. Univ. Sci. Tech. Languedoc.
- Boschi, E.E. 1969a. Estudio biológico pesquero del camarón *Artemia longinaria* Bate de Mar del Plata. Bol. Inst. Biol. Mar. (Mar del Plata), 18: 1-47.

- Boschi, E.E. 1969b. Crecimiento, emigración y ecología del camarón comercial *Artemesia longinaris* Bate. FAO Fish. Rep., 57 (3): 833-846.
- Boschi, E.E. 1872. El acuario de agua salada. Contrib. Inst. Biol. Mar. (Mar del Plata), N°220.
- Boschi, E.E. y M. Scelzo. 1969. El desarrollo larval de los Crustáceos Decápodos. Ciencia e Investigación, 25 (6): 146-154.
- Boschi, E.E. y M. Scelzo. 1971. Últimos resultados de las investigaciones sobre los Peneidos comerciales en la Argentina (Marcaciones, campañas exploratorias y cultivos). CARPAS/5/D. Téc. 4: 17 pp.
- Boschi, E.E. y M. Scelzo. 1974. Desarrollo larval y cultivo del camarón comercial de Argentina *Artemesia longinaris* Bate (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). CARPAS /6/74/SE 35: 41 pp.
- Boschi, E.E. y M. Scelzo. 1976. El cultivo de camarones comerciales peneidos en la Argentina y la posibilidad de su producción a mayor escala. FAO; FIR: AQ/CONF/76/E.40.
- Bottino, N.; J. Gennity; M. Lilly; E. Simmons y G. Finne. 1980. Seasonal and nutritional effects on the fatty acids of three species of shrimp *Penaeus setiferus*, *P. aztecus* and *P. duorarum*. Aquaculture, 19: 139-148.
- Bowman, T.E. y L.G. Abele. 1982. Classification of the recent Crustacea. En: The Biology of Crustacea. Vol 1. (D. Bliss, dir.). Academic Press, N.Y., pp 1-27.
- Brito Perez, R. y E. Diaz Iglesia. 1983. Observaciones sobre el consumo de alimento y su efecto sobre el crecimiento en juveniles de langosta *Panulirus argus* en el laboratorio. Rev. Invest. Mar. (La Habana), IV (2): 75-90.
- Brown, F.A. y O. Cunningham. 1939. Influence of the sinus gland of crustaceans on normal viability and ecdysis. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 77: 104-114.
- Burkenroad, M.D. 1951. Measurement of the natural growth rates of Decapod crustaceans. Proc. Gulf Carib. Fish. Inst., 3: 25-26.
- Burse, C.R. y C. Lane. 1971. Ionic and protein concentration changes during the molt cycle of *Penaeus duorarum*. Comp. Biochem. Physiol., 40 (A): 155-162.
- Cantacuzène, J. y A. Damboviceanu. 1932. Modifications cytologiques qui se produisent dans le tégument de l'*Astacus fluviatilis* au moment de la mue. Compt. Rendu Soc. biol., 109: 998-1000.
- Carlisle, D.B. y P.F. Dohrn. 1953. Studies on *Lysmata seticaudata* Risso (Crustacea Decapoda). II. Experimental evidence for a growth -and moult- accelerating factor obtainable from eyestalk. Pubbl. Staz. Zool. Napoli, 24: 69-83.
- Carlisle, D.B. y F.G. Knowles. 1953. Neurohemal organs in crustaceans. Nature, 172: 404.
- Castell, J.D.; E. Mason y J.F. Covey. 1975. Cholesterol requirements of juvenile american lobster (*Homarus americanus*). J. Fish. Res. Board Canada, 32: 1431-1435.

- Cooke, I.M. y R.E. Sullivan. 1982. Hormones and Neurosecretion. En: *The Biology of Crustacea*. Vol. 3. (D. Bliss, dir.), Academic Press, N.Y., pp. 205-290.
- Cnaigneau, J. 1982. L'organe de Bellonci des Crustacés. Historique et état actuel de nos connaissances. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 119 (1): 185-200.
- Chang, E.S. y J.D. O'Connor. 1979. Arthropod Molting Hormones. *Methods of Hormone Radioimmunoassay*: 797-814. Academic Press.
- Chapelle, S. 1977. Lipid composition of tissues of marine crustaceans. *Bioch. System. Ecol.*, 5: 241-248.
- Charniaux-Legendre, H. 1952. Le cycle d'intermue des amphipodes et ses particularités chez les formes terrestres (Talitridae). *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 88: 178-204.
- Chittleborough, R.G. 1975. Environmental factors affecting growth and survival of juvenile Western Rock Lobsters. *Austral. J. Mar. Freshw. Res.*, 26 (2): 177-196.
- Choe, S. 1971. Body increases during molt and molting cycle of the oriental brown shrimp *Penaeus japonicus*. *Mar. Biol.*, 9: 31-37.
- D'Abramo, L.R.; C. Bordner; D. Conklin y N. Baum. 1984. Sterol requirement of juvenile lobsters, *Homarus* sp. *Aquaculture*, 42: 13-25.
- Dall, W. 1965. The physiology of a shrimp *Metapenaeus mastersii*. III. Composition and structure of the integument. *Austral. J. Mar. Freshw. Res.*, 16: 13-23.
- Dalley, R. 1979. Effect of non circadian light cycles on the survival and development of *Penaeus elegans* Rathke reared in laboratory. En: *Cyclic phenomena in marine plants and animals*. (E. Naylor y R.G. Hartnoll, eds.), Pergamon Press, Oxford, (Eng.). pp. 157-164.
- Dalley, R. y H. Bailey. 1981. A new apparatus used to record the locomotory rhythms of laboratory reared prawns and shrimps. *Mar. Ecol.*, 4 (2): 229-234.
- Dennell, R. 1960. Integument and Exoskeleton. En: *Physiology of Crustacea*. Vol I. (T. Waterman, ed.), Academic Press, N.Y., pp. 449-472.
- Deshimaru, O. y K. Kuroki. 1974. Studies on a purified diet for prawn- II. Optimum contents of Cholesterol and Glucosamine in the diet. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 40 (4): 421-424.
- Dexter, B.L. 1981. Setogenesis and molting in planktonic crustaceans. *J. Plankton Res.*, 3 (1): 1-13.
- Diaz, A.C. y A.M. Petriella. En prensa. Determinación de los estadios de intermuda del langostino *Pleoticus muelleri*. *J. Aquaculture in the Tropics* (India).
- Douglass, T.S.; W.E. Connor y D.S. Lin. 1981. The biosynthesis, absorption and origin of cholesterol and plant sterols in the Florida land crab. *J. Lipid Res.*, 22 (6): 961-970.
- Durand, J.B. 1956. Neurosecretory cell types and their secretory activity in the crayfish. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab.*, Woods Hole, 111: 62-76.
- Drach, P. 1939. Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes. *Annls. Inst. océanogr. Múnaco*, 19: 103-391.

- Drach, P. 1944. Etude préliminaire sur le cycle d'intermue et son conditionnement hormonal chez *Leander serratus* (Pennant). Bull. Biol. Fr. Belg., 78: 40-62.
- Drach, P. 1955. Système endocrinien pédonculaire, durée d'intermue et vitellogénèse chez *Leander serratus* (Pennant) Crustacé Décapode. Séance Soc. Biol., 149: 2079-2083.
- Drach, P y C. Tchernigovtzeff. 1967. Sur le méthode de la détermination des stades d'intermue et son application générale aux Crustacés. Vie et Milieu, Ser. A, 18: 595-610.
- Elred, B.; R.M. Ingle; K.D. Woodburn; R.F. Hutton y H. Jones. 1961. Biological observations on the commercial shrimp *Penaeus setiferus* Burkenroad, in Florida waters. Prof. Pap. Ser. N°3, Florida State Board Cons. Mar. Lab.: 1-139.
- Enami, M. 1951. The sources and activities of two chromatophoretic hormones in crabs of the genus *Sesarma*. II. Histology of incretory elements. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 101: 241-258.
- Fenucci, J.L. 1977. Cultivos de especies de crustáceos y moluscos. Reunión sobre Ciencia y Tecnología del mar, Mar del Plata: 213-225.
- Fenucci, J.L y Z. Zein-Eldin. 1979. Evaluation of a squid meal as a protein source in penaeid nutrition. En: Advances in Aquaculture. (T.V. Pillay y W.A. Dill, eds.). Fishing News Books Ltd., Surrey (Eng.). pp. 601-605.
- Fenucci, J.L.; A.M. Petriella y M.I. Muller. 1981. Efectos de la alimentación natural y artificial en el crecimiento del camarón *Artemesia longinaris*. Rev. Lat. Acuic., 10: 10-18.
- Fenucci, J.L.; M.I. Muller y A.M. Petriella. 1983. Estudio sobre el crecimiento del camarón *Artemesia longinaris* alimentado con dietas preparadas. Contrib. INIDEP (Mar del Plata), 424: 1-7.
- Fingerman, M. 1970. Perspectives in Crustacean Endocrinology. Scientia, CV (DCIC-DCC): 1-23.
- Forster, J.R.M. 1974. Further studies on the culture of the prawn *Palaeomon serratus* Pennant, with emphasis on the post-larval stages. Fish. Invest., Lond., 2,26 (6): 1-40.
- Gabe, M. 1953. Sur l'existence chez quelques Crustacés Malacostracés, d'un organe comparable á la glande de mue des Insectes. C. R. Acad. Sci., Paris, 237: 1111-1113.
- Gabe, M. 1966. Neurosecretion. Pergamon Press, Oxford, (Eng.), 872 pp.
- Galois, R. 1980. Le métabolisme des lipides chez *Penaeus japonicus* Bate: teneur en eau et incorporation de lipides dans le tissu au cours du cycle d'intermue. Tethys, 9 (4): 371-377.
- Goad, L.J. 1978. The sterol of marine invertebrates. En: Marine natural products, Chemical and Biological perspectives. Vol. II. (P. J. Scheuer, ed.), Academic Press, N.Y., pp. 75-172.
- Guary, J.C. y A. Kanazawa. 1973. Distribution and fate of exogenous cholesterol during the molting cycle of the prawn, *Penaeus japonicus* Bate. Comp. Biochem. Physiol., 46 (A): 5-10.

- Guary, J.C.; M. Kayama y Y. Murakami. 1974. Lipid class distribution and fatty acids composition of prawn, *Penaeus japonicus* Bate. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 40 (10): 1027-1032.
- Hanson, S. y J. Olley. 1963. Application of the Bligh and Dyer method of lipid extraction to tissue homogenates. Biochem. J., 89: 101.
- Hanström, B. 1931. Neue untersuchungen uber Sinnesorgane und nervensystem der Crustaceen. I. Z. Morph. Oekol. Tiere, 23: 80-236.
- Hanström, B. 1933. Neue untersuchungen uber Sinnesorgane und nervensystem. II. Zool. Jahrb. Abt. Anatomie, 56: 387-520.
- Hartnoll, R.G. 1982. Growth. En: The Biology of Crustacea. Vol. 2. (D. Bliss, dir.), Academic Press, N.Y., pp. 111-185.
- Hewett, C.J. 1974. Growth and moulting in the common lobster (*Homarus vulgaris* Milne-Edwards. J. mar. biol. Ass. U.K., 54: 379-391.
- Hiatt, R.W. 1948. The biology of the lined shore crab, *Pachygrapsus crassipes* Randall. Pacif. Sci., 2: 135-213.
- Hudinaga, M. 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jap. J. Zool., 10 (2): 305-393.
- Hughes, J.T. y G.C. Matthiessen. 1962. Observations on the biology of the American lobster, *Homarus americanus*. Limn. Oceanogr., 7: 414-421.
- Huner, J.V. y L.B. Colvin. 1979. Observations on the molt cycles of two species of juvenile shrimp, *Penaeus californiensis* and *Penaeus stylirostris* (Decapoda: Crustacea). Proc. Nat. Shellfish Assoc., 69: 77-84.
- Iversen, E.S. y C.P. Idyll. 1960. Aspects of the biology of the Tortugas pink shrimp, *Penaeus duorarum*. Trans. Amer. Fish. Soc., 89 (1): 1-8.
- Jefferies, D.J. 1964. The moulting behaviour of *Palaemonetes varians* (Leach) (Decapoda: Palaemonidae). Hydrobiologica, 24: 457-488.
- Jenkin, P.M. y H.E. Hinton. 1966. Apolysis in arthropod moulting cycles. Nature (London), 211: 871.
- Kanazawa, A.; N. Tanaka; S. Teshima y K. Kashiwada. 1971. Nutritional requirements of prawn. II. Requirement for sterols. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 37 (3): 211-215.
- Kanazawa, A.; S. Teshima; Y. Sakamoto y J.C. Guary. 1976. The variation of lipids and cholesterol contents in the tissues of prawn, *Penaeus japonicus*, during the molting cycle. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42 (9): 1003-1007.
- Kanazawa, A.; S. Teshima y S. Tokiwa. 1977. Nutritional requirements of prawn. VII. Effect of dietary lipids on growth. Jap. Soc. Sci. Fish., 43 (5): 1111-1114.
- Kanazawa, A.; S. Teshima y M. Endo. 1979. Requirements of prawn, *Penaeus japonicus*, for essential fatty acids. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ., 28: 27-33.

- Kleinholz, L.H. 1947. A method for removal of the sinus gland from the eyestalk of crustaceans. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole*, 93: 52-55.
- Kleinholz, L.H. 1985. Biochemistry of Crustacean Hormones. En: *The Biology of Crustacea*. Vol. 9. (D. Bliss, dir.), Academic Press, N.Y., pp. 464-522.
- Kleinholz, L.H. y R. Keller. 1979. Endocrine regulation in Crustacea. En: *Hormones and Evolution*. (E.J.W. Barrington, ed.), Academic Press, N.Y., pp. 160-213.
- Krishnakumar, A. y H.A. Schneiderman. 1969. Induction of molting in Crustacea by an insect molting hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 12: 515-518.
- Kurata, H. 1962. Studies on the age and growth of crustacea. *Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab.*, 24: 1-115.
- Kurata, H. 1968. Induction of moulting in a prawn *Penaeus japonicus* by Inokosterone injection. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 34: 909-914.
- Kurup, N.G. 1964. The intermolt cycle of an anomura *Petrolisthes cinetipes* Randall (Crustacea-Decapoda). *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole*, 127: 97-107.
- Lachaise, F.; M. Lagueaux; R. Feyereisen y J.A. Hoffmann. 1976. Métabolisme de l'ecdysone au cours du développement de *Carcinus maenas* (Brachyura, Decapoda). *C. R. Acad. Sci. Ser. D*, 283:943.
- Lee, C.L. y D.R. Fielder. 1982. Maintenance and reproductive behaviour in the freshwater prawn *Macrobrachium australiense* Holthuis (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Austral. J. Mar. Fresw. Res.*, 33: 629-646.
- Lidner, M.J. y W.W. Anderson. 1956. Growth, migrations, spawning and size distribution of shrimp *Penaeus setiferus*. *U.S. Dept. Int. Fish. Wild. Serv. Fish. Bull.*, 106: 555-645.
- Lobao, V.L. y P. Sawaya. 1979. Crescimento e ciclo de muda em *Macrobrachium holthuisi* Genofre e Lobao, 1976 (Crustacea-Decapoda). *B. Inst. Pesca*, 6: 1-16.
- Locke, M. 1974. The structure and formation of the integument in insects. En: *Physiology of Insecta*. Vol. 6. (M. Rockstein, ed.), Academic Press, N.Y., pp. 123-213.
- Lockwood, A.P.M. 1967. *Aspects of the Physiology of Crustacea*. W.H. Freeman, San Francisco, 328 pp.
- Longmuir, E. 1983. Setal development, moult-staging and ecdysis in the banana prawn *Penaeus merguensis*. *Mar. Biol.*, 77: 183-190.
- Lyle, W.G. y C.D. Macdonald. 1983. Molt stage determination in the hawaiian spiny lobster *Panulirus marginatus*. *J. Crust. Biol.*, 3 (2): 208-216.
- Marshall, N. 1945. The molting without growth of spiny lobsters, *Panulirus argus*, kept in a live car. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 75: 267-269.
- Martinez, P.; A. Casal de Fenucci y J.L. Fenucci. En prensa. Dietary cholesterol influence on the growth and survival of the argentine prawn *Artemesia longinaris* Bate. *J. Aquaculture in the Tropics (India)*.



- Martoja, R. y M.P. Martoja. 1970. Técnicas de Histología Animal. Toray Masson, Barcelona, 350 pp.
- Matsumoto, K. 1954. Neurosecretion in the thoracic ganglion of the crab *Eriocheir japonicus*. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 106: 60-68.
- Matsumoto, K. 1962. Experimental studies of the neurosecretory activities of the thoracic ganglion of a crab, *Hemigrapsus*. Gen. Comp. Endocrinol., 2: 4-11.
- Mauchline, J. 1976. The Hiatt growth diagram for Crustacea. Mar. Biol., 35: 79-84.
- Mauchline, J. 1977. Growths of shrimps, crabs and lobsters - an assessment. J. Const. int. Explor. Mer, 37 (2): 162-169.
- Meyers, S.P. y Z.Zein-Eldin. 1972. Binders and pellet stability in development of crustacean diets. Proc. World Maricult. Soc., 3: 351-364.
- Meyers, S.P.; D. Butler y W. Hastings. 1972. Alginates as binders for crustacean rations. Prog. Fish. Cult., 34: 9-12.
- Moreno, V.J. y J.E. Aizpún. 1969. Manual de métodos de análisis de harina de pescado. I. Métodos Químicos. CARPAS/ Oc. Documentos Ocasionales, Rio de Janeiro, 12: 1-25.
- Nakamura, K. 1978. Studies on the neurosecretion of the Prawn, *Penaeus japonicus* B.- XII. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., 27 (1): 1-7.
- Olmstead, J.M. y J.P. Baumberger. 1923. Form and growth of grapsoid crabs. A comparison of the form of three species of grapsoid crabs and their growth at moulting. J. Morphol., 38: 279-294.
- Passano, L.M. 1951a. The X organ sinus gland neurosecretory system in crabs. Anat. Rec., 111: 502-503.
- Passano, L.M. 1951b. The X organ, a neurosecretory gland controlling molting in crabs. Anat. Rec., 111: 559.
- Passano, L.M. 1953. Neurosecretory control of Molting in crabs by the X organ-sinus gland Complex. Physiol. Comp. Oecol., 3: 155-189.
- Passano, L.M. 1960. Molting and its control. En: Physiology of Crustacea. Vol. I. (T. Waterman, ed.). Academic Press, N.Y., pp. 473-536.
- Pearse, A.G.E. 1968. Histochemistry. Vol. 1. Churchill Livingstone, London, 759 pp.
- Peebles, J.B. 1977. A rapid technique for molt staging in live *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 12 (2): 173-180.
- Petriella, A.M. 1984. Estudio del ciclo de la muda del camarón *Artemesia longinaris* Bate. I. Setogénesis. Physis (Buenos Aires), Secc. A, 42 (103): 93-100.
- Petriella, A.M.; M.I. Muller; J.L. Fenucci y M.B. Saez. 1984. Influence of dietary fatty acids and cholesterol on the growth and survival of the argentine prawn *Artemesia longinaris* Bate. Aquaculture, 37: 11-20.

- Ponat, A. y D. Adelung. 1983. Studies to establish an optimal diet for *Carcinus maenas*. 3. Vitamin and quantitative lipid requirements. Mar. Biol., 74 (3): 275-280.
- Raghu Prasad, R. y P.R. Tampi. 1954. Some aspects of relative growth in the blue crab *Neptunus pelagicus* (L.). Proc. Nat. Inst. Sci. India, XX (2): 118-134.
- Reaka, M.L. 1975. Molting in stomatopod crustaceans. I. Stages of the molt cycle and morphology. J. Morph., 146: 55-80.
- Richard, P. 1978. Influence de la température sur la croissance et la mue de  *Palaemon serratus* en fonction de leur taille. Aquaculture, 14: 13-22.
- Robertson, L.; W. Bray; J. Leung-Trujillo y A.L. Lawrence. 1987. Practical Molt Staging of penaeid shrimp. World Mar. Soc. Meeting, Ecuador, 1987.
- San Feliu, J.M. 1966. Observaciones sobre la muda y el crecimiento del langostino *Penaeus kerathurus* (Forskäl, 1775) en acuario. Invest. Pesq., 30: 685-705.
- San Feliu, J.M.; F. Muñoz y M. Alcaraz. 1973. Técnicas de cría artificial de crustáceos. Invest. Pesq., 37: 557-576.
- Sardá, F. 1983. Determinación de los estados de intermuda en *Nephrops norvegicus* (L.), mediante la observación de los pleópodos. Invest. Pesq., 47: 95-112.
- Sardá, F. 1985. Estudio de la edad, crecimiento y frecuencia de muda en cautividad, de *Nephrops norvegicus* (L.) del mar catalán. Invest. Pesq., 49: 139-154.
- Schafer, H.J. 1968. The determination of some stages of the molting cycle of *Penaeus duorarum*, by microscopic examination of the setae of the endopodites of pleopods. FAO Fish. Rep., 57 (2): 381-391.
- Scharrer, B. y E. Scharrer. 1944. Neurosecretion. VI. A comparison between the intercerebralis-cardiacum-allatum system of the insects and the hypothalamo-hypophyseal system of the vertebrates. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 87: 242-251.
- Scheer, B.T. 1960. Aspects of the intermolt cycle in natan-tians. Comp. Biochem. Physiol., 1: 3-18.
- Skinner, D.M. 1962. The structure and metabolism of a crustacean integumentary tissue during a molt cycle. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 123: 635-647.
- Skinner, D.M. 1985. Molting and regeneration. En: The Biology of Crustacea. Vol. 9. (D. Bliss, dir.), Academic Press, N.Y., pp. 43-146.
- Skinner, D.M. y D.E. Graham. 1972. Loss of limb as a stimulus to ecdysis in *Brachyura*. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 143: 222-223.
- Smith, R.J. 1940. Studies on the effect of the eyestalk removal upon young crayfish (*Cambarus clarkii* Girard). Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 79: 145-152.
- Smith, D.M. y W. Dall. 1985. Molt staging the tiger prawn. Second Austral. Nat. Prawn Seminar: 85-93.

- Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1969. Biometry. W.h. Freeman y Co. N.Y., 776 pp.
- Spaziani, E. y S.B. Kater. 1973. Uptake and turnover of cholesterol-<sup>14</sup>C in Y-organs of the crab *Hemigrapsus* as a function of the molt cycle. Gen. Comp. Endocr., 20: 534-549.
- Spivak, E. 1987. Estudio sobre la muda y el crecimiento de *Curtograpsus angulatus*. Tesis. Fac. Cs. Exactas y Nat., Univ. Bs. As., 147 pp.
- Stevenson, J.R. 1968. Metecdysial molt staging and changes in the cuticle in the crayfish *Orconectes sanborni* (Faxon). Crustaceana, 14: 169-177.
- Stevenson, J.R. 1985. Dynamics of the Integument. En: The Biology of Crustacea. Vol. 9. (D. Bliss, dir.), Academic Press, N.Y., pp. 2-42.
- Stevenson, J.R. y D.A. Tung. 1971. Inhibition by actinomycin D of the initiation of chitin biosynthesis in the crayfish. Comp. Biochem. Physiol., 39 (B): 559-567.
- Stevenson, J.R.; R.H. Guckert y J.D. Cohen. 1968. Lack of correlation of some proecdysial growth and developmental processes in the crayfish. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 134: 160-175.
- Stewart, J.E. y H.J. Squires. 1968. Adverse conditions as inhibitor for ecdysis in the lobster *Homarus americanus*. J. Fish. Res. Board Canada, 25: 1763-1774.
- Teshima, S. 1981. Sterol metabolism. Proc. Second Int. Conf. Aquaculture Nutrition, 2: 205-216.
- Teshima, S. y A. Kanazawa. 1971. Biosynthesis of sterols in the lobster, *Panulirus japonica*, the prawn, *Penaeus japonicus*, and the crab, *Portunus trituberculatus*. Comp. Biochem. Physiol., 38 (B): 597-602.
- Teshima, S. y A. Kanazawa. 1976. Variation in lipid classes during the molting cycle of a shrimp. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42 (10): 1129-1135.
- Teshima, S.; A. Kanazawa y H. Okamoto. 1974. Absorption of sterols and cholesteryl esters in a prawn, *Penaeus japonicus*. Bull. Jan. Soc. Sci. Fish., 40 (10): 1015-1019.
- Teshima, S.; A. Kanazawa y H. Okamoto. 1976. Sterol biosynthesis from acetate and the fate of dietary cholesterol and demosterol in crabs. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42 (11): 1273-1280.
- Teshima, S.; A. Kanazawa y H. Sasada. 1983. Nutritional value of dietary cholesterol and other sterols to larval prawn *Penaeus japonicus* Bate. Aquaculture, 31: 159-168.
- Tchernigovtzeff, C. 1965. Multiplication cellulaire et régénération au cours du cycle d'intermue des Crustacés Décapodes. Arch. Zool. exp. gén., 106 (3): 377-497.
- Tchernigovtzeff, C. y J. Ragage-Willigens. 1968. Détermination des stades d'intermue chez *Sphaeroma serratum* (Isopode, Flabellifère). Arch. Zool. exp. gén., 109 (2): 305-318.
- Travis, D.F. 1954. The moulting cycle of the spiny lobster, *Panulirus argus* Latreille. I. Moulting and growth in laboratory maintained individuals. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 107: 433-450.

- Travis, D.F. 1955. The moulting cycle of the spiny lobster, *Panulirus argus* Latreille. II. Pre-ecdysial histological and histochemical changes in the hepatopancreas and integumental tissues. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 108: 88-112.
- Van den Oord, A. 1964. The absence of cholesterol synthesis in the crab, *Cancer pagurus* L. Comp. Biochem. Physiol., 13: 461-467.
- Van Herp, F. y C. Bellon-Humbert. 1978. Setal development and molt prediction in the larvae and adults of the crayfish *Astacus leptodactylus* (Nordmann, 1842). Aquaculture, 14: 289-301.
- Vernet, G. 1976. Données actuelles sur le déterminisme de la mue chez les Crustacés. Ann. Biol., XV (3-4): 155-181.
- Vitzou, A.N. 1881. Recherches sur la structure et la formation des téguments chez les Crustacés Décapodes. Arch. Zool. exp. gén., 10: 451-576.
- Vranckx, R. y M. Durliat. 1978. Comparison of the gradient of setal development of uropods and scaphognathites in *Astacus leptodactylus*. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, 155: 627-629.
- Wassenberg, T.J. y B.J. Hill. 1984. Moulting behaviour of the tiger prawn *Penaeus esculentus* (Haswell). Austral. J. Freshw. Res., 35: 561-571.
- Whitney, J.O. 1969. Sterols, fatty acids and sterol content in eggs and hepatopancreas of the blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun). Acta Emb. Exp., 1969: 111-121.
- Zandee, D.I. 1966. Metabolism in the crayfish *Astacus astacus* (L.). III. Absence of cholesterol synthesis. Arch. Inter. Phys. Bioch., 74 (3): 435-441.
- Zandee, D.I. 1967. Absence of cholesterol synthesis as contrasted with the presence of fatty acid synthesis in some arthropods. Comp. Biochem. Physiol., 20: 811-822.

## 7. APENDICE

## 7. APENDICE

### 7.1 Determinación de Humedad

#### Fundamento

Se cubre la muestra con tolueno, que además de ser inmisible, tiene un P.E. ligeramente superior ( $111^{\circ}\text{C}$ ) y un peso específico menor que el agua. El calentamiento a reflujo del conjunto se realiza a temperatura constante (aproximadamente  $111^{\circ}\text{C}$ ), destilando juntos agua y tolueno que condensan en el refrigerante y depositan en la trampa graduada. El agua por su mayor peso específico se ubica en el fondo donde se mide el volumen recogido. La operación es continua ya que el tolueno fluye nuevamente al balón dándose por finalizada la determinación, cuando no se aprecia visualmente variación en el volumen recogido.

#### Reactivos

Tolueno, calidad puro.

#### Procedimiento

Pesar al mg 30-50 g de dieta, pasándola a un balón de destilación y cubrir completamente con tolueno.

Calentar suavemente al principio, hasta destilar casi toda el agua (a razón de 2 gotas por segundo). Luego aumentar a razón de 4 gotas por segundo hasta que no destile más agua. Lavar el condensador con unos ml de tolueno primero, luego con el cepillo humedecido con tolueno y finalmente con tolueno solo. Continuar calentando durante 5 minutos más, para comprobar que no destila más agua. En caso contrario repetir nuevamente el lavado. Dejar enfriar el tubo colector a temperatura ambiente y calcular el porcentaje de agua suponiendo su densidad igual a la unidad.

Cálculo

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{volumen leído} \times 100}{\text{g de muestra}}$$

7.2 Determinación de Nitrógeno y Proteína cruda

El método adoptado es el macro-Kjeldahl con las modificaciones introducidas por Perrin. De las varias mezclas digestoras sugeridas por este autor, se eligió la empleada específicamente por Stander.

Para la conversión de nitrógeno a proteína se usa convencionalmente el factor 6.25; este proviene de suponer que 100 g de proteína contienen 16 g de nitrógeno.

Fundamento

El método se basa en la conversión del nitrógeno presente a sulfato de amonio por acción del ácido sulfúrico, en presencia de sulfato de potasio, para aumentar la temperatura de ebullición y un catalizador de mercurio. Después de precipitar el mercurio con tiosulfato de sodio, se alcaliniza con hidróxido de sodio, se destila el amoníaco producido y recoge en un exceso de solución valorada de ácido clorhídrico. El ácido que no ha sido neutralizado por el amoníaco es titulado por retorno.

Reactivos

- i) Óxido mercuríco rojo o amarillo.
- ii) Sulfato de potasio.
- iii) Acido sulfúrico concentrado.
- iv) Solución de tiosulfato de sodio (80 g de tiosulfato de sodio pentahidratado en 1 l de agua destilada).
- v) Solución de hidróxido de sodio concentrada (450 g en 1 l de agua destilada).
- vi) Solución valorada de ácido clorhídrico 0.3N (26.7 ml HCl (35-37%) p.a. a 1 l de agua destilada).

- vii) Indicador mezcla: 125 mg de rojo de metilo y 82.5 mg de azul de metileno en 100 ml de etanol al 90%.
- viii) Indicador de fenoftaleina: 1 g de fenoftaleina en 100 ml alcohol 95%; diluir con agua destilada a 200 ml.

### 7.3 Determinación de Lípidos totales

#### Fundamento

En una primera extracción se homogeniza la dieta con cloroformo, metanol y agua formando un sistema monofásico. El agregado de más cloroformo y agua y nuevas homogenizaciones provocan la separación de dos fases. Los lípidos quedan confinados en la fase clorofórmica y las impurezas no lipídicas en la fase metanol-agua. Por centrifugación se aclaran previamente las fases, para luego tomar una alícuota que se evapora en atmósfera de nitrógeno y se pesa.

#### Reactivos

- i) Cloroformo, calidad para análisis.
- ii) Metanol, calidad para análisis.
- iii) Nitrógeno, calidad N2 o superior.

#### Procedimiento

Pesar una muestra de 2 g de dieta al mg, transferirla a un vaso del homogenizador, agregar 16 ml de agua, 40 ml de metanol y 20 ml de cloroformo. Homogenizar durante 2 minutos. Agregar 20 ml de cloroformo y 20 ml de agua más, con homogenizados de 30 segundos de duración después de cada agregado. Centrifugar durante 20 minutos a 2.000 rpm. Sacar una alícuota de la fase inferior clorofórmica, de 25 ml. Transferir la alícuota a un baloncito evaporador previamente tarado y llevar a sequedad en baño de agua a 60° en atmósfera de nitrógeno. Pesar.



#### 7.4 Determinación de cenizas

##### Fundamento

Se carboniza primero una porción de harina a fuego suave. Luego se calcina en mufla regulada entre 500° y 550° para evitar pérdidas ya que, el carbonato de calcio se disocia a 550° y los cloruros se volatilizan por encima de 600°.

##### Procedimiento

Pesar al mg en un crisol tarado, 3 g de dieta y carbonizar con la llama suave de un mechero sin que se produzca llama en el interior del crisol. Transferir luego a una mufla regulada a 525° aproximadamente y dejar hasta que las cenizas presenten un color blanco-grisáceo. Dejar enfriar en desecador, humedecer con agua, secar a 100° y volver a calcinar en la mufla hasta peso constante.

##### Cálculo

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{(\text{peso del crisol} + \text{cenizas}) - (\text{tara del crisol})}{\text{peso de la harina}} \times 100$$

#### 7.5 Determinación de colesterol

##### Proceso de extracción

Las muestras de dietas artificiales fueron pesadas y molidas en mortero. El preparado así obtenido fue extraído con etanol a temperatura ambiente y agitación durante 24 horas. El sólido fue filtrado y reextraído con acetato de etilo 3 veces. El extracto etanólico fue llevado a seco, resuspendido en los extractos reunidos de acetato de etilo, lavados con agua, secados con sulfato de magnesio y llevados a sequedad. El residuo obtenido fue pesado para obtener la masa total de extracción. Dicha masa fue disuelta en una cantidad de cloroformo tal que diera una concentración

aproximada de 0.40 mg extracto/ $\mu$ l de solución.

#### Cuantificación por cromatografía gaseosa

La cromatografía gaseosa fue efectuada en un cromatógrafo Hewlett-Packard 5840A equipado con detector de ionización de llama y una columna capilar de sílica fundida (12 m x 0.2 mm) cubierta con metil silicona Hewlett-Packard. El gas portador fue nitrógeno y los análisis fueron efectuados entre 200 y 280° a 10°C/min. Se utilizó como standard interno para la cuantificación 5 $\alpha$ -colestano. Se comenzó por construir una curva de calibración preparando diferentes soluciones valoradas de 5 $\alpha$ -colestano y distintas concentraciones de colesterol. La medición de las áreas relativas fue efectuada por el sistema computarizado del cromatógrafo. Se calculó el factor de respuesta del equipo. Se inyectaron luego las soluciones obtenidas para las muestras a las cuales se les agregó una cantidad conocida del standard interno. Mediante el cálculo de las áreas relativas y el uso de la curva patrón se pudo calcular la cantidad de esteroides expresados como colesterol en el volumen inyectado. De acuerdo a ello se pudo calcular cuanto había en el volumen total de dilución. Dicha cantidad era la cantidad contenida en el extracto total y por lo tanto en la masa pesada originalmente; dividiendo por la masa de partida se pudo obtener la cantidad de esteroides por unidad de masa.

Ejemplar	$w_i$ (g)	$w_f$ (g)	$\% \Delta w$ (g)	d	$L_i$ (mm)	$L_f$ (mm)	sexo
1	0.60	0.72	20	13	49	54	♂
2	0.61	0.77	26.20	13	50	55	♀
3	0.75	1.21	61.33	14	60	63	♂
4	0.82	1.12	36.58	16	60	62	♀
5	1.00	1.75	75.00	16	67	70	♀
6	1.04	1.52	46.15	15	68	72	♂
7	1.13	1.30	15.04	15	74	77	♀
8	1.18	1.53	29.66	16	70	73	♀
9	1.21	1.53	26.44	14	70	72	♂
10	1.30	1.54	18.46	15	75	79	♂
11	1.83	1.89	3.27	14	80	82	♀
12	2.00	2.21	10.50	14	77	83	♀
13	2.10	2.17	3.33	14	79	86	♀
14	2.18	2.21	1.37	16	79	82	♀
15	2.67	3.18	19.10	16	84	86	♀
16	2.70	2.74	1.48	20	84	84	♀
17	2.75	2.82	2.54	17	85	88	♂
18	2.98	3.16	6.06	16	94	97	♂
19	3.17	3.22	1.57	16	94	95	♂
20	3.52	3.81	8.23	17	95	96	♀
21	3.58	3.77	5.30	18	102	102	♀
22	3.60	3.64	1.11	23	102	104	♂
23	3.77	3.91	3.71	18	104	107	♀
24	3.86	3.92	1.55	19	106	106	♀
25	4.37	4.92	1.02	21	105	106	♀
26	4.90	5.00	2.04	21	106	104	♀
27	5.15	5.22	1.35	22	112	112	♀
28	5.35	5.43	1.49	21	114	115	♀
29	6.14	6.23	1.46	22	120	120	♀
30	6.20	6.28	1.29	22	120	121	♀

Tabla I. Crecimiento en laboratorio de A. longinaris.

Peso pre y postmuda ( $w_i$  y  $w_f$ ); porcentaje de incremento en peso ( $\% \Delta w$ ); número de días de intermuda (d); largo total pre y postmuda ( $L_i$  y  $L_f$ ) y sexo.

N <sup>o</sup>	Peso	Estadio	Sexo	N <sup>o</sup>	Peso	Estadio	Sexo
1	1.19	C	♀	23	1.08	D <sub>2</sub>	♂
2	1.42	B	♂	24	2.00	D <sub>2</sub>	♀
3	3.29	D <sub>0</sub>	♂	25	1.85	D <sub>0</sub>	♂
4	4.43	D <sub>1</sub>	♀	26	0.69	-	♀
5	1.19	D <sub>1</sub>	♀	27	2.18	C	♂
6	2.62	C	♂	28	0.53	D <sub>1</sub>	♂
7	1.01	D <sub>0</sub>	♀	29	2.39	B	♀
8	0.51	-	♀	30	1.24	A	♂
9	2.58	D <sub>2</sub>	♀	31	0.77	A	♂
10	1.85	C	♂	32	2.83	B	♀
11	1.35	C	♂	33	1.91	D <sub>1</sub>	♂
12	0.95	D <sub>0</sub>	♂	34	7.09	B	♀
13	1.12	D <sub>0</sub>	♂	35	0.95	D <sub>1</sub>	♂
14	1.73	C	♂	36	0.71	A	♀
15	1.11	D <sub>0</sub>	♂	37	1.23	C	♂
16	2.85	B	♀	38	2.46	B	♀
17	1.51	-	♀	39	2.02	C	♀
18	1.51	D <sub>1</sub>	♀	40	1.46	C	♂
19	0.97	D <sub>2</sub>	♀	41	0.97	A	♂
20	3.85	D <sub>1</sub>	♀	42	2.67	D <sub>0</sub>	♀
21	0.90	D <sub>2</sub>	♀	43	2.00	D <sub>1</sub>	♀
22	0.62	D <sub>2</sub>	♂	44	3.04	D <sub>1</sub>	♀

Tabla II. Determinación de estadios de intermuda de camarones provenientes de captura. Mayo de 1984. (-): estadio no reconocible.

N°	Peso	Estadio	Sexo	N°	Peso	Estadio	Sexo
45	4.00	D <sub>0</sub>	♀	67	1.09	A	♂
46	1.64	C	♂	68	1.23	B	♂
47	1.40	A	♀	69	2.05	D <sub>1</sub>	♀
48	1.09	A	♀	70	3.09	A	♀
49	2.00	D <sub>0</sub>	♂	71	2.16	D <sub>1</sub>	♂
50	4.67	C	♀	72	1.04	D <sub>1</sub>	♂
51	2.07	D <sub>0</sub>	♀	73	0.97	C	♂
52	1.53	C	♂	74	0.64	C	♂
53	1.61	-	♀	75	1.08	D <sub>1</sub>	♀
54	2.70	D <sub>1</sub>	♀	76	2.46	D <sub>1</sub>	♀
55	5.51	D <sub>1</sub>	♀	77	2.01	D <sub>0</sub>	♂
56	2.86	D <sub>0</sub>	♀	78	3.27	D <sub>1</sub>	♀
57	2.43	D <sub>1</sub>	♂	79	1.62	D <sub>1</sub>	♂
58	1.70	C	♂	80	1.00	C	♂
59	2.07	D <sub>0</sub>	♀	81	2.01	D <sub>0</sub>	♀
60	1.64	A	♀	82	1.68	D <sub>0</sub>	♀
61	2.87	D <sub>1</sub>	♀	83	3.27	D <sub>1</sub>	♀
62	1.08	B	♂	84	0.88	D <sub>1</sub>	♂
63	1.34	C	♂	85	1.26	D <sub>1</sub>	♀
64	1.09	C	♀	86	2.08	D <sub>1</sub>	♀
65	2.02	A	♀	87	0.92	D <sub>1</sub>	♂
66	3.80	D <sub>0</sub>	♀	88	3.42	D <sub>1</sub>	♀

Tabla II. (continuación)

N°	Peso	Estadio	Sexo	N°	Peso	Estadio	Sexo
1	2.02	C	♀	23	1.44	D <sub>2</sub>	♀
2	1.32	D <sub>0</sub>	♀	24	1.02	D <sub>0</sub>	♀
3	0.98	A	♂	25	2.01	D <sub>1</sub>	♀
4	1.02	D <sub>0</sub>	♀	26	1.06	D <sub>1</sub>	♂
5	1.18	B	♀	27	1.04	C	♀
6	0.88	D <sub>1</sub>	♂	28	1.82	D <sub>1</sub>	♀
7	1.75	D <sub>1</sub>	♀	29	0.60	A	♂
8	0.97	D <sub>2</sub>	♂	30	0.93	D <sub>1</sub>	♂
9	1.01	D <sub>2</sub>	♂	31	0.89	B	♀
10	1.27	D <sub>1</sub>	♀	32	1.08	D <sub>1</sub>	♀
11	1.26	C	♀	33	1.08	C	♀
12	2.04	D <sub>1</sub>	♀	34	0.71	D <sub>0</sub>	♀
13	1.04	C	♂	35	1.67	D <sub>1</sub>	♀
14	0.68	D <sub>2</sub>	♀	36	0.65	C	♂
15	1.22	D <sub>1</sub>	♀	37	1.34	D <sub>1</sub>	♀
16	1.55	B	♀	38	2.04	C	♀
17	1.04	A	♂	39	1.46	D <sub>1</sub>	♀
18	1.43	D <sub>1</sub>	♂	40	0.62	B	♂
19	0.92	D <sub>2</sub>	♀	41	0.87	D <sub>1</sub>	♂
20	1.37	D <sub>1</sub>	♀	42	1.01	B	♀
21	1.30	C	♀	43	0.91	D <sub>1</sub>	♂
22	0.67	D <sub>0</sub>	♀	44	1.24	D <sub>1</sub>	♀

Tabla III. Determinación de estadios de internuda de camarones provenientes de captura. Mayo 1985.

N°	Peso	Estadio	Sexo
45	1.34	C	♀
46	1.06	D <sub>1</sub>	♀
47	1.66	A	♀
48	1.02	D <sub>0</sub>	♂
49	1.68	D <sub>0</sub>	♀
50	0.93	D <sub>0</sub>	♂
51	2.42	C	♀
52	1.68	D <sub>0</sub>	♀
53	1.24	D <sub>0</sub>	♀
54	1.46	A	♀
55	1.21	A	♂
56	1.51	D <sub>1</sub>	♀
57	1.56	C	♀
58	0.97	D <sub>1</sub>	♂
59	1.33	D <sub>1</sub>	♀
60	2.08	C	♀
61	2.66	D <sub>1</sub>	♀
62	1.30	D <sub>0</sub>	♀
63	0.92	D <sub>1</sub>	♀
64	0.88	D <sub>1</sub>	♂
65	1.23	A	♂
66	2.17	D <sub>1</sub>	♀
67	2.22	D <sub>0</sub>	♀
68	1.47	D <sub>1</sub>	♀
69	1.22	D <sub>1</sub>	♀
70	1.66	A	♀
71	0.94	D <sub>1</sub>	♂

Tabla III. (continuación)

Dieta	Tanque	$n_i$	$\bar{w}_i \pm s_y^2$	$n_f$	$\bar{w}_f \pm s_y^2$	$\Delta \bar{w}$	$\% \Delta \bar{w}$	$\% S$
E <sub>0.2</sub>	1	10	0.78 $\pm$ 0.059	4	0.88 $\pm$ 0.079	0.10	12.82	40.00
	2	10	0.78 $\pm$ 0.047	6	0.86 $\pm$ 0.105	0.08	10.51	60.00
	3	8	0.81 $\pm$ 0.060	3	1.29 $\pm$ 0.086	0.48	59.63	37.50
E <sub>0.4</sub>	1	10	0.78 $\pm$ 0.046	5	1.08 $\pm$ 0.014	0.30	39.25	50.00
	2	10	0.77 $\pm$ 0.051	8	0.79 $\pm$ 0.092	0.02	2.33	80.00
	3	8	0.81 $\pm$ 0.051	5	0.98 $\pm$ 0.111	0.17	20.49	62.50
E <sub>0.7</sub>	1	10	0.81 $\pm$ 0.037	9	1.25 $\pm$ 0.056	0.44	54.26	90.00
	2	10	0.80 $\pm$ 0.053	8	1.21 $\pm$ 0.139	0.42	51.75	80.00
	3	8	0.80 $\pm$ 0.051	5	0.95 $\pm$ 0.111	0.15	18.85	62.50
E <sub>1.3</sub>	1	10	0.80 $\pm$ 0.052	10	1.31 $\pm$ 0.117	0.52	64.74	100.00
	2	10	0.77 $\pm$ 0.053	10	1.07 $\pm$ 0.146	0.30	38.55	100.00
	3	8	0.78 $\pm$ 0.063	6	1.01 $\pm$ 0.115	0.23	30.11	75.00

Tabla IV. Experimento 1. Crecimiento y supervivencia de A. longinaris, alimentados con distintos porcentajes de colesterol. (valores por tanque).  
 Peso medio inicial y final ( $w_i$  y  $w_f$ ); número de individuos inicial y final ( $n_i$  y  $n_f$ )  
 variación de peso medio ( $\Delta w$ ) y porcentaje de supervivencia ( $\% S$ ).



	$E_{0.2}$	$E_{0.4}$	$E_{0.7}$	$E_{1.3}$
$E_{0.2}$	-			
$E_{0.4}$	1.806	-		
$E_{0.7}$	6.170*	1.400	-	
$E_{1.3}$	14.270*	7.680*	2.330	-

Tabla V. Experimento 1. Supervivencia: valores de  $\chi^2$ . (valores de tres tanques combinados)

\* = significativo;  $\chi^2_{0,05(1)} = 3.84$

Dieta	$n_i$	$m$	$m/n_i$	$D$	$T_m$
E <sub>0.2</sub>	10	7	0.70	32.30	2.17
	10	5	0.50	39.75	1.26
	8	4	0.50	17.65	2.83
E <sub>0.4</sub>	10	7	0.80	24.80	2.82
	10	8	1.00	34.60	2.88
	8	8	0.80	41.40	1.93
E <sub>0.7</sub>	10	15	1.50	41.10	3.64
	10	13	1.63	34.25	4.76
	8	15	1.50	37.50	4.00
E <sub>1.3</sub>	10	12	1.50	28.25	4.25
	10	16	1.60	45.00	3.55
	8	15	1.50	45.00	3.33

Tabla VI. Experimento 1. Tasa de muda de A. longinarius alimentados con distintos porcentajes de colesterol. (valores por tanque).  
 Número inicial de ejemplares ( $n_i$ ); número de mudas ( $m$ );  
 días de vida promedio del lote ( $D$ ); tasa de muda ( $T_m$ ).

	SS	$d_f$	MS	F
Tratamiento	8.3615	3	2.7872	-
Error	2.9022	8	0.3628	-
Total	11.2637	11	-	7.6829*

Tabla VII. Experimento 1. ANOVA para Tasa de Muda. (valores de tres tanques combinados)

\* = significativo;  $F_{0.05 [3,8]} = 4.07$

Q	K		
	2	3	4
Q	3.261	4.041	4.529
LSR	1.134	1.405	1.574

$$LSR = Q_{\alpha}(k, v) \sqrt{\frac{MS}{n}} = 0.348$$

$\alpha = 0.05$   
 $n=3 \quad v=8$

Comparaciones:

$$k = 4$$

$$E_{0.7} - E_{0.2} = 2.05^*$$

$$k = 3$$

$$E_{0.7} - E_{0.4} = 1.59^*$$

$$E_{1.3} - E_{0.7} = 1.54^*$$

$$k = 2$$

$$E_{0.4} - E_{0.2} = 0.46$$

$$E_{0.7} - E_{1.3} = 0.41$$

$$E_{1.3} - E_{0.4} = 1.18^*$$

\* = significativo

Tabla VIII. Experimento 1. LSR para Tasa de Muda. (valores de tres tanques combinados)

	SS	d <sub>f</sub>	MS	F
Tratamiento	0.8946	3	0.2982	-
Error	8.1800	75	0.1092	-
Total	9.0811	78	-	2.732

Tabla IX. Experimento 1. ANOVA para Peso Medio Final.

$$F_{0.05}(3,75) = 2.74$$

	SS	d <sub>f</sub>	MS	F
Tratamiento	0.0724	3	0.0241	-
Error	0.2386	8	0.0298	-
Total	0.3111	11	-	0.8092

Tabla X. Experimento 1. ANOVA para Variación en Peso Medio.(valores de tres tanques combinados).  $F_{0.05}(3,8) = 4.07$

	SS	d <sub>f</sub>	MS	F
Tratamiento	1153.42	3	384.47	-
Error	3650.56	8	456.32	-
Total	4803.99	11	-	0.8426

Tabla XI. Experimento 1. ANOVA para Porcentaje de Variación en Peso Medio.  
(valores de tres tanques combinados).  $F_{0.05}(3,8) = 4.07$

Dieta	Tanque	$n_i$	$\bar{w}_i \pm s_y^2$	$n_f$	$\bar{w}_f \pm s_y^2$	$\Delta \bar{w}$	$\% \Delta \bar{w}$	$\% S$
E <sub>0.2</sub>	1	10	0.84 $\pm$ 0.060	3	1.02 $\pm$ 0.063	0.18	21.43	30.00
	2	10	0.85 $\pm$ 0.049	4	1.00 $\pm$ 0.100	0.15	17.65	40.00
	3	8	0.87 $\pm$ 0.035	4	1.09 $\pm$ 0.127	0.22	25.29	50.00
E <sub>0.7</sub>	1	10	0.87 $\pm$ 0.053	5	1.24 $\pm$ 0.073	0.40	42.53	50.00
	2	10	0.87 $\pm$ 0.040	6	1.08 $\pm$ 0.086	0.21	24.14	60.00
	3	8	0.85 $\pm$ 0.067	4	1.00 $\pm$ 0.106	0.15	17.65	50.00
E <sub>1.3</sub>	1	10	0.88 $\pm$ 0.062	6	1.03 $\pm$ 0.087	0.15	17.05	60.00
	2	10	0.87 $\pm$ 0.043	5	1.11 $\pm$ 0.060	0.24	27.56	50.00
	3	8	0.87 $\pm$ 0.086	4	1.06 $\pm$ 0.194	0.19	21.84	50.00
E <sub>2.1</sub>	1	10	0.86 $\pm$ 0.034	10	1.16 $\pm$ 0.062	0.30	34.88	100.00
	2	10	0.86 $\pm$ 0.043	7	1.05 $\pm$ 0.072	0.19	22.09	70.00
	3	8	0.88 $\pm$ 0.061	5	1.19 $\pm$ 0.068	0.31	57.00	62.50

Tabla XII . Experimento 2. Crecimiento y supervivencia de A. longinaris, alimentados con dis-tintos porcentajes de colesterol. ( valores por tanque).  
 Peso medio inicial y final ( $w_i$  y  $w_f$ ); número de individuos inicial y final ( $n_i$  y  $n_f$ );  
 variación de peso medio ( $\Delta w$ ) y porcentaje de supervivencia ( $\% S$ ).

	$E_{0.2}$	$E_{0.7}$	$E_{1.3}$	$E_{2.1}$
$E_{0.2}$	-			
$E_{0.7}$	1.150	-		
$E_{1.3}$	1.150	0	-	
$E_{2.1}$	8.930*	3.903*	3.903*	-

Tabla XIII. Experimento 2. Supervivencia: valores de  $\chi^2$ . (valores de tres tanques combinados).  $\chi^2_{0.05[1]} = 3.84$

\* = significativo

Dieta	$n_i$	$m$	$m/n_i$	$D$	$T_m$
E <sub>0.2</sub>	10	11	1.10	42.50	2.58
	10	8	0.80	29.30	2.45
	8	5	0.64	32.60	1.91
E <sub>0.7</sub>	10	19	1.90	36.90	5.14
	10	12	1.20	38.70	3.10
	8	14	1.75	29.60	4.72
E <sub>1.3</sub>	10	16	1.60	41.60	3.81
	10	14	1.40	34.10	4.10
	8	12	1.50	31.50	3.75
E <sub>2.1</sub>	10	15	1.50	45.00	3.33
	10	18	1.80	40.50	4.44
	8	15	1.85	26.70	5.61

Tabla XIV. Experimento 2. Tasa de muda de A. longinaris alimentados con distintos porcentajes de colesterol. (valores por tanque).  
 Número inicial de ejemplares ( $n_i$ ): número de mudas ( $m$ );  
 días de vida promedio del lote ( $D$ ); tasa de muda ( $T_m$ ).



	SS	df	MS	F
Tratamiento	8.7435	3	2.9145	-
Error	5.2391	8	0.6549	-
Total	13.9826	11	-	4.4504*

Tabla XV . Experimento 2. ANOVA para Tasa de Muda. (valores de tres tanques combinados)

\* = significativo ;  $F_{0.05}(3,8) = 4.07$

	K		
	2	3	4
Q	3.261	4.041	4.529
LSR	0.660	0.818	0.917

$$LSR = Q_{\alpha}(k, v) \sqrt{\frac{MS}{n}} = 0.203$$

$\alpha = 0.05$   
 $n = 3 \quad v = 8$

Comparaciones:

$$k = 4$$

$$E_{2.9} - E_{1.3} = 1.31^*$$

$$k = 3$$

$$E_{2.1} - E_{1.3} = 0.12$$

$$E_{2.9} - E_{0.7} = 1.22^*$$

$$k = 2$$

$$E_{0.7} - E_{1.3} = 0.12$$

$$E_{2.1} - E_{0.7} = 0$$

$$E_{2.9} - E_{2.1} = 1.22^*$$

\* = significativo

Tabla XVI . Experimento 2. LSR para Tasa de Muda. (valores de tres tanques combinados)

	SS	$d_f$	MS	F
Tratamiento	0.0814	3	0.0271	-
Error	2.4441	59	0.0414	-
Total	2.5255	62	-	0.6548

Tabla XVII . Experimento 2. ANOVA para Peso Medio Final.

$$F_{0.05[3,59]} = 2.76$$

	SS	$d_f$	MS	F
Tratamiento	0.0158	3	0.0053	-
Error	0.0495	8	0.0062	-
Total	0.0653	11	-	0.8531

Tabla XVIII. Experimento 2. ANOVA para Variación en Peso Medio. (valores de tres tanques combinados).  $F_{0.05[3,8]} = 4.07$

	SS	$d_f$	MS	F
Tratamiento	526.59	3	175.530	-
Error	1041.53	8	130.191	-
Total	1568.12	11	-	1.3482

Tabla XIX. Experimento 2. ANOVA para Porcentaje de Variación en Peso Medio. (valores de tres tanques combinados).  $F_{0.05[3,8]} = 4.07$

Dieta	Tanque	$n_i$	$\bar{w}_i \pm s_y^2$	$n_f$	$\bar{w}_f \pm s_y^2$	$\Delta \bar{w}$	$\% \Delta \bar{w}$	$\% S$
E <sub>0.7</sub>	1	10	1.23 $\pm$ 0.082	5	1.62 $\pm$ 0.109	0.39	31.70	50.00
	2	10	1.27 $\pm$ 0.071	6	1.33 $\pm$ 0.083	0.06	7.87	60.00
	3	8	1.22 $\pm$ 0.064	3	1.60 $\pm$ 0.015	0.38	31.15	37.50
E <sub>1.3</sub>	1	10	1.27 $\pm$ 0.054	9	1.63 $\pm$ 0.169	0.36	28.34	90.00
	2	10	1.32 $\pm$ 0.086	7	1.57 $\pm$ 0.078	0.25	18.93	70.00
	3	8	1.26 $\pm$ 0.064	4	1.50 $\pm$ 0.053	0.24	19.05	50.00
E <sub>2.1</sub>	1	10	1.27 $\pm$ 0.076	7	1.49 $\pm$ 0.176	0.22	17.32	70.00
	2	10	1.19 $\pm$ 0.085	9	1.69 $\pm$ 0.060	0.40	31.00	90.00
	3	8	1.29 $\pm$ 0.077	4	1.65 $\pm$ 0.150	0.36	27.91	50.00
E <sub>2.9</sub>	1	10	1.30 $\pm$ 0.072	5	1.50 $\pm$ 0.063	0.20	15.38	50.00
	2	10	1.29 $\pm$ 0.084	6	1.53 $\pm$ 0.141	0.24	18.60	60.00
	3	8	1.27 $\pm$ 0.068	2	1.79 $\pm$ 0.180	0.52	40.94	25.00

Tabla XX . Experimento 3. Crecimiento y supervivencia de A. longinaris, alimentados con distintos porcentajes de colesterol. (valores por tanque).  
 Peso medio inicial y final ( $w_i$  y  $w_f$ ); número de individuos inicial y final ( $n_i$  y  $n_f$ ); variación de peso medio ( $\Delta w$ ) y porcentaje de supervivencia ( $\% S$ ).

	$E_{0.7}$	$E_{1.3}$	$E_{2.1}$	$E_{2.9}$
$E_{0.7}$	-			
$E_{1.3}$	2.700	-		
$E_{2.1}$	2.700	0	-	
$E_{2.9}$	0.072	3.610*	3.610*	-

Tabla XXI . Experimento 3. Supervivencia: valores de  $\chi^2$ . (valores de tres tanques combinados)

\* = significativo ;  $\chi^2_{0.05[1]} = 3.84$

Dieta	$n_j$	$m$	$m/n_j$	$D$	$T_m$
$E_{0.7}$	10	13	1.30	36.80	3.53
	10	12	1.20	32.60	3.78
	8	9	1.12	34.25	3.28
$E_{1.3}$	10	13	1.30	42.10	3.08
	10	15	1.50	38.70	3.88
	8	10	1.40	32.12	3.89
$E_{2.1}$	10	14	1.40	30.80	3.91
	10	15	1.50	39.40	3.81
	8	8	1.00	31.87	3.13
$E_{2.9}$	10	13	1.30	28.20	4.60
	10	19	1.90	35.50	5.07
	8	13	1.62	33.60	4.83

Tabla XXII. Experimento 3. Tasa de muda de A. longinaria alimentados con distintos porcentajes de colesterol. (valores por tanque).  
Número inicial de ejemplares ( $n_j$ ); número de mudas ( $m$ ); días de vida promedio del lote ( $D$ ); tasa de muda ( $T_m$ ).

	SS	$d_f$	MS	F
Tratamiento	3.5820	3	1.1940	-
Error	0.9845	8	0.1231	-
Total	4.5665	11	-	9.7028*

Tabla XXIII . Experimento 3. ANOVA para Tasa de Muda. (valores de tres tanques combinados)

\* = significativo ;  $F_{0,05}(3,8) = 4.07$

	K		
	2	3	4
Q	3.261	4.041	4.529
LSR	1.524	1.888	2.116

$$LSR = Q_{\alpha}(k, v) \sqrt{\frac{MS}{n}} = 0.467$$

$\alpha = 0.05$   
 $n = 3 \quad v = 8$

Comparaciones:

$$k = 4$$

$$E_{2.1} - E_{0.2} = 2.15^*$$

$$k = 3$$

$$E_{0.7} - E_{0.2} = 2.01^*$$

$$E_{2.1} - E_{1.3} = 0.56$$

$$k = 2$$

$$E_{1.3} - E_{0.2} = 1.59^*$$

$$E_{1.3} - E_{0.7} = 0.42$$

$$E_{2.1} - E_{0.7} = 0.14$$

\* = significativo

Tabla XXI. Experimento 3. LSR para Tasa de Muda. (valores de tres tanques combinados)



	SS	d <sub>f</sub>	MS	F
Tratamiento	4.0666	3	0.0510	-
Error	0.1531	61	0.0660	-
Total	4.2196	64	-	0.7653

Tabla XXV. Experimento 3. ANOVA para Peso Medio Final.

$$F_{0.05[3,61]} = 2.76$$

	SS	d <sub>f</sub>	MS	F
Tratamiento	0.0521	3	0.0174	-
Error	0.1653	8	0.0207	-
Total	0.2174	11	-	0.8406

Tabla XXVI. Experimento 3. ANOVA para Variación en Peso Medio. (valores de tres tanques combinados).  $F_{0.05[3,8]} = 4.07$

	SS	d <sub>f</sub>	MS	F
Tratamiento	20.1037	3	6.7012	-
Error	918.8642	8	114.8580	-
Total	938.9679	11	-	0.0583

Tabla XXVII. Experimento 3. ANOVA para Porcentaje de Variación en Peso Medio. (valores de tres tanques combinados).  $F_{0.05[3,8]} = 4.07$

Nº	Peso	Nº días de intermuda	Sexo
1	1.75	13	♀
2	1.18	12	♀
3	0.97	9	♂
4	0.71	9	♀
5	1.27	13	♀
6	1.31	12	♀
7	2.01	12	♀
8	1.18	11	♀
9	0.96	10	♂
10	1.04	11	♂
11	1.43	12	♂
12	1.55	12	♀
13	1.22	11	♀
14	1.08	10	♂
15	1.37	12	♀
16	1.30	12	♀
17	0.67	8	♀
18	1.44	13	♀
19	0.69	8	♂
20	1.02	11	♀
21	0.60	9	♂
22	0.89	9	♀
23	0.91	10	♂
24	1.01	11	♀
25	0.92	11	♀
26	1.22	12	♀
27	1.31	12	♀
28	1.58	13	♀
29	1.02	12	♂
30	1.04	11	♂
31	1.48	12	♀
32	1.41	12	♀
33	1.04	11	♀

Tabla XXVIII. Duración de la intermuda de camarones alimentados con dieta con 2% de colesterol.