

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**FACULTAD DE PESQUERÍA**



**“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD POSTLARVAL DE CAMARÓN  
*Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1989) PRODUCIDO EN  
ECLOSERÍAS COMERCIALES MEDIANTE PRUEBAS DE ESTRÉS”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO PESQUERO**

**KATIA MARIELLY ALBINES NIZAMA**

**LIMA – PERÚ**

**2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**FACULTAD DE PESQUERÍA**

**“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD POSTLARVAL DE CAMARÓN  
*Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1989) PRODUCIDO EN ECLOSERÍAS  
COMERCIALES MEDIANTE PRUEBAS DE ESTRÉS”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO PESQUERO**

Presentada por:

**KATIA MARIELLY ALBINES NIZAMA**

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Mg. Sc. Jessie Martina Vargas Cárdenas

**Presidente**

Dra. Martha Williams León de Castro

**Miembro**

M. Sc. César Abram Cruz Castellón

**Miembro**

M. Eng. María Cristina Miglio Toledo

**Asesora**

## **DEDICATORIA**

A Dios y la Virgen María, por bendecirme con la vida, una familia maravillosa y la oportunidad de lograr mis metas, como lo es, culminar satisfactoriamente esta tesis.

A mis padres, Segundo y Edita, por su amor, los valores y la educación brindada. Ellos, a pesar de la distancia, me acompañaron en todo este proceso, demostrándome su apoyo incondicional y la confianza que necesitaba para no rendirme.

A mis hermanos, Alonso y Paola, por su cariño, interés en mi carrera y motivarme en los momentos más difíciles.

A mis familiares y amigos, por sus palabras de aliento y buenos deseos.

## AGRADECIMIENTOS

A la M. Eng. María Cristina Miglio Toledo, asesora de la tesis, por compartir su experiencia y conocimientos en el tema; además de guiarme en todas las etapas de este proceso. Sin ella, no hubiera sido posible el desarrollo de este trabajo.

Al Mg. Sc. Segundo Tomás Albines Salazar, mi padre, por sus importantes aportes en la realización de esta tesis.

Al Centro Acuícola Camaronera Las Palmas – Tarapoto, por proveer un lote de postlarvas de camarón *M. rosenbergii*, acogerme en sus instalaciones durante la ejecución del experimento y entrenarme en el manejo de cultivo de esta especie.

A la Camaronera Aqua Prawn – Chacacayo, por proveer un lote de postlarvas de camarón *M. rosenbergii* para realizar el experimento.

Al Ing. Rubén Vicencio Romero, responsable de la camaronera Aqua Prawn, por brindar la información requerida en cuanto al manejo del cultivo de camarón *M. rosenbergii*.

Al Biolg. José Carlos Gastelú y al Ing. Iván Sheen, responsables de la Camaronera Las Palmas, por realizar el entrenamiento en el manejo del cultivo de camarón *M. rosenbergii*.

A Wilfer Ramírez y al personal del Centro Acuícola Camaronera Las Palmas, por el apoyo durante el desarrollo en campo del presente trabajo.

# ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Biología y ecología de la especie.....	3
2.1.1. Características de las postlarvas de <i>Macrobrachium rosenbergii</i> .....	4
2.2. Producción de postlarvas de camarón <i>Macrobrachium rosenbergii</i> en el Perú .....	5
2.2.1. Camaronera Las Palmas S.A.C.....	7
2.2.2. Camaronera Aqua Prawn.....	9
2.3. Calidad de agua.....	10
2.4. Estrés en crustáceos .....	12
2.5. Respuestas conductuales y morfológicas de estrés en crustáceos.....	14
2.6. Pruebas de estrés.....	16
2.6.1. Prueba de estrés por exposición a la formalina .....	17
2.6.2. Prueba de estrés por exposición a amonio.....	21
2.7. Análisis Probit .....	24
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1. Lugar de experimentación .....	25
3.1.1. Granja Acuícola Camaronera las Palmas (E1).....	25
3.1.2. Laboratorio de Acuicultura de la Universidad Nacional Agraria la Molina (E2) .....	25
3.2. Materiales .....	26
3.2.1. Material biológico .....	26
3.2.2. Reactivos.....	26
3.2.3. Equipos e instrumentos .....	27
3.3. Metodología .....	28
3.3.1. Acondicionamiento del lugar y limpieza de materiales.....	29
3.3.2. Recepción y mantenimiento de postlarvas .....	30
3.3.3. Preparación de soluciones.....	30
3.3.4. Medición de parámetros de calidad de agua .....	31
3.3.5. Indicadores de evaluación.....	31
3.3.6. Pruebas de estrés preliminares.....	33

<b>3.4. Diseño experimental.....</b>	<b>34</b>
<b>3.5. Pruebas de estrés definitivas .....</b>	<b>35</b>
<b>3.5.1. Análisis estadístico .....</b>	<b>37</b>
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>39</b>
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>64</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>65</b>
<b>VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>66</b>
<b>VIII. ANEXOS.....</b>	<b>77</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1: Derechos Acuícolas vigentes para cultivo de camarón <i>Macrobrachium rosenbergii</i></b> .....	6
<b>Tabla 2: Condiciones óptimas para el cultivo de postlarvas de <i>M. rosenbergii</i></b> .....	12
<b>Tabla 3: Registros de toxicidad de formalina (CH<sub>2</sub>O) para crustáceos</b> .....	20
<b>Tabla 4: Registros de toxicidad de amonio en crustáceos</b> .....	23
<b>Tabla 5: Listado de equipos utilizados en el experimento</b> .....	27
<b>Tabla 6: Listado de instrumentos utilizados en las pruebas de estrés</b> .....	28
<b>Tabla 7: Condiciones para mantenimiento de PL<sub>s</sub> previo a la aplicación de pruebas de estrés</b> .....	30
<b>Tabla 8: Frecuencia de medición de parámetros de calidad de agua</b> .....	31
<b>Tabla 9: Respuestas conductuales y morfológicas a evaluar</b> .....	32
<b>Tabla 10: Condiciones para la realización de pruebas de estrés preliminares</b> .....	34
<b>Tabla 11: Condiciones para el desarrollo de pruebas de estrés definitivas</b> .....	36
<b>Tabla 12: Criterios de evaluación de la contracción de la cola de PL<sub>s</sub> de <i>M. rosenbergii</i></b> .....	38
<b>Tabla 13: Porcentaje de mortalidad de PL<sub>s</sub> después de la prueba preliminar de exposición a formalina</b> .....	40
<b>Tabla 14: Límites de confianza del CL<sub>50-1h</sub> formalina</b> .....	41
<b>Tabla 15: Porcentaje de mortalidad de PL<sub>s</sub> después de la prueba preliminar de exposición a amonio</b> .....	42
<b>Tabla 16: Límites de confianza del CL<sub>50-24h</sub> amonio</b> .....	43
<b>Tabla 17: Parámetros de calidad de agua durante la aplicación de pruebas de estrés</b> .....	46
<b>Tabla 18: Valor real de amonio (mg NAT/L) en E1</b> .....	47
<b>Tabla 19: Valor real de amonio (mg NAT/L) en E2</b> .....	48
<b>Tabla 20: Concentración de amoníaco (mg NH<sub>3</sub>/l) en E1</b> .....	48
<b>Tabla 21: Concentración de amoníaco (mg NH<sub>3</sub>/L) en E2</b> .....	49
<b>Tabla 22: Respuestas conductuales y morfológicas de PL<sub>s</sub> presentadas en E1</b> .....	50
<b>Tabla 23: Respuestas conductuales y morfológicas de PL presentadas en E2</b> .....	50
<b>Tabla 24: Número de PLs con presencia de contracción de la cola tras aplicación de pruebas de estrés en E1</b> .....	51

<b>Tabla 25: Número de PL<sub>s</sub> que manifestaron la contracción de la cola tras ser sometidas a pruebas de estrés de exposición a la formalina y a amonio en E2.....</b>	<b>51</b>
<b>Tabla 26: Supervivencia tras prueba de estrés por exposición a formalina en E1 .</b>	<b>55</b>
<b>Tabla 27: Mortalidad tras prueba de estrés por exposición a formalina en E2 .....</b>	<b>56</b>
<b>Tabla 28: Supervivencia de PL<sub>s</sub> tras aplicación de prueba de estrés por exposición a amonio (30 mg NAT/L) en E1.....</b>	<b>57</b>
<b>Tabla 29: Supervivencia de PL<sub>s</sub> tras aplicación de prueba de estrés por exposición a amonio (30 mg NAT/L) en E2.....</b>	<b>58</b>
<b>Tabla 30: Porcentaje de supervivencia promedio tras aplicación de pruebas de estrés .....</b>	<b>60</b>
<b>Tabla 31: Número de PL<sub>s</sub> muertas tras la prueba de estrés preliminar de exposición a la formalina .....</b>	<b>78</b>
<b>Tabla 32: Número de PL<sub>s</sub> muertas tras prueba de estrés preliminar de exposición a amonio.....</b>	<b>78</b>
<b>Tabla 33: Prueba Chi – Cuadrado / Prueba de proporciones.....</b>	<b>87</b>
<b>Tabla 34: Test de Anderson Darling (Normalidad) .....</b>	<b>87</b>
<b>Tabla 35: Prueba de Signos – Formalina (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia mayor al 60 por ciento).....</b>	<b>87</b>
<b>Tabla 36: Prueba de Signos – Formalina (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia menor al 60 por ciento).....</b>	<b>87</b>
<b>Tabla 37: Prueba de Signos – Amonio / E2 ((Ho= mediana del porcentaje de supervivencia mayor al 60 por ciento).....</b>	<b>88</b>
<b>Tabla 38: Prueba de Signos – Amonio / E2 (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia menor al 60 por ciento).....</b>	<b>88</b>
<b>Tabla 39: Prueba t-student – Amonio / E1 (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia mayor al 60 por ciento).....</b>	<b>88</b>
<b>Tabla 40: Prueba t-student – Amonio / Tarapoto (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia menor al 60 por ciento).....</b>	<b>88</b>
<b>Tabla 41. Prueba de Levene.....</b>	<b>88</b>
<b>Tabla 42: Prueba de Mann Whitney .....</b>	<b>89</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ubicación de las zonas de procedencia del material biológico.....	26
<b>Figura 2.</b> Protocolo de aplicación de prueba de estrés por exposición a formalina .....	28
<b>Figura 3.</b> Protocolo de aplicación de prueba de estrés por exposición a amonio .....	29
<b>Figura 4.</b> Contracción de la cola de camarón <i>Macrobrachium rosenbergii</i> .....	32
<b>Figura 5.</b> Estimulación con un estilete para verificar la muerte de la postlarva.....	33
<b>Figura 6.</b> Distribución de las unidades .....	35
<b>Figura 7.</b> Acondicionamiento de las unidades experimentales en E1 .....	37
<b>Figura 8.</b> Test de amonio .....	37
<b>Figura 9.</b> Porcentaje de mortalidad de PL <sub>s</sub> de <i>M. rosenbergii</i> correspondiente a la media de tres repeticiones .....	39
<b>Figura 10.</b> Representación gráfica del cálculo de CL <sub>50-1h</sub> para formalina .....	41
<b>Figura 11.</b> Porcentaje de mortalidad de PL <sub>s</sub> de <i>M. rosenbergii</i> correspondiente a la media de tres repeticiones.....	42
<b>Figura 12.</b> Representación gráfica del cálculo de CL <sub>50-24h</sub> para amonio .....	43
<b>Figura 13.</b> Distribución de las unidades experimentales en E1 .....	44
<b>Figura 14.</b> Distribución de unidades experimentales en E2 .....	45
<b>Figura 15.</b> Postlarva de <i>Macrobrachium rosenbergii</i> presentando contracción de la cola tras la aplicación de las pruebas de estrés.....	52
<b>Figura 16.</b> Supervivencias de PL <sub>s</sub> obtenida tras la aplicación de prueba de estrés por exposición a formalina en E1 .....	61
<b>Figura 17.</b> Supervivencia de PL <sub>s</sub> obtenida tras la aplicación de prueba de estrés por exposición a amonio en E1 .....	62
<b>Figura 18.</b> Supervivencias de PL <sub>s</sub> obtenida tras la aplicación de la pruebas de estrés por exposición a formalina en E2 .....	62
<b>Figura 19.</b> Supervivencia de PL <sub>s</sub> obtenida tras la aplicación de las pruebas de estrés por exposición a amonio en E2.....	62
<b>Figura 20.</b> Observación de postlarvas en el microscopio .....	90
<b>Figura 21.</b> Recepción de postlarvas provenientes de camaronera Aqua Prawn .....	90
<b>Figura 22.</b> Envase de transporte de postlarvas provenientes de camaronera Aqua Prawn .....	91

**Figura 23.** Preparación de las unidades experimentales para la prueba de formalina en  
E2..... 91

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1. Reporte de control de Recepción en E2 .....</b>	<b>77</b>
<b>Anexo 2. Resultados de la prueba preliminar de exposición a la formalina .....</b>	<b>77</b>
<b>Anexo 3. Resultados de prueba preliminar de exposición a amonio.....</b>	<b>78</b>
<b>Anexo 4. Registro de presencia de contracción de la cola en PL<sub>s</sub> de camarón M. Rosenbergii frente a prueba de amonio – E1 .....</b>	<b>79</b>
<b>Anexo 5. Registro de presencia de contracción de la cola en PL<sub>s</sub> de camarón M. Rosenbergii frente a prueba de formalina – E1 .....</b>	<b>81</b>
<b>Anexo 6. Registro de presencia de contracción de la cola en PL<sub>s</sub> de camarón M. Rosenbergii frente a prueba de amonio – E2 .....</b>	<b>83</b>
<b>Anexo 7. Registro de presencia de contracción de la cola en PL<sub>s</sub> de camarón M. Rosenbergii frente a prueba de formalina – E2.....</b>	<b>85</b>
<b>Anexo 8. Resultados de análisis estadísticos.....</b>	<b>87</b>
<b>Anexo 9. Fotos sustentatorias de la experimentación.....</b>	<b>90</b>

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo evaluar la calidad de las postlarvas (PL<sub>s</sub>) de camarón *Macrobrachium rosenbergii* producidas en dos ecloseries comerciales: Camaronera Las Palmas – Tarapoto y Camaronera Aqua Prawn – Lima; mediante la aplicación de dos protocolos de pruebas de estrés, exposición a formalina (600 mg/L por 1 hora) y exposición a amonio (30 mg NAT/L por 24 horas). La experimentación se llevó a cabo en dos locaciones, una fue la Camaronera Las Palmas Tarapoto (E1) y la otra, el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad Nacional Agraria La Molina (E2). Las pruebas de estrés se realizaron en un sistema estático con control de temperatura y oxígeno, en un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con 10 repeticiones. El pH, la temperatura y el NAT fueron medidos según requerimiento. Los indicadores de respuesta conductual observados fueron el nado circular, hundimiento, parálisis temporal, contracción de la cola y coloración blanquecina. Se evaluó la contracción de la cola y la supervivencia de las PL<sub>s</sub> tras la aplicación de las pruebas de estrés. La media de los porcentajes de supervivencia obtenidos en la prueba de estrés por exposición a amonio fueron 69 por ciento en E1 y 62 por ciento E2; y en la prueba de estrés por exposición a formalina, 71 por ciento en E1 y 61 por ciento en E2; demostrando en todos los casos, una buena calidad postlarval (Porcentaje de supervivencia > 60 por ciento). Asimismo, no se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre en el número de PL<sub>s</sub> que presentaron la contracción de la cola, ni en la mediana y varianza del porcentaje de supervivencia obtenidos tras la exposición a formalina y amonio.

Palabra clave: *Macrobrachium rosenbergii*, pruebas de estrés, formalina, amonio, supervivencia, contracción de la cola.

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the quality of the postlarvae (PL) of *Macrobrachium rosenbergii* prawn produced in two commercial hatcheries: Las Palmas - Tarapoto and Aqua Prawn - Lima; by applying two stress test protocols, formalin exposure (600 mg/L per 1 hour) and ammonium exposure (30 mg NAT/L per 24 hours). The experimentation was carried out in two locations, one was the Las Palmas Hatherie (E1) and the other, the Aquaculture Laboratory of the Universidad Nacional Agraria la Molina (E2). Stress test were performed in a static system with temperature and oxygen control in a randomized complete block design (RCBD) with 10 replications. pH, temperature and NAT were measured as required. Circular swimming, sinking, temporary paralysis, tail contraction and white coloration as behavior responses were observed during the tests. Only tail contraction was measured as well as survival rates. 69 percent and 62 percent mean of survival was recorded for ammonia exposure per 24 hours, for E1 and E2 respectively. Likewise, 71 percent and 61 percent mean of survival was recorded for formalin exposure per 1 hour, for E1 and E2 respectively. In all cases was demonstrated, a good postlarval quality (Survival percentage > 60 percent). No significant differences ( $p > 0.05$ ) were found between the number of PLs that showed tail contraction, nor in the median and the variance of the survival percentage after exposure to formalin and ammonium.

Keywords: *Macrobrachium rosenbergii*, stress tests, formalin, ammonium, survival, contraction of the tail.

## I. INTRODUCCIÓN

El camarón gigante de agua dulce *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1989) es un habitante común de los ríos y estuarios de la región del Indo-Pacífico. Esta especie tiene importancia comercial debido a su rápido crecimiento en regiones tropicales y subtropicales (New, 2010). En el Perú, fue introducido experimentalmente en el año 1983 por la Universidad Nacional Agraria la Molina, que instaló una eclostería con reproductores traídos de Israel, desde entonces, se han realizado muchas investigaciones con la finalidad de mejorar la crianza en sus diferentes estadios; y adecuar el cultivo de esta especie a las condiciones ambientales del país (Maguiña, 2007).

En el año 2017, la cosecha de camarón *Macrobrachium rosenbergii* en el Perú, producto de la actividad acuícola, disminuyó 7,35 TM con respecto al año anterior, alcanzando un total de 26,26 TM, que íntegramente le correspondieron a la región San Martín (PRODUCE, 2017). No obstante, los valores mencionados no son comparables a los niveles de producción de las principales especies producidas como: trucha (54 878,43 TM), concha de abanico (11 926,98 TM) y langostino (27 491,66 TM) (PRODUCE, 2017), por lo que se debe trabajar para potencializar el cultivo de dicha especie, siendo la producción de semilla y obtención de post larvas, uno de los principales cuello de botella que limitan la producción.

De acuerdo al Catastro Acuícola Nacional (2019), a la fecha existen 77 derechos acuícolas vigentes para el cultivo de la especie *Macrobrachium rosenbergii*. De los cuales 64 se encuentran en la región San Martín y cinco en Lima (Tabla 1). Siendo el Centro Acuícola camaronera Las Palmas - Tarapoto, el mayor productor comercial de camarón en el país, con una eclostería capaz de producir 7 200 millares anuales.

Los centros de cultivo pueden producir la semilla en sus instalaciones o adquirirla de ecloseries comerciales. En este contexto, la calidad de las postlarvas es la principal preocupación de los productores y compradores de semilla, ya que de ella depende el buen desempeño de los animales durante el cultivo, reflejado en la resistencia a condiciones adversas y a enfermedades, altos porcentajes de supervivencia y buena tasa de crecimiento (Cuéllar-Anjel *et al.*, 2010).

A la fecha, solo se cuenta con registros de la evaluación de la calidad de camarón *Macrobrachium rosenbergii* a nivel larval; sin embargo, a nivel postlarval, que sería de mayor utilidad, ya que en ese estadio se adquieren para la siembra en los diferentes centros de cultivo, no se ha estandarizado métodos que proporcionen información suficientemente confiable. La calidad, en la mayoría de los casos, recién se ha evaluado al momento de la cosecha, lo cual repercute en la producción, pues ésta tiende a ser muy diversa (Burbano, 2014).

El presente trabajo tiene por objeto evaluar la calidad de las postlarvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii* producidas en dos ecloseries comerciales del Perú, mediante el desarrollo de un protocolo estandarizado y práctico, para la aplicación de pruebas de estrés de exposición a formalina y a amonio.

Los resultados se discutirán en función a las respuestas conductuales y morfológicas y al porcentaje de supervivencia tras la exposición a las dos condiciones estresantes. Finalmente, se compararán los resultados obtenidos en cada prueba, para determinar si es posible aplicarlas indistintamente al momento de evaluar la calidad postlarval.

Con la realización de este trabajo de investigación se aportará nuevos conocimientos, en cuanto a metodologías estandarizadas y confiables para la evaluación de la calidad de postlarvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii*, lo que permitirá un mejor desarrollo de los procesos productivos siguientes, como es la etapa de nursery. Además, se podrá anticipar posibles problemas en el cultivo y establecer una programación de la producción más confiable, que conlleve a la optimización de los recursos.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Biología y ecología de la especie

El género *Macrobrachium*, de la familia Palaemonidae, ha sido de gran interés biológico debido al número de especies que lo conforman, su distribución geográfica y su importancia económica en muchos países.

Existen al menos 238 especies que se distribuyen en la franja tropical y subtropical de todo el mundo; de las cuales, 26 se sitúan desde Baja California, hasta Perú, incluidos Brasil y Argentina (Vega – Villasante *et al*, 2014).

La biología de las especies de este género obedece a un denominador común: el hábitat dulceacuícola, aunque también pueden ocupar medios salobres. Por lo general, son muy agresivos entre los individuos de la misma población y con especies distintas, convirtiéndose en caníbales y depredadores (New, 2010).

Según el Integrated Taxonomic Information System (ITIS, 2016), la clasificación taxonómica para el camarón gigante de Malasia es:

- Reino: Animalia
- Phylum: Artrópoda
- Sub-phylum: Crustácea
- Clase: Malacostraca
- Sub-clase: Eumalacostraca
- Super-orden: Eucarida
- Orden: Decápoda
- Sub-orden: Pleocyemata

- Super-familia: Palaemonoidea
- Familia: Palaemonidae
- Sub-familia: Palaemoninae
- Género: *Macrobrachium*
- Especie: *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879)

### **2.1.1. Características de las postlarvas de *Macrobrachium rosenbergii***

Dependiendo de las condiciones ambientales, las primeras postlarvas aparecen alrededor del día 22 del ciclo de cultivo larval, y en algunos casos, hasta el día 35. Generalmente, el 90 por ciento de las postlarvas se obtiene diez días después de la aparición de las primeras postlarvas (New, 2010).

La práctica de designar la etapa de desarrollo de postlarvas por los días de cultivo desde la metamorfosis: PL1, PL25, etc., como sucede en el caso de los camarones peneidos, no se puede realizar para *Macrobrachium rosenbergii* debido a que la metamorfosis no es sincrónica (Karplus, 2005).

Las postlarvas son adultos en miniatura que completan su ciclo de vida en agua dulce y cuyas características se van formando a medida que se desarrollan. El primer estadio postlarval se denomina decapodito, es de naturaleza bentónica y se asemeja casi en su totalidad a los juveniles de esta especie (Vega-Villasante, 2014).

Las postlarvas son de color gris y marrón, cambian gradualmente a marrón claro y azulado a medida que crecen en juveniles y adultos. Tienen cinco líneas horizontales en el caparazón, que son características de la especie; además, desarrollan una mayor cantidad de setas plumosas, en las antenas y mandíbula; y setas dentadas, entre los procesos incisivos y molares (Vega-Villasante, 2014).

En este estadio, las estructuras de flotación y nado se transforman en apéndices cada vez más similares a los pereiópodos que se necesitan para la vida en el fondo. Por ello, las

postlarvas de *Macrobrachium rosenbergii* se caracterizan por asentarse en el fondo del estanque, pudiendo caminar incluso en superficies verticales.

Además, tienden a aferrarse a objetos sumergidos; para lo cual, se les debe proporcionar un sustrato artificial o estructuras que permitan reducir el estrés del hacinamiento y el canibalismo, tales como: redes de malla fina, mosquiteros colgando de flotadores, tubos, entre otros, (Nandlal y Pickering, 2005).

Asimismo, en el interior del cefalotórax de las postlarvas se transforman todos los órganos internos que harán posible la adaptación a las nuevas necesidades. Se forman las branquias a ambos costados y por dentro del abdomen, permitiendo no solo respirar, sino también realizar la captación y el balance de sales propio de los organismos acuáticos de agua dulce (Vega-Villasante, 2014).

En cuanto a la alimentación, las postlarvas recogen del fondo la variedad de alimentos que se les suministre, puede ser: trozos de carne de almeja, caracol o calamar, camarones, carne de pescado y alimentos formulados (pellets) (Nandlal y Pickering 2005). Para poder realizar esta acción, las piezas bucales son más especializadas en la captura y masticación de presas; las antenas y anténulas por su parte, adquieren mayor complejidad y capacidad sensorial a través de pelos y setas con la finalidad de servir para la detección oportuna de presas y depredadores (Vega-Villasante, 2014).

## **2.2. Producción de postlarvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii* en el Perú**

De acuerdo al Catastro Acuícola Nacional (2019), se ha especificado seis centros dedicados a la producción de semilla de camarón *Macrobrachium rosenbergii*, de los cuales, uno se ubica en el departamento de Lima: Camaronera Aqua Prawn (hasta 50 000 PLs) y los otros cinco, en el departamento de San Martín: ACUISEL S.A.C., Estación Pesquera de Ahuashiyacu, Camaronera Las Palmas (Casa Bancharo Agroindustria S.A.C.), Centro Acuícola Ecoturístico El Dorado S.A.C. y Granja de Piscifactoría el Mao, los cuatro primeros se encuentran en Tarapoto y el último en Rioja.

En función a la capacidad productiva, los centros de cultivo se clasifican en Acuicultura de Recursos Limitados (AREL) y Acuicultura de Micro y Pequeña Empresa (AMYPE) (Tabla 1). Los centros mencionados anteriormente, pertenecen a la clasificación AMYPE; es decir, que la actividad acuícola se desarrolla mediante cultivos semi-intensivos e intensivos, con una producción anual no mayor a las 150 toneladas brutas (PRODUCE, 2016).

**Tabla 1: Derechos Acuícolas vigentes para cultivo de camarón *Macrobrachium rosenbergii***

Departamento	Cultivo	Tipo de derecho	Tipo de desarrollo	N° de derechos	Área (Ha.)
Cajamarca	Policultivo	Autorización	AREL	1	0,239
Total Cajamarca				1	0,239
La Libertad	Policultivo	Autorización	AMYPE	2	3,039
Total La Libertad				2	3,039
Lima	Policultivo	Autorización	AREL	2	0,1642
	Policultivo	Autorización	AMYPE	3	0,3562
Total Lima				5	0,5204
Loreto	Policultivo	Autorización	AMYPE	2	6,4104
Total Loreto				2	6,4104
Madre de Dios	Policultivo	Autorización	AMYPE	1	0,24
Total Madre de Dios				1	0,24
Piura	Policultivo	Autorización	AREL	1	0,0826
Total Piura				1	0,0826
San Martín	Policultivo	Autorización	AREL	7	2,3734
	Policultivo	Autorización	AMYPE	57	99,0793
Total San Martín				64	101,4527
Ucayali	Policultivo	Autorización	AMYPE	1	1,8
Total Ucayali				1	1,8
<b>TOTAL GENERAL</b>				<b>77</b>	<b>113,7841</b>

FUENTE: Catastro Acuícola Nacional (2019)

### **2.2.1. Camaronera Las Palmas S.A.C.**

#### **Producción de postlarvas**

La granja acuícola está ubicada en la Selva Norte, cuenta con una ecloserie capaz de producir hasta 600 millares mensuales de postlarvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii*, manteniendo una supervivencia promedio de 68 por ciento.

El cultivo larval es de tipo intensivo y se realiza en un sistema de recirculación cerrado y dinámico; es decir, con un recambio de agua constante. La infraestructura de cultivo está conformada por nueve tanques circulares de fibra de vidrio con un volumen útil de 1000 litros y 0,7 metros de tirante de agua.

Cada tanque de cultivo tiene integrado un filtro biológico, que a su vez cuenta con un sistema de filtración mecánica para impedir la entrada de materia orgánica a los mismos. Todo el sistema de filtros biológicos está conectado a un sistema de recirculación que pasa por una unidad de tratamiento de agua de 1000 L de capacidad, con un sistema de esterilización UVc, una torre de espuma (skimmer) y un sistema de filtración mecánica de 1 micra.

Los parámetros de calidad de agua durante el desarrollo larval se mantienen a 14 UPS (unidades prácticas de salinidad), temperatura de  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , pH entre 7,6 y 8,2; niveles de amonio de 0,25 mg/L y nitrito en 0,2 mg/L.

En cuanto a la alimentación de larvas, ésta se divide en alimento vivo y alimento inerte. El primero está formado por nauplios de *Artemia franciscana* tipo A; es decir, Golden/Premium con un 90 por ciento de eclosión, y segundo, por una ración micronizada formulada con insumos que cubran los requerimientos nutricionales de las larvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii*.

## **Aclimatación de postlarvas**

El proceso de aclimatación se inicia cuando aproximadamente el 90 por ciento de la población ha metamorfoseado a PL<sub>s</sub>, dicha condición se manifiesta cuando los individuos comienzan a posicionarse en el fondo del tanque de cultivo (1000 L) y en las estructuras flotantes que se han colocado a manera de refugios.

Para retirar a las PL<sub>s</sub> del tanque de cultivo, se homogeniza el agua con ayuda de las manos y brazos, y se recolectan con una red. En ese momento, se toma una muestra de PL<sub>s</sub> con una cucharada al ras de aproximadamente 5 cm de diámetro (0.02 L) y se procede a contar. El número total de PL<sub>s</sub> producidas por tanque de cultivo, se calcula multiplicando el número de cucharadas obtenidas por el número de PL<sub>s</sub> contadas en la muestra.

Tras ser retiradas del tanque de cultivo, las PLs son puestas en baldes con agua de aclimatación y aireación constante, para luego ser trasladadas a tanques de concreto rectangulares de aproximadamente 1300 litros, donde se realizará la aclimatación a agua dulce. Primero, las PL<sub>s</sub> pasarán al tanque con agua a 10 UPS, luego de 24 horas, al de 3 UPS y después de 24 horas más, al de 0 UPS.

El traspaso de las PL<sub>s</sub> de un tanque de aclimatación a otro, es realizado por personal capacitado que ingresa al tanque y recolecta todas las PL<sub>s</sub> con una red, y luego las lleva al tanque siguiente.

Este procedimiento se realiza en horas de la mañana; asimismo, antes del traspaso, se toma en cuenta la variación de pH, que no debe ser mayor a 0,2; de lo contrario, no se puede continuar con el proceso de aclimatación.

## **2.2.2. Camaronera Aqua Prawn**

### **Producción de postlarvas**

La eclojería se encuentra ubicada en la Costa central, realiza el cultivo larval de tipo intensivo en un sistema de recirculación cerrado, pero estático; es decir, la recirculación del agua es cada dos días y se renueva solo la mitad del agua del tanque de cultivo.

La infraestructura de cultivo está formada por siete tanques cuadrados de fibra de vidrio con un volumen útil de 500 litros, pero se trabaja a 350 litros. El sistema de filtración consta de dos tanques, uno para la filtración mecánica, y el otro, para la biológica.

Los parámetros de calidad de agua durante el desarrollo larval se mantienen a 16 UPS y temperatura de 30°C.

En cuanto a la alimentación de larvas se divide en alimento vivo y alimento inerte. El primero está formado por nauplios de *Artemia franciscana* tipo B (80 por ciento de eclosión) y el segundo, por una ración micronizada formulada con insumos que cubran los requerimientos nutricionales de las larvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii*.

### **Aclimatación de postlarvas**

El proceso de aclimatación se realiza en el mismo tanque de cultivo, cuando aproximadamente el 90 por ciento de la población ha metamorfoseado a PL<sub>s</sub>, dicha condición se manifiesta cuando los individuos comienzan a posicionarse en las paredes y fondo.

Primero, se baja el nivel de agua a la mitad y se completa con agua dulce; de esta manera, se va disminuyendo gradualmente la salinidad. El periodo de tiempo que permanecen las PL<sub>s</sub> en cada salinidad, varía dependiendo del criterio del personal a cargo, en base al comportamiento de las PL<sub>s</sub>.

Cada vez que se baja el nivel de agua, la salinidad disminuye a la mitad. Así, el agua de 16 UPS pasa a 8 UPS, luego a 4 UPS y finalmente a 2 UPS.

Este procedimiento se realiza en horas de la mañana; asimismo, antes de agregar el agua dulce, se toma en cuenta la variación de temperatura, la cual no debe ser mayor a 1°C. Cabe resaltar que este procedimiento se realiza en horas de la mañana.

Las PL<sub>s</sub> se venden aclimatadas a 2 UPS, por lo tanto, completan el proceso de aclimatación a agua dulce (0 UPS), cuando son sembradas en los estanques designados por el comprador.

El transporte se realiza en horas de la mañana en bolsas con aire cuidadosamente cerradas y a una densidad de 60 larvas/litro. Cabe señalar, que para este procedimiento, las postlarvas se encontraban sin alimentación desde el día anterior.

### **2.3. Calidad de agua**

En los laboratorios dedicados a la producción postlarvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii*, se simulan las condiciones del desarrollo de esta etapa en el ambiente natural; siendo los principales parámetros a considerar: la temperatura, salinidad y pH, descritos en la Tabla 2 (Ponce, 2008).

En este sentido, la calidad de agua es un factor determinante para el éxito de la operatividad de la eclosería, que se ve reflejado en la Supervivencia y tasa de crecimiento de los organismos (New, 2010).

A continuación se describen los parámetros mencionados:

### **Temperatura:**

El rango óptimo de temperatura para el cultivo de camarón *Macrobrachium rosenbergii* se muestra en la Tabla 2. Temperaturas fuera de dicho rango, dificultan el desarrollo del organismo.

A bajas temperaturas (< 24°C), por ejemplo, el camarón reduce su metabolismo y en consecuencia, consume una menor cantidad de alimento, acumulándose éste en el fondo de los tanques de cultivo, condición que pone en riesgo la calidad de agua.

### **Oxígeno disuelto (mg OD/L):**

El valor óptimo de oxígeno disuelto en el agua de cultivo larval de camarón *Macrobrachium rosenbergii* debe ser cercano a la saturación (70 por ciento) (New *et al.*, 2010), la cual es determinada por una serie de factores, especialmente, la temperatura.

### **Potencial Hidrógeno (pH):**

Cuando el pH tiene valores bajos o elevados, causa estrés en los organismos bajo cultivo. Concentraciones extremadamente bajas y altas de pH pueden generar un caparazón duro y baja Supervivencia (Carvajal y Sánchez, 2013).

A mayor pH se incrementa la forma de amoníaco no-ionizado (NH<sub>3</sub>) que es la forma más tóxica para los animales acuáticos (Kubitza, 2017). Los valores del rango de 8,0 a 8,3 se recomiendan para el cultivo y el mantenimiento de organismos acuáticos en sistemas cerrados de recirculación de agua (Lobão, 1997).

**Tabla 2: Condiciones óptimas para el cultivo de postlarvas de *M. rosenbergii***

Indicadores	Valores óptimos	Autor
Temperatura	25°C - 30°C	Cavalcanti <i>et al.</i> citado por SEBRAE/ES (2005)
Oxígeno	> 5,5 mg/L	Lobão (1997)
pH	7,5 – 8,3	Lobão (1997)
Salinidad	0 UPS	Nandlal y Pickering (2005)
Ión amonio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	< 1,5 mg/L	Nandlal y Pickering (2005)
Amoníaco no ionizado (NH <sub>3</sub> )	< 0,1 mg/L	Nandlal y Pickering 2005

#### 2.4. Estrés en crustáceos

El concepto de estrés se origina a partir de dos términos: “*fight or flight*” (pelear o escapar) introducido por Cannon en 1929 y “síndrome de adaptación general”, por Selye en 1936; quien menciona que la base de dicho síndrome, la constituyen las diferentes perturbaciones que provocan cierto número de respuestas similares en los organismos (Aparicio, 2009).

El estrés es una respuesta inespecífica generada cuando el organismo percibe una amenaza a su homeostasis debido a condiciones adversas que le producen alteraciones conductuales, morfológicas, fisiológicas e inmunológicas. Estas respuestas están mediadas por grandes circuitos interconectados en el sistema límbico frontal, hipotálamo y cerebro, relacionados con la memoria y la recompensa (Moberg, 2000).

Selye (1946) dividió la respuesta generada por el organismo en tres fases distintas:

1. Fase inicial o de alarma, conocida como respuesta primaria, que involucra centros cerebrales y liberación de hormonas como: MIH (hormona inhibidora de la muda), CHH (hormona hiperglucémica de crustáceos) que actúa para satisfacer la creciente demanda de energía, NDH (hormona neurodepresora), entre otras, generadas a partir de un estímulo al que no se está adaptado cuantitativamente o cualitativamente.

2. Fase de resistencia, que comprende la respuesta secundaria o metabólica, involucra las diferentes modificaciones bioquímicas y fisiológicas producidas por dichas hormonas, tales como: aumento de los niveles de glucosa, lactato (por activación del metabolismo anaeróbico compensatorio), entre otros componentes de la hemolinfa, además de todas las reacciones sistémicas expresadas por el organismo, como el aumento de la locomoción para reducir la exposición a las amenazas, al tratar de adaptarse progresivamente a un estímulo prolongado y en consecuencia, producir la energía necesaria para reestablecer su homeostasis.
  
3. Fase de agotamiento, también conocida como respuesta terciaria, a la cual se llega dependiendo de la magnitud y duración del agente estresor. En esta fase la salud e incluso la vida del organismo se pueden ver fuertemente comprometidas, afectando procesos vitales como crecimiento, reproducción, respuesta inmune y consecuentemente la supervivencia. Implica el término de las reacciones por la permanencia del estímulo estresante, al no llegar a reestablecer su homeostasis, el organismo se conduce a la aparición de patologías, incrementos en la acidosis metabólica, disminuciones en el rendimiento de la natación, alimentación y la función inmunológica, e incluso la muerte.

Asimismo, Zacarías- Soto (1997), señala que el estrés, de acuerdo a su duración, se puede clasificar en dos tipos:

1. Estrés agudo: Solo se presenta por un corto periodo de tiempo (de minutos a horas) y es producido por un evento puntual (captura, manipulación, biometrías, transporte, etc.). Se caracteriza por el aumento de los niveles metabólicos y hormonales, pero con una rápida recuperación a los niveles basales.
  
2. Estrés crónico: Se presenta de forma prolongada, ya sea repetitiva o continua (de días a semanas). Es causado por agentes persistentes y de larga duración, tales como: altas densidades de cultivo, variación de la calidad de agua o de las condiciones ambientales a las que se encuentran sometidos los organismos, entre otros factores. Se caracteriza

por un incremento en los niveles metabólicos y hormonales por días o semanas (mayor tiempo), por lo cual la recuperación tiende a ser más lenta.

## **2.5. Respuestas conductuales y morfológicas de estrés en crustáceos**

En principio, las respuestas al estrés estaban asociadas a la actividad del sistema nervioso simpático, posteriormente se reconoció otros sistemas corporales involucrados, como las glándulas pituitaria y adrenal. Finalmente, se estableció que las respuestas al estrés eran producto de la integración de los ejes simpático adreno medular (SNA) e hipotálamo pituitario adrenal (HPA) en el hipotálamo.

El organismo activa respuestas colectivas mediadas por circuitos interconectados del sistema límbico frontal, hipotálamo y cerebro, que liberan glucocorticoides asegurando el aporte de energía mediante la movilización de glucosa. El resultado final se refleja en la alteración de los sistemas corporales: hiperglucemia, hipertensión, infecciones recurrentes, alteración de la memoria y del control del comportamiento (Koscinczuk, 2014).

Las respuestas al estrés presentan variaciones incluso entre individuos de una misma especie, están influenciadas por el estado fisiológico, edad, sexo, condición nutricional, agente estresante aplicado, experiencias previas, y por la capacidad de controlar y/o predecir la situación (Moberg, 2000).

Actualmente, existen estudios que reportan los efectos tóxicos de la exposición a amonio y a formalina en peces y crustáceos; no obstante, para el caso específico de postlarvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii*, la información con la que se cuenta es escasa, en comparación a la existente para otras especies.

Vives (2016) ha evaluado la conducta de las postlarvas y juveniles de camarón *Macrobrachium rosenbergii* expuestas al plaguicida metamidofos, logrando describir las siguientes características:

- Nado discontinuo y lento, trasladándose de un lugar a otro en forma horizontal.
- Nado rápido y agitado por el todo el espacio.
- Convulsiones musculares espasmódicas o saltos esporádicos fuera del agua.
- Parálisis temporales y al tocar sus cuerpos con una varilla sus reacciones no fueron inmediatas.
- Los camarones moribundos se colocaban en la base del envase.
- Cambio de coloración del cuerpo hacia un tono blanquecino.

Para el caso de *Litopenaeus vannamei*, se ha reportados el reflejo de huida, caracterizado por el encorvamiento del abdomen para nadar súbitamente hacia atrás, conocido como el síndrome del camarón acalambrado. Los camarones en un primer momento presentan un calambre parcial y nadan con el abdomen de forma jorobada, mientras que los animales totalmente acalambrados, se hunden y permanecen de lado en el fondo del estanque hasta morir.

Mendoza-Rodríguez (2009) evaluó la toxicidad aguda del sulfato de cobre en postlarvas de camarón *Cryphiops caementarius*, mediante el desempeño de la actividad natatoria, utilizando como referencia los siguientes indicadores:

- Hiperactividad natatoria postlarval (HNPL):  
Reacción de escape, síntomas de estrés, adhesión a los vidrios fuera del agua.
- Actividad natatoria postlarval normal (ANNPL):  
Búsqueda de alimento, lucha territorial, desplazamiento en toda la columna de agua, reacción rápida a estímulos mecánicos brindados.
- Hipoactividad natatoria postlarval (hNPL):  
Falta de desplazamiento, falta de lucha, reacción a estímulos mecánicos brindados.  
Sin reacción, síntomas de aletargamiento. Muerte (M):  
Falta de signos vitales, organismo muerto.

## 2.6. Pruebas de estrés

El crecimiento de la actividad acuícola camaronera en el país, conlleva a la necesidad de garantizar la calidad del producto a los compradores de postlarvas producidas en laboratorios y ecloseries comerciales. Por tal motivo, se hace indispensable disponer de un método fácil y viable que permita evaluar la calidad postlarval de los camarones.

En este sentido, las pruebas de estrés surgen como una alternativa aplicable para este fin. La calidad del organismo se refleja en la supervivencia a dichas pruebas, que a su vez, dependen de la resistencia y condición física del mismo (Hernández, 2001).

La aplicación de las pruebas de estrés, como criterio de calidad, se validará si al menos el 60 por ciento sobrevive, pues se ha señalado, que por encima de dicho porcentaje se considera un indicativo de buena calidad postlarval (Barbieri, 2007).

Las pruebas de estrés consisten en someter a las postlarvas a un estrés corto pero extremo; las más utilizadas son: estrés osmótico (para el caso de *Litopenaeus vannamei*), variación temperatura, pH, amonio, exposición a la formalina, entre otros (Bray y Lawrence, citado por Burbano, 2014).

Otros métodos utilizan como indicadores: la pigmentación corporal, el comportamiento, la proporción músculo-intestino, la composición bioquímica e incluso una puntuación que evalúa el desarrollo del cromatóforo, la deformidad del cuerpo y la opacidad muscular (Cavalli *et al.*, 2000).

En la mayoría de los casos, estos criterios se consideran complementarios y, por lo tanto, se usan juntos para evaluar la calidad de las postlarvas (Bray y Lawrence citados por Hernandez, 2001).

Las pruebas de estrés propuestas en este estudio son simples, rápidas, económicas y no requieren de equipos sofisticados ni habilidades científicas complejas. Por lo tanto, se consideran herramientas importantes para establecer estándares de calidad y mejorar las prácticas de los centros de producción de postlarvas.

### **2.6.1. Prueba de estrés por exposición a la formalina**

El formaldehído representa un factor de riesgo laboral de tipo químico cuyo efecto tóxico depende de su concentración, tiempo de exposición, características del organismo y presencia de otros contaminantes (Méndez, 2002).

En este sentido, la Unión Europea ha prohibido su uso porque considera un alto riesgo para la salud humana, especialmente cuando se manipula en grandes volúmenes y por periodos de tiempo prolongados (UEMS, 2016). En Perú, todavía no existen regulaciones sobre su uso, así como protocolos oficiales para su aplicación en acuicultura.

Frente a ello, la OSHA (Administración de Seguridad ocupacional y seguridad de EEUU) recomienda que los trabajadores expuestos a este tóxico deben usar guantes, mascarilla, gafas y mandiles. Además, se recomienda realizar la manipulación en espacios con suficiente ventilación para disminuir los peligros de la inhalación (UEMS, 2016).

La formalina es una solución de formaldehído ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) disuelto en agua a una concentración entre 37 y 50 por ciento, puede contener hasta un 15 por ciento de metanol para evitar su polimerización (Álvarez y Sánchez, 2012).

El uso de formalina está aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos de América para el tratamiento de infecciones por hongos, protozoos, etc., manteniendo la sanidad de los cultivos intensivos de especies dulceacuícolas y marinas (Gieseke *et al.*, 2006).

La formalina, además de su eficacia con fines terapéuticos o profilácticos, produce una alteración en la composición física y química del ambiente acuático, logrando una respuesta al estrés por parte de los organismos (Kubilay y Ulukoy, 2002).

La concentración de formalina en el medio acuático se disminuye mediante el proceso de oxidación, formando dióxido de carbono y agua. Para ello, se requiere altos niveles de oxígeno que deben ser proporcionados mediante aireación (Leal, 2016).

La velocidad de degradación de la formalina en agua depende de factores como la temperatura, niveles de oxígeno y presencia de microbios degradantes. En agua de mar enriquecida con nutrientes, la pérdida de formaldehído por procesos biológicos, inicia aproximadamente 40 horas después de su liberación en el agua (Mopper y Stahovec, 1986). En agua dulce estancada, la degradación de formaldehído se realiza en aproximadamente 30 horas (condiciones aeróbicas) y 48 horas (condiciones anaeróbicas) a 20 ° C (Kitchens *et al.*, 1976).

Con respecto a la posible bio-acumulación de formalina en el músculo de los organismos expuestos a esta sustancia, Subasinghe y Yusoff (1993) realizaron un experimento con dos especies de peces, luego de la exposición a niveles terapéuticos de formalina (50 y 100 mg/L); encontrando niveles residuales de formaldehído inmediatamente después de la exposición; sin embargo, la concentración se degradó después de pasar a los peces a agua limpia por 24 horas.

Del mismo modo, Hose y Lightner (1980) tampoco encontraron residuos de formaldehído en colas congeladas de camarones *Penaeus stylirostris* tratados con cantidades terapéuticas de formalina (50 y 150 mg/L) durante 6 y 24 h.

Entre los efectos más comunes de este compuesto en peces y crustáceos se encuentra la hiperactividad y la convulsión, así como la dificultad respiratoria, la reducción del crecimiento y el deterioro del rendimiento reproductivo (Kaviraj *et al.*, 2004).

La respuesta frente al tóxico formaldehído es el daño patológico en las branquias, produciendo un desequilibrio osmorregulador y respiratorio, y la posterior mortalidad del organismo si es que el agente estresante continúa. Esto se debe, a que el epitelio branquial es la superficie de contacto principal con el medio externo, convirtiéndose en el primer objetivo de los contaminantes presentes en el agua (Wong y Wong, 2000).

La prueba de estrés por exposición a formalina consiste en exponer a las postlarvas por un periodo de tiempo, que generalmente es una hora, en una solución de formalina. La

concentración usada, dependerá de la etapa de desarrollo del organismo. Posteriormente, se registran las respuestas conductuales y morfológicas observadas y la supervivencia obtenida tras la aplicación de la sustancia tóxica (Samocha citado por Hernández, 2001).

En la Tabla 3 se presentan los valores de toxicidad de formalina para crustáceos, registrados por otros autores.

**Tabla 3: Registros de toxicidad de formalina (CH<sub>2</sub>O) para crustáceos**

Estadío	Especie	Formalina ( mg/L)	Supervivencia (porcentaje)	CL <sub>50</sub> mg/L	Tiempo (horas)	Autor
Estadío 4				147		
Estadío 7	<i>M. rosenbergii</i>			176	24	Kitsawat, 1997
Estadío 11				178		
Estadío 4				25		
Estadío 7	<i>M. rosenbergii</i>			30	48	Kitsawat, 1997
Estadío 11				31		
PL 1	<i>M. rosenbergii</i>	100	100			Winter, 2007
PL	<i>M. rosenbergii</i>	500			1	Khasani <i>et al.</i> ,
		750				2017
PL 12	<i>Litopenaeus vannamei</i>	1400	75		1	Anónimo
PL 26						
PL 4		300	50	293		
PL 5		400	40	374		
PL 6	<i>Litopenaeus vannamei</i>	500	50	497	2	Samocha, 1998
PL7		600	50	598		
Juveniles	<i>Penaeus monodon</i>	625			6	Ham y Hall,
		1250				1998

CL50 mg/L: Concentración letal media

### 2.6.2. Prueba de estrés por exposición a amonio

En el agua, el amonio se encuentra en su forma no ionizada ( $\text{NH}_3$ ) y como ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). El amonio no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) es la forma más tóxica para los organismos acuáticos, porque al ser una molécula neutra, puede difundirse fácilmente gracias a su gradiente de presión, a través de las membranas epiteliales (branquias) (Emerson *et al.*; 1975).

El  $\text{NH}_3$  proviene principalmente de la excreción de los organismos, descomposición del material orgánico, descomposición de organismos muertos, desaminación y transaminación del alimento y por el alimento no consumido (Chih y Chien, 2003).

El uso de amonio es una práctica estándar en los estudios de toxicología acuática; en este sentido, un procedimiento similar también podría ser útil para determinar el estado fisiológico de los animales acuáticos en sus diferentes estadios. (Thuy 1999) señala que la resistencia a concentraciones elevadas de amonio se relaciona con la edad de los organismos; es decir, a mayor edad, más resistente es el organismo frente a amonio.

La acción tóxica del amoníaco no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) en los organismos acuáticos se debe a las siguientes causas: destrucción del epitelio branquial, estimulación de la glucólisis y supresión del ciclo de Krebs, inhibición de la producción de ATP, alteración de la actividad osmorreguladora y disrupción del sistema inmunológico (Camargo y Alonso, 2007).

En el camarón *Macrobrachium rosenbergii*, la excreción de amonio es consumada a través de las branquias, siendo los tres pares posteriores, al menos en esos organismos, los que hacen la mayor contribución (Pequeux y Gilles 1981).

Si la concentración de amoníaco aumenta en el agua, la excreción disminuye y aumenta los niveles de amoníaco en la hemolinfa y otros tejidos, lo que podría elevar el pH de la hemolinfa y producir efectos adversos sobre la estabilidad de la membrana y las reacciones catalizadas por enzimas, que eventualmente pueden conducir a la muerte (Weihrauch y Garrett, 2018).

Un aspecto fundamental para determinar la viabilidad de la prueba de exposición a amonio, como criterio de calidad, es su reproducibilidad en el tiempo; es decir, que debe presentar resultados globales con patrones similares (Weihrauch y Garrett 2018). Cavalli (2000) realizó esta evaluación en larvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii*; demostrando que dicha prueba es un criterio valioso, sensible y reproducible.

La prueba de estrés por exposición a amonio requiere de la preparación de una solución madre de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) a 1000 mg/L, la cual se obtiene diluyendo 3.82 gramos de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  en un litro de agua desionizada (Hernández, 2001). Los grupos de camarones se exponen a las concentraciones de nitrógeno amoniacal total estimadas por el investigador y se distribuyen en una serie de recipientes a una temperatura constante. Para reducir los cambios en la concentración a causa la evaporación del amonio ( $\text{NH}_3$ ), las alícuotas de la solución deben ser agregadas inmediatamente antes de colocar a los animales.

En la Tabla 4 se presentan los valores de toxicidad de amonio para crustáceos, registrados por otros autores.

**Tabla 4: Registros de toxicidad de amonio en crustáceos**

Estadío	Especie	CL <sub>50</sub> (mg NAT/L)	CL <sub>50</sub> (mg NH <sub>3</sub> /L)	pH	Tiempo (horas)	UPS	T (°C)	Autor
Larvas	<i>M. rosenbergii</i>	1 - 8	0,43 – 3,41	9	96	12	30	Mallasen y Valenti (2005)
Larvas	<i>M. rosenbergii</i>	70,74 – 12,65	0,26 – 1,35	6,83 7,6 8,34	144	12	28	Armstrong <i>et al.</i> (1978)
Larvas	<i>M. rosenbergii</i>	171,1	1,7	7,1 – 7,8	24	12	28	Rahman <i>et al.</i> , (2003)
PL	<i>M. rosenbergii</i>		2,18 1,45	8,5 9,0	72	3	29	Straus (1991)
PL	<i>M. amazonicum</i>	21,14	0,67	7,6 – 7,9	96		24,9 – 27,2	Dutra 2016
Juvenil	<i>M. rosenbergii</i>		2,02 - 0,54	9,0 – 9,5	72	3	29	Straus (1991)

CL50 mg/L: Concentración letal media

NAT: Nitrógeno Amoniacal total

## 2.7. Análisis Probit

Para el cálculo de la  $CL_{50}$  (Concentración letal media) y sus respectivos límites de confianza al 95% se utiliza el método Probit, ya sea manualmente o con ayuda de paquetes estadísticos que tengan este procedimiento. Para estimar la  $CL_{50}$  se ajustan los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad, en la cual se calculan los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancias. El porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción tóxica de una sustancia se transforma a unidades Probit, permitiendo ajustar la línea de regresión, en la cual la concentración perteneciente al Probit 0,5, corresponderá a la cantidad de sustancia capaz de generar el efecto estudiado en la mitad de la población. Una de las restricciones del método es que para el cálculo de la  $CL_{50}$  deben obtenerse valores intermedios entre 0 y 100% de mortalidad (Castillo, 2004).

### Aceptabilidad de los resultados

- La mortalidad en el control negativo no debe exceder el 10%.
- La concentración final de oxígeno disuelto debe ser mayor de 2 mg/L.
- La  $CL_{50}$  para el tóxico de referencia deberá estar dentro de los límites de confianza preestablecidos en la carta control.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de experimentación**

El desarrollo de las pruebas de estrés tuvo lugar en dos locaciones (Figura 1):

##### **3.1.1. Granja Acuícola Camaronera las Palmas (E1)**

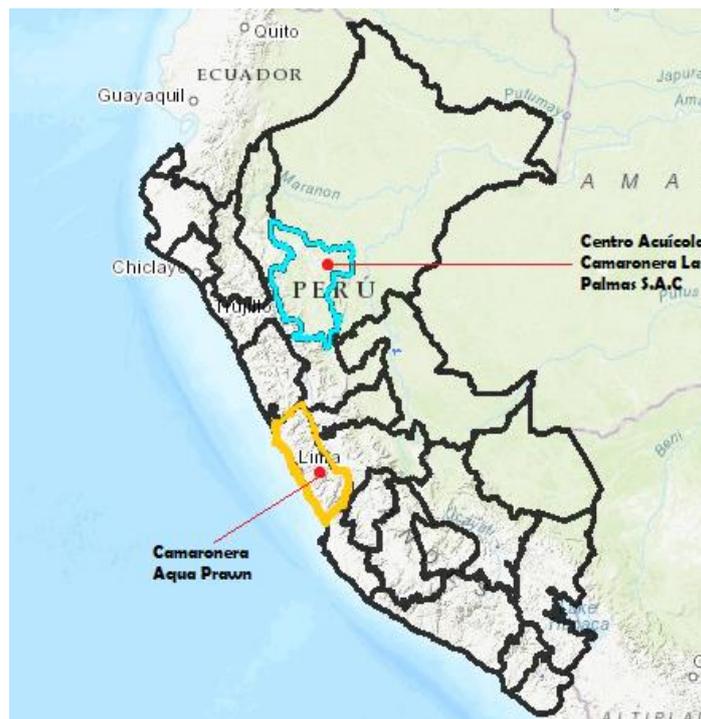
Ubicada en la Selva Norte del Perú, específicamente en el Caserío Las Palmas, distrito de la Banda de Shilcayo, provincia y departamento de San Martín ( $6^{\circ}31'16,1''\text{S}$ ;  $76^{\circ}19'59,6''\text{W}$ ), donde se trabajó con las PL<sub>s</sub> procedentes del mismo centro.

El clima en E1 registra una temperatura anual promedio de  $32^{\circ}\text{C}$  en el día y  $23^{\circ}\text{C}$  en la noche (SENAMHI, 2018).

##### **3.1.2. Laboratorio de Acuicultura de la Universidad Nacional Agraria la Molina (E2)**

Ubicado en el distrito de La Molina, provincia y departamento de Lima ( $4^{\circ}55,2''\text{S}$ ,  $76^{\circ}56'52,8''\text{W}$ ). Lugar donde se trabajó con las PL<sub>s</sub> de la Costa Central, procedentes de la Camaronera Aqua Prawn, localizada en el distrito de Chaclacayo, provincia y departamento de Lima ( $11^{\circ}58'2''\text{S}$ ;  $76^{\circ}45'41''\text{W}$ ) (Figura 1).

El clima en E2 es templado con una temperatura anual promedio de  $21^{\circ}\text{C}$  en el día y  $15^{\circ}\text{C}$  en la noche (SENAMHI, 2018).



**Figura 1.** Ubicación de las zonas de procedencia del material biológico

## 3.2. Materiales

### 3.2.1. Material biológico

Para el desarrollo del experimento se adquirieron dos lotes de medio millar de PL<sub>s</sub> recién aclimatadas a agua dulce. El primero fue adquirido del Centro Acuicola Camaronera Las Palmas S.A.C y el otro de la Camaronera Aqua Prawn.

### 3.2.2. Reactivos

- Cloruro de amonio granular (NH<sub>4</sub>Cl) (PM = 53,49) marca SPECTRUM al 99,5 – 100,5 por ciento.
- Formalina comercial al 40 por ciento

### 3.2.3. Equipos e instrumentos

En las Tablas 5 y 6 se detallan los equipos e instrumentos utilizados para el desarrollo de las pruebas de estrés en E1 y E2.

**Tabla 5: Listado de equipos utilizados en el experimento**

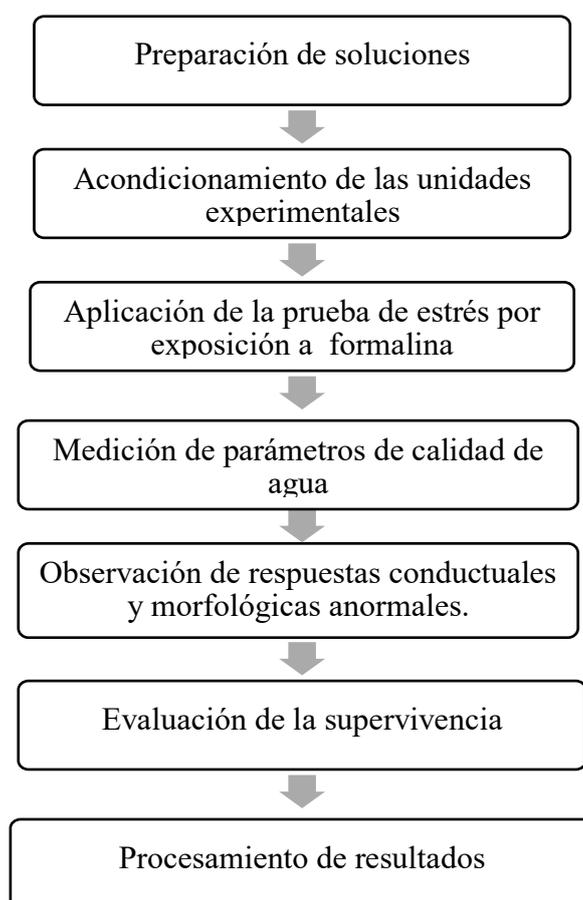
Lugar de experimentación	Equipo	Marca	Unidades	Rango	Límite de detección/ precisión
	Potenciómetro de bolsillo		°C		
Camaronera Las Palmas (E1)	Conductímetro de bolsillo		pH		
			µS, mS		
	Medidor de oxígeno	Yellow Spring Instruments	mg OD/L porcentaje de saturación °C		0,1 mg/L
Laboratorio de Acuicultura UNALM (E2)	Potenciometro	pHTestr 30	pH	-1,00 a 15,00	± 0,01 pH
	Equipo multiparámetro	PCT - 407	µS, mS		± 2% FS

**Tabla 6: Listado de instrumentos utilizados en las pruebas de estrés**

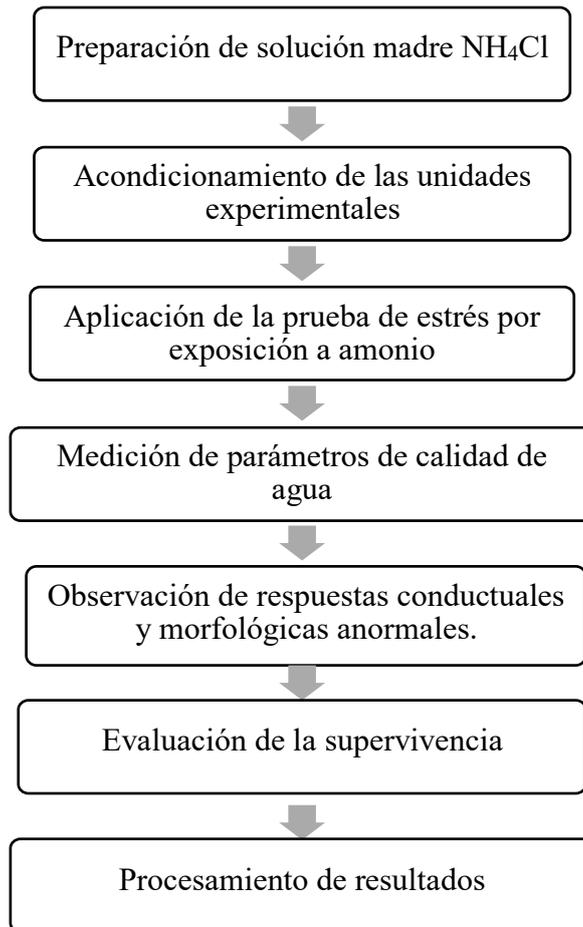
Instrumentos		
- Test amonio marca JLB	- Varilla	- Piedras difusoras.
- Pipetas 1 ml, 5 ml, 10 ml y 25 ml	- Pisceta	- Lentes protectores de ojos
- Bombilla de succión	-Mascarillas y	- Recipientes de plástico
-Mangueras de plástico $\varnothing$ 0,5 cm.	guantes de látex	rectangulares de 1L

### 3.3. Metodología

En general, el procedimiento para la aplicación de las pruebas de estrés por exposición a formalina y amonio, se describe en la Figura 2 y 3, respectivamente.



**Figura 2.** Protocolo de aplicación de prueba de estrés por exposición a formalina



**Figura 3.** Protocolo de aplicación de prueba de estrés por exposición a amonio

### 3.3.1. Acondicionamiento del lugar y limpieza de materiales

Las pruebas de estrés en E1 y E2 se realizaron en un espacio ventilado y sin acceso directo a rayos solares, asimismo, contaban con una línea de aire necesaria para la ejecución del experimento.

El protocolo de limpieza de acuarios e infraestructuras se realizó con un paño humedecido en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 por ciento, luego se enjuagaron con abundante agua y se dejaron secar al aire libre.

Por otro lado, la limpieza de accesorios tales como: recipientes de plástico, redes, tubos de sifón, manguerillas, piedras difusoras, entre otros, se realizó por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 por ciento por espacio de 1 hora, posteriormente se enjuagó con abundante agua y se dejó secar al aire libre.

### 3.3.2. Recepción y mantenimiento de postlarvas

En la Tabla 7 se presenta las condiciones necesarias para mantener a las PL<sub>s</sub> antes de la aplicación de las pruebas de estrés.

**Tabla 7: Condiciones para mantenimiento de PL<sub>s</sub> previo a la aplicación de pruebas de estrés**

Condiciones	Descripción
Densidad	20 PL <sub>s</sub> /L (Racotta 2004)
Salinidad	0 UPS
Temperatura °C	28°C ± 1°C
pH	7,5 – 8,3
Aireación	Constante a saturación
Tiempo	2 días
Alimentación	Se suspende 24 horas antes de la aplicación de las pruebas de estrés.

### 3.3.3. Preparación de soluciones

#### Solución de formalina

La solución de formalina se preparó a partir de una solución stock de formol comercial al 40 por ciento.

#### Solución de amonio

Se preparó una solución madre de NH<sub>4</sub>Cl al 0,1 por ciento. En una fiola de 1L, se agregó 3,82 gramos de NH<sub>4</sub>Cl granular y se enrasó con agua destilada, luego de mezclar, se transvasó a una botella de vidrio cerrada herméticamente.

### 3.3.4. Medición de parámetros de calidad de agua

Los parámetros de calidad de agua evaluados en las pruebas de estrés de formalina y amonio fueron temperatura °C y pH. El amonio (mg NAT/L) solo se midió en la prueba de estrés del mismo nombre, con la finalidad de obtener la concentración real vs la nominal.

La frecuencia de medición se presenta en la Tabla 8.

**Tabla 8: Frecuencia de medición de parámetros de calidad de agua**

Parámetros	Prueba de estrés por exposición a formalina	Prueba de estrés por exposición a amonio
Amonio	• No se midió	• A las 0, 12, 16, 20 y 24 horas.
Temperatura (°C)	• A las 0 y 1 hora.	• A las 0, 12, 16, 20 y 24 horas.
pH	• A las 0 y 1 hora.	• A las 0, 12, 16, 20 y 24 horas.

### 3.3.5. Indicadores de evaluación

#### Respuestas Conductuales y Morfológicas

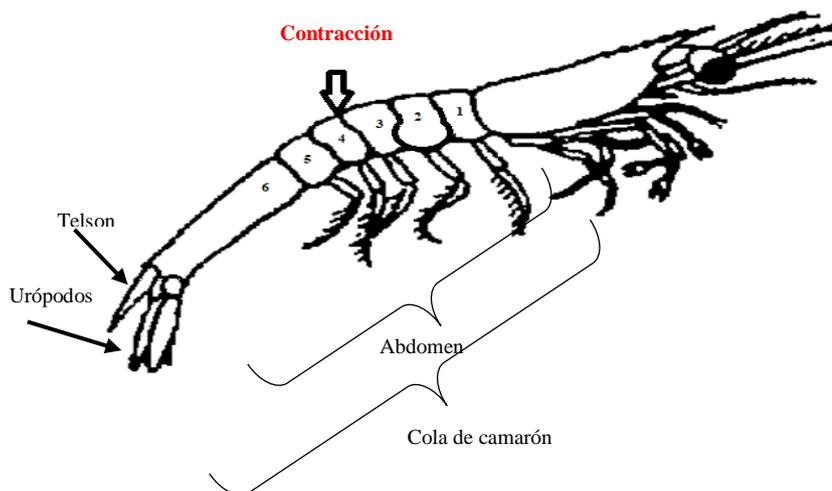
En base a experimentos anteriores, se consideró evaluar cuatro respuestas conductuales y una morfológica que manifiestan las PL<sub>s</sub> de camarón *M. rosenbergii*, durante la exposición a agentes estresantes.

La evaluación consistió en observar y registrar la presencia de las conductas anormales descritas en la Tabla 9 y, para factibilidad del experimento, solo se cuantificó el número de PL<sub>s</sub> que presentaron, como respuesta conductual, la contracción de la cola frente a formalina y amonio.

**Tabla 9: Respuestas conductuales y morfológicas a evaluar**

Respuesta	Normal	Anormal
Actividad natatoria	Las PL <sub>s</sub> se desplazan por toda la columna de agua, manifestando búsqueda de alimento y lucha territorial. Asimismo, presentan una reacción rápida a los estímulos mecánicos brindados.	<p><b>Nado circular:</b> Las PL<sub>s</sub> nadan agitadamente en forma de círculos.</p> <p><b>Hundimiento:</b> Las PL<sub>s</sub> se ubican en el fondo del recipiente que las contiene.</p> <p><b>Contracción de la cola:</b> Las PL<sub>s</sub> contraen irreversible la cola, a partir del cuarto segmento abdominal</p> <p><b>Parálisis temporal:</b> Las PL<sub>s</sub> se encuentran suspendidas en la columna de agua con reacción tardía frente a estímulos mecánicos.</p>
Coloración	Las PL <sub>s</sub> presentan una coloración opaca, entre gris y marrón.	<b>Coloración blanquecina:</b> Las PL <sub>s</sub> presentan una coloración blanquecina.

La cola del camarón *Macrobrachium rosenbergii* está formada por los seis segmentos del abdomen, el telson y los urópodos. La contracción de la cola se produce a partir del cuarto segmento abdominal (Figura 4).



**Figura 4.** Contracción de la cola de camarón *Macrobrachium rosenbergii*

## Supervivencia

La supervivencia fue el indicador zootécnico que reveló el porcentaje de las postlarvas que permanecieron vivas tras la exposición a los agentes estresantes. En este sentido, después de 01 hora en la prueba de formalina y 24 horas en la prueba de amonio, se observó y registró el número de PL<sub>s</sub> con presencia de signos vitales, después de tocarlas con un estilete (Figura 5). Las PL<sub>s</sub> que no reaccionaron fueron consideradas muertas.



**Figura 5.** Estimulación con un estilete para verificar la muerte de la postlarva

### 3.3.6. Pruebas de estrés preliminares

Las pruebas de estrés preliminares se realizaron con la finalidad de hallar la concentración letal media (CL<sub>50</sub> mg/L) de los agentes estresantes; es decir, aquella donde muere el 50 por ciento de la población.

En base a dicho resultado, se establecieron menores concentraciones de formalina y amonio, las cuales se utilizaron en las pruebas de estrés definitivas.

En la Tabla 10, se describen las condiciones necesarias para realizar las pruebas de estrés preliminares.

**Tabla 10: Condiciones para la realización de pruebas de estrés preliminares**

Condiciones	Descripción	
	Prueba de estrés preliminar de exposición a formalina	Prueba de estrés preliminar de exposición a amonio
Concentración	40, 200, 400, 600 y 800 mg/L	20, 30, 40 y 50 mg NAT/L
Tiempo de exposición	1 h	24 h
Número de organismos	10 PL <sub>s</sub> aclimatadas	10 PL <sub>s</sub> aclimatadas
Volumen del recipiente	1 L	1 L
Número de repeticiones	3	3
Número de grupos control	2	2
Alimentación	Suspendida	Suspendida
Aireación	Constante a saturación	Constante a saturación
Temperatura °C	25°C – 30 °C	25°C – 30 °C
pH	7,5 – 8,3	7,5 – 8,3
Conductividad eléctrica	Agua a 0 UPS	Agua a 0 UPS
Control	Agua a 0 UPS	Agua a 0 UPS
Resultado objetivo	CL 50	CL 50

### 3.4. Diseño experimental

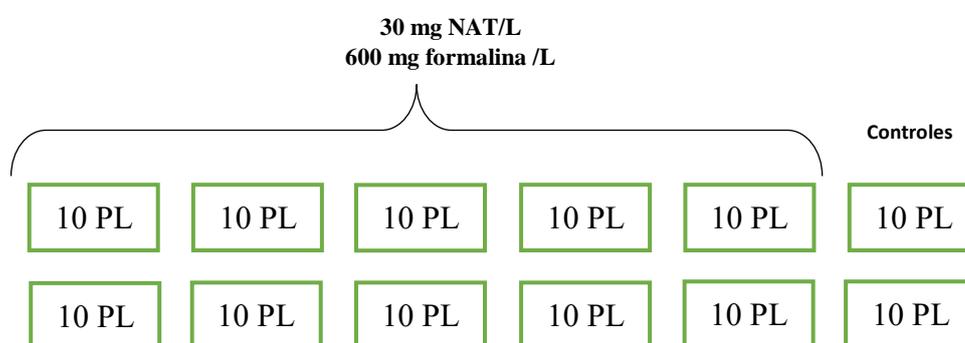
La unidad experimental estuvo formada por 10 PL<sub>s</sub> (Dutra, 2016) recién aclimatadas de camarón *Macrobrachium rosenbergii*, distribuidas en recipientes de plástico rectangulares con un volumen útil de 1L.

Los recipientes se llenaron con agua dulce (0 UPS). La solución de formalina/amonio, se agregó inmediatamente antes de incorporar a los animales y se mezcló con una varilla de vidrio durante 60 segundos.

Para cada prueba de estrés definitiva, se utilizaron diez unidades experimentales y dos grupos control (0 mg/L de formalina/amonio) (Rahman *et al.*, 2003), sumando un total 120 PL<sub>s</sub>. (Figura 6).

Cada unidad experimental tenía una línea de aire ininterrumpida y una red que cubría toda la superficie para evitar que los camarones salten al verse afectados por el tóxico.

Después de realizar las pruebas de estrés preliminares, las concentraciones finales con las que se trabajó fueron 600 mg/L para la prueba de formalina y 30 mg/L para la prueba de amonio, ya que dichos valores son menores a la concentración letal media (CL<sub>50</sub> mg/L) de los agentes estresantes, obtenida en la prueba anterior.



**Figura 6.** Distribución de las unidades

### 3.5. Pruebas de estrés definitivas

Encontrados los valores de concentración letal media (CL<sub>50</sub> mg/L) de los agentes estresantes y con ello, las concentraciones finales a utilizar; se procedió a realizar las pruebas de estrés definitivas con el objetivo de evaluar la calidad de las PL<sub>s</sub> de camarón *Macrobrachium rosenbergii*.

En la Tabla 11 se describen las condiciones necesarias para el desarrollo de las pruebas de estrés definitivas.

**Tabla 11: Condiciones para el desarrollo de pruebas de estrés definitivas**

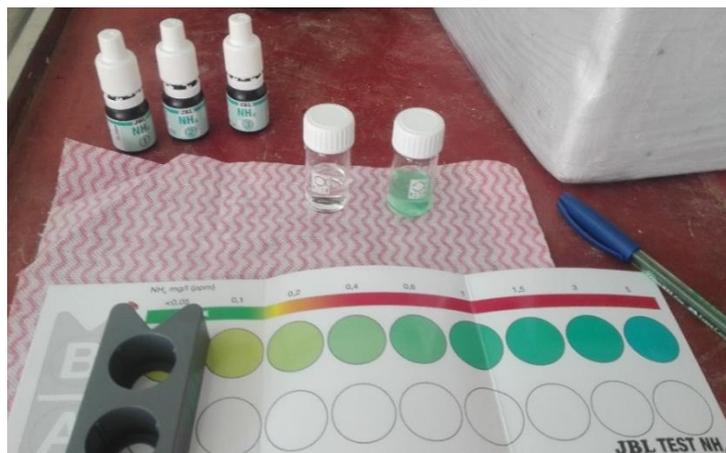
Condiciones	Descripción	
	Prueba de estrés de exposición a formalina	Prueba de estrés de exposición a amonio
Concentración	600 mg CH <sub>2</sub> O/L	30 mg NAT/L
Volumen de solución	1,5 ml	30 ml
Tiempo de exposición	1 h	24 h
Número de organismos	10 PL <sub>s</sub> aclimatadas	10 PL <sub>s</sub> aclimatadas
Volumen del recipiente	1 L	1 L
Número de repeticiones	10	10
Número de grupos control	2	2
Alimentación	Suspendida	Suspendida
Aireación	Constante a saturación	Constante a saturación
*Temperatura °C	* 25°C – 30 °C	* 25°C – 30 °C
pH	7,5 – 8,3	7,5 – 8,3
Conductividad eléctrica	Agua a 0 UPS	Agua a 0 UPS
Control	Agua a 0 UPS	Agua a 0 UPS
Respuesta conductual contabilizada	Contracción de la cola	Contracción de la cola
Criterio de aceptabilidad de buena calidad postlarval	Supervivencia > 60 %	Supervivencia > 60 %

\* La T°C en E2 se logró colocando a los recipientes en baño maría con termostatos, dentro de un acuario.

Asimismo, en la Figura 7 se representa el proceso de acondicionamiento de las unidades experimentales y en la Figura 8, el kit utilizado para medir amonio (mg NH<sub>4</sub>/L) en la prueba de estrés del mismo nombre.



**Figura 7.** Acondicionamiento de las unidades experimentales en E1



**Figura 8.** Test de amonio

### 3.5.1. Análisis estadístico

Las respuestas conductuales y morfológicas, junto con los resultados de supervivencia obtenidos se registraron en una hoja de Excel y el procesamiento de datos se realizó en el programa estadístico R versión 3.5.2. con un nivel de significancia de 0,05.

La  $CL_{50}$  de formalina y amonio en las pruebas de estrés preliminares se calcularon mediante el método Probit, y una regresión lineal a un 95 por ciento de confianza.

Para evaluar la respuesta conductual: contracción de la cola de las postlarvas, se utilizó la prueba no paramétrica Chi – cuadrado, con el fin de determinar si existieron diferencias significativas entre la proporción de postlarvas que presentaron el valor (1) tras la exposición a formalina y amonio (Tabla 12).

**Tabla 12: Criterios de evaluación de la contracción de la cola de PL<sub>s</sub> de *M. rosenbergii***

Indicador - Variable Respuesta	Valores
Contracción de la cola	0: No presenta contracción de la cola
	1: Presenta contracción de la cola

La evaluación del porcentaje de supervivencia se realizó de manera independiente para cada tratamiento. En primer lugar, se verificó el supuesto de normalidad para cada muestra, mediante la prueba de Anderson Darling. Si los datos se ajustaron a una distribución normal, se utilizó la prueba paramétrica de T – Student para analizar la media de la supervivencia, en caso contrario se empleó la prueba no paramétrica de Signos para analizar la mediana.

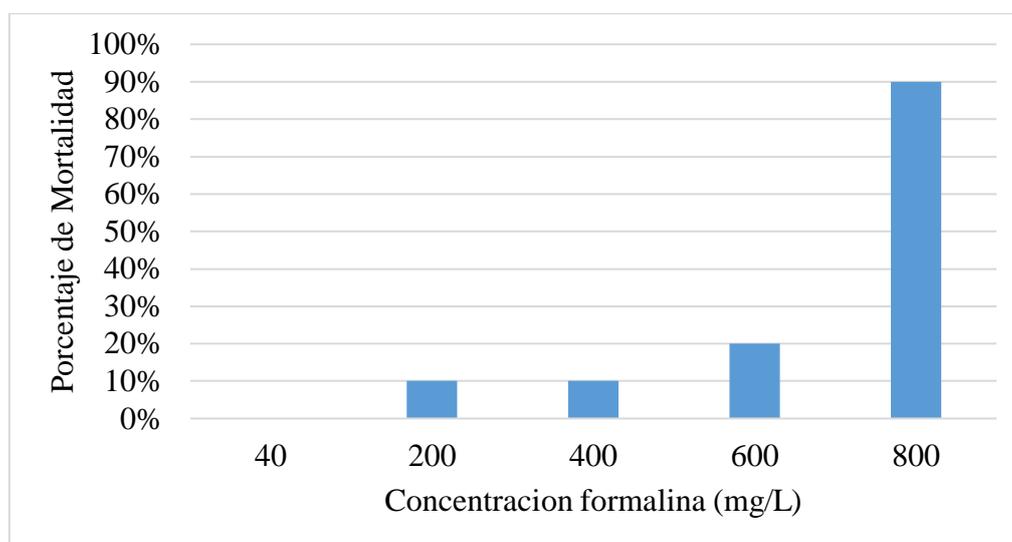
El último análisis estadístico consistió en comparar los porcentajes de supervivencia obtenidos en las dos pruebas de estrés. En este caso, primero se verificó el supuesto de normalidad y homogeneidad de varianzas, mediante las pruebas de Anderson Darling y Bartlett, respectivamente. En caso se cumplieran los supuestos se ejecutó la prueba de T – Student para observar si hubo diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, en caso contrario se utilizó la prueba de Mann Whitney para determinar si hubo diferencias significativas entre las medianas de los tratamientos.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Prueba preliminar de estrés por exposición a formalina

En la Figura 9 se presenta el porcentaje de mortalidad de las PL<sub>s</sub> correspondiente a la media de tres repeticiones. La mortalidad inició a partir de 200 mg/L y fue aumentando a mayores concentraciones, hasta alcanzar un 90 por ciento a 2000 mg/L.

Los valores obtenidos fueron similares a estudios previos descritos en la Tabla 3, en los cuales, la mortalidad se registró a partir de concentraciones superiores a 100 mg/L.



**Figura 9.** Porcentaje de mortalidad de PL<sub>s</sub> de *M. rosenbergii* correspondiente a la media de tres repeticiones

La CL<sub>50-1h</sub> obtenida mediante el método de Probit fue de 648,238 mg/L (Tabla 13); por otro lado, la concentración inocua fue de 64,82 mg/L, calculada según el factor de aplicación (10 por ciento de la CL<sub>50</sub>) propuesto por Sprague (1971).

Estos dos valores sirvieron para delimitar la concentración utilizada en la prueba de estrés definitiva; la cual fue mayor a 64,82 mg/L y menor a 648,2 mg/L.

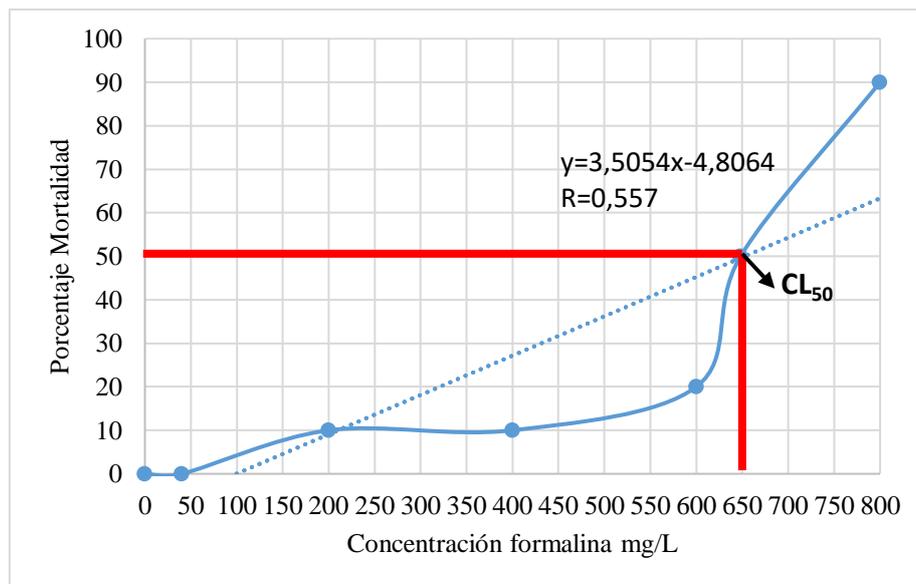
**Tabla 13: Porcentaje de mortalidad de PLs después de la prueba preliminar de exposición a formalina**

Concentración de formalina (mg/L)	Tiempo de exposición 1 hora
Cero	0
40	0
200	10
400	10
600	20
800	90
CL <sub>50</sub>	648,238

Kitsawat (1997) reporta una CL<sub>50-1h</sub> de 178 mg/L para Zoea 11 de camarón *Macrobrachium rosenbergii*. Dicho valor es menor al obtenido en el presente experimento (648,238 mg/L), debido a la diferencia en la etapa de desarrollo de la especie.

Los camarones utilizados en la prueba de estrés preliminar, se encontraban en estadio postlarval y habían pasado por un proceso previo de aclimatación a agua dulce; en cambio, los organismos del otro estudio, estaban en el último estadio larval, motivo por el cual, fueron menos resistentes al agente estresante (Magallon Barajas *et al.*, 2006).

En la Figura 10 se grafica la curva dosis-respuesta de las postlarvas frente a la exposición a formalina, resaltando la CL<sub>50-1h</sub> obtenida.



**Figura 10.** Representación gráfica del cálculo de CL<sub>50-1h</sub> para formalina

Según la Tabla 14, el valor de la CL<sub>50-1h</sub> estuvo dentro de los límites de confianza. Este rango servirá para ubicar futuros valores de CL<sub>50-1h</sub> utilizando este tóxico de referencia en postlarvas de la misma especie.

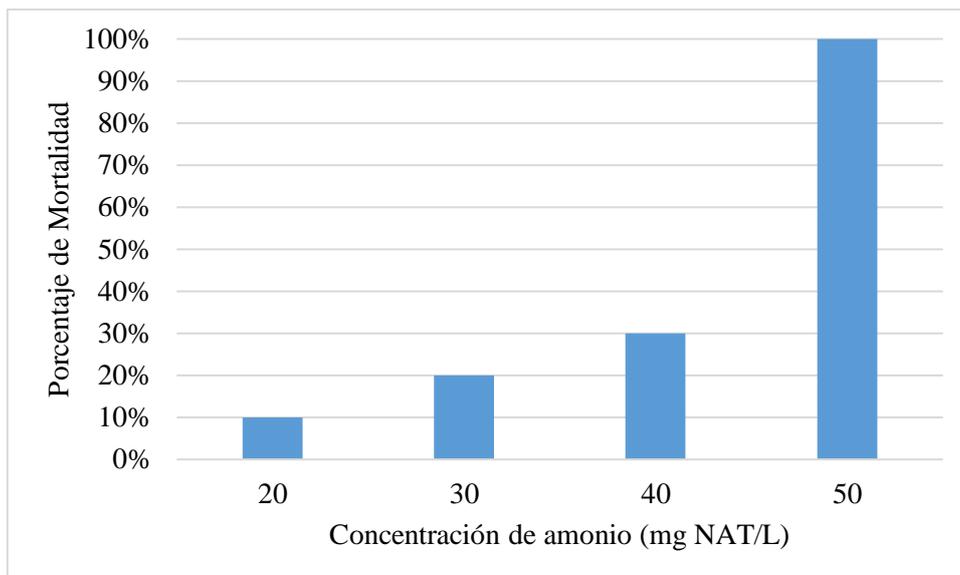
**Tabla 14: Límites de confianza del CL<sub>50-1h</sub> formalina**

CL <sub>50</sub>	648,238 mg/L
LS	710,924 mg/L
LI	543,458 mg/L
F (estadístico de Fisher)	2,52

#### 4.2. Prueba preliminar de estrés por exposición a amonio

En la Figura 11 se presenta el porcentaje de mortalidad de las PL<sub>s</sub> correspondiente a la media de tres repeticiones. La mortalidad inició a partir de 20 mg/L y fue aumentando a mayores concentraciones hasta alcanzar un 90 por ciento a 50 mg/L.

A la concentración de 50 mg/L, los organismos presentaron conductas anormales y ausencia de signos vitales en las primeras horas de exposición.



**Figura 11.** Porcentaje de mortalidad de PLs de *M. rosenbergii* correspondiente a la media de tres repeticiones

La  $CL_{50-24h}$  obtenida mediante el método de Probit fue de 38,551 mg NAT/L (Tabla 15); por otro lado, la concentración inocua fue de 3,855 mg NAT/L, calculada según el factor de aplicación (10 por ciento de la  $CL_{50}$ ) propuesto por Sprague (1971).

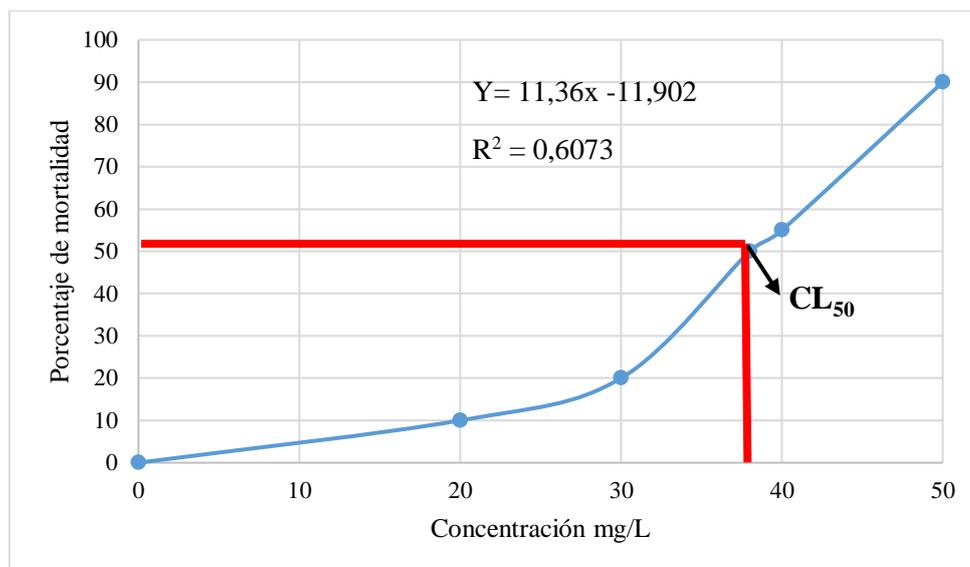
Estos dos valores sirvieron para delimitar la concentración utilizada en la prueba de estrés definitiva; la cual fue mayor a 3,8551 mg NAT/L y menor a 38,551mg NAT/L.

**Tabla 15: Porcentaje de mortalidad de PLs después de la prueba preliminar de exposición a amonio**

Concentración (mgNAT/l)	Tiempo de exposición 24 h
Cero	0
20	10
30	20
40	30
50	90
$CL_{50}$	38,551

La  $CL_{50-24h}$  obtenida, respondió a una temperatura de  $20^{\circ}C$  y pH 8,5. Mayores valores de estos parámetros de calidad de agua, representan una mayor toxicidad por amonio y por ende un menor valor de  $CL_{50}$ . (Straus 1991).

En la Figura 12 se grafica la curva dosis-respuesta de las postlarvas frente a la exposición a amonio; resaltando la  $CL_{50}$  mg/L obtenida.



**Figura 12.** Representación gráfica del cálculo de  $CL_{50-24h}$  para amonio

Según la Tabla 16, el valor de  $CL_{50-24h}$  se encuentra dentro de sus límites de confianza. Este rango servirá para ubicar futuros valores de  $CL_{50-24h}$  utilizando este tóxico de referencia en postlarvas de la misma especie.

**Tabla 16: Límites de confianza del  $CL_{50-24h}$  amonio**

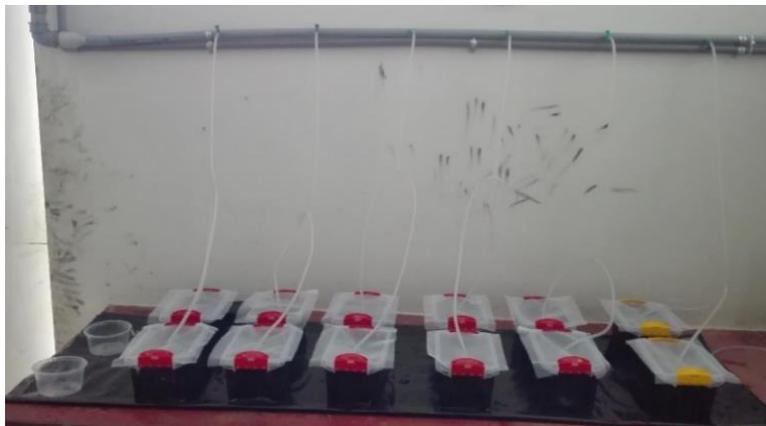
$CL_{50-24h}$	38,551 mg NAT/L
LS	46,613 mg NAT/L
LI	32,597 mg NAT/L
F (estadístico de Fisher)	3,02

### 4.3. Pruebas de estrés definitivas

Las pruebas de estrés por exposición a formalina (600 mg/L) y exposición a amonio (30 mg NAT/L) se realizaron en un corto periodo de tiempo, 01 hora y 24 horas, respectivamente, por lo que pertenecen a la clasificación de estrés agudo, establecida por Zacarías – Soto (1997).

Los organismos sometidos a tales concentraciones pasaron rápidamente por las tres fases de respuesta frente al agente estresante: alarma, resistencia y agotamiento. Finalmente, al no poder reestablecer su homeostasis, algunas postlarvas murieron, sobreviviendo solo las más resistentes (Aparicio, 2009; Puente, 2009; Zamora, 2012 y Sanmiguel *et al.*, 2018).

En las Figuras 13 y 14 se aprecia la distribución de las unidades experimentales en E1 y E2, respectivamente



**Figura 13.** Distribución de las unidades experimentales en E1



**Figura 14.** Distribución de unidades experimentales en E2

#### **4.4. Parámetros de calidad de agua durante la aplicación de pruebas de estrés**

Los parámetros de calidad de agua medidos durante la aplicación de las pruebas de estrés se presentan en la Tabla 17. Los resultados demuestran, que en todos los casos, los valores obtenidos se encuentran dentro del rango aceptable para el cultivo de postlarvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii*. Por lo tanto, se descarta que las conductas anormales y la mortalidad observada durante la experimentación, sea consecuencia de un mal manejo de la temperatura y pH.

**Tabla 17: Parámetros de calidad de agua durante la aplicación de pruebas de estrés**

Lugar de experimentación	E1						E2					
	Formalina			Amonio			Formalina			Amonio		
Prueba de estrés	1 h		0 h		12 h		16 h		20 h		24 h	
Tiempo exposición/ Parámetro	1 h	0 h	12 h	16 h	20 h	24 h	1 h	0 h	12 h	16 h	20 h	24 h
pH	8,08 ± 0,04	8,31	8,01	8,02	8,03	8,308	7,81 ± 0,01	8,38	8,3	8,29	8,3	8,28
T°C	28,18 ± 0,08	27,2	27,1	27,18	27,8	27,7	27,2 ± 0,07	27,3	25,56	26,46	27,82	26,41

Nota: Los datos corresponden a la media de diez repeticiones

En las Tablas 18 y 19 se presenta las concentraciones de amonio reales (mg NAT/L) obtenidas durante la prueba de exposición amonio en E1 y E2 respectivamente.

Asimismo, en las Tablas 20 y 21 se presenta las concentraciones de amoníaco obtenidas durante la prueba de exposición amonio en E1 y E2 respectivamente. Las concentraciones iniciales 4,07 y 4,25 mg NH<sub>3</sub>/L fueron disminuyendo con el paso de las horas.

Las mayores concentraciones de amoníaco (NH<sub>3</sub>/L) se registraron en E2, lugar donde también se presentaron los mayores valores de pH. Se conoce que, a medida que aumenta el pH, aumenta la toxicidad del amoníaco ya que el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> libera un ion de hidrógeno produciendo NH<sub>3</sub> (Allan *et al.*, 1990).

Para evaluar una posible pérdida de amonio por evaporación se realizó un ensayo con ausencia de organismos y se midió la concentración al inicio y después de 24 horas. Los resultados no presentaron variaciones, corroborando que no se produjo pérdida de amonio por evaporación.

**Tabla 18: Valor real de amonio (mg NAT/L) en E1**

Unidad experimental	Tiempo de exposición (horas)				
	0	12	16	20	24
T1	30	50	50	30	15
T2	30	50	50	30	15
T3	30	75	50	30	15
T4	30	75	50	30	15
T5	30	50	50	30	15
T6	30	50	50	30	15
T7	30	50	50	30	15
T8	30	75	50	30	15
T9	30	75	50	30	15
T10	30	50	50	30	15
PROMEDIO	30	60	50	30	15

**Tabla 19: Valor real de amonio (mg NAT/L) en E2**

Unidad experimental	Tiempo de exposición (horas)				
	0	12	16	20	24
T1	30	50	30	15	15
T2	30	50	30	15	15
T3	30	50	30	15	15
T4	30	50	30	15	15
T5	30	50	30	15	15
T6	30	50	30	15	15
T7	30	50	30	15	15
T8	30	50	30	15	15
T9	30	50	30	15	15
T10	30	50	30	15	15
PROMEDIO	30	50	30	15	15

**Tabla 20: Concentración de amoníaco (mg NH<sub>3</sub>/l) en E1**

Unidad experimental	Tiempo de exposición (horas)				
	0	12	16	20	24
T1	4,07	3,96	3,19	2,2	1,85
T2	4,07	3,93	3,24	2,21	1,89
T3	4,07	3,89	3,22	2,05	1,93
T4	4,07	3,95	3,59	2,08	1,93
T5	4,07	3,96	3,56	2,23	1,94
T6	4,07	3,96	3,19	2,2	1,85
T7	4,07	3,93	3,24	2,21	1,89
T8	4,07	3,89	3,22	2,05	1,93
T9	4,07	3,95	3,59	2,08	1,93
T10	4,07	3,96	3,56	2,23	1,94
PROMEDIO	4,07	3,938	3,36	2,149	1,908

**Tabla 21: Concentración de amoníaco (mg NH<sub>3</sub>/L) en E2**

Unidad	Tiempo de exposición (horas)				
	0	12	16	20	24
experimental					
T1	4,25	4,06	3,59	2,27	1,94
T2	4,25	4,01	3,55	2,23	1,99
T3	4,25	4,03	3,57	2,2	1,97
T4	4,25	4,04	3,59	2,21	1,97
T5	4,25	3,98	3,52	2,26	1,98
T6	4,25	4,06	3,59	2,27	1,94
T7	4,25	4,01	3,55	2,23	1,99
T8	4,25	4,03	3,57	2,2	1,97
T9	4,25	4,04	3,59	2,21	1,97
T10	4,25	3,98	3,52	2,26	1,98
PROMEDIO	4,25	4,024	3,56	2,234	1,97

#### **4.5. Respuestas conductuales y morfológicas de las postlarvas tras la aplicación de pruebas de estrés**

En las Tablas 22 y 23 se registra la presencia de respuestas conductuales y morfológicas observadas en las postlarvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii* durante y después de la aplicación de pruebas de estrés en E1 y E2, respectivamente.

Cabe mencionar que el orden en que se presentaron las respuestas conductuales anormales fue el siguiente: primero se observó el nado circular, seguido de la parálisis temporal y la contracción de la cola, posteriormente se produjo el hundimiento de las postlarvas y finalmente la muerte de las mismas, momento en el cual, se distinguió la respuesta morfológica: coloración blanquecina en todo el cuerpo.

**Tabla 22: Respuestas conductuales y morfológicas de PLs presentadas en E1**

Concentración	Respuesta conductual				Respuesta morfológica
	Nado Circular	Hundimiento	Parálisis temporal	Contracción de la cola	Coloración blanquecina
Control	-	-	-	-	-
600 mg formalina/L	+	+	+	+	+
30 mg NAT/L	+	+	+	+	+

Nota: + Sí presentó respuesta; - No presentó respuesta

**Tabla 23: Respuestas conductuales y morfológicas de PL presentadas en E2**

Concentración	Respuesta conductual				Respuesta morfológica
	Nado Circular	Hundimiento	Parálisis temporal	Contracción de la cola	Coloración blanquecina
Control	-	-	-	-	-
600 mg formalina/L	+	+	+	+	+
30 mg NAT/L	+	+	+	+	+

Nota: + Sí presentó respuesta; - No presentó respuesta

De acuerdo a los datos registrados, en ambas pruebas de estrés, se observó la presencia de todas las conductas anormales y el cambio de coloración descritos anteriormente.

En otras experiencias, como las de Vives (2016), las postlarvas de *Macrobrachium rosenbergii* expuestas al plaguicida organofosforado metamidofos (nombre comercial: Stermin), no registraron contracción de la cola como respuesta conductual, pero sí, la presencia de parálisis en el cuerpo, saltos esporádicos fuera del agua, nado lento y discontinuo, entre otras conductas anormales similares a las obtenidas en el presente experimento.

En las Tablas 24 y 25, se presenta el número de postlarvas que presentaron contracción de la cola, correspondiente a diez unidades experimentales. Las desviaciones estándar obtenidas en todas las pruebas fueron menores a la unidad, lo que significa que las repeticiones tuvieron una distribución homogénea.

**Tabla 24: Número de PLs con presencia de contracción de la cola tras aplicación de pruebas de estrés en E1**

PL	N° inicial PL <sub>s</sub>	Formalina	Amonio
T1	100	30	30
T2	100	40	40
T3	100	30	40
T4	100	40	50
T5	100	20	30
T6	100	20	20
T7	100	30	20
T8	100	30	30
T9	100	20	30
T10	100	30	20
PROM	-	30	30
DESV. STA	-	0,738	0,994

**Tabla 25: Número de PL<sub>s</sub> que manifestaron la contracción de la cola tras ser sometidas a pruebas de estrés de exposición a la formalina y a amonio en E2**

PL	N° inicial PL <sub>s</sub>	Formalina	Amonio
T1	100	30	40
T2	100	30	40
T3	100	40	30
T4	100	50	30
T5	100	50	40
T6	100	40	30
T7	100	40	40
T8	100	30	60
T9	100	40	40
T10	100	40	30
PROM	-	40	40
DESV. STA	-	0,738	0,919

La diferencia entre la cantidad de PL<sub>s</sub> de camarón *Macrobrachium rosenbergii* que presentaron contracción de la cola en la prueba de estrés por exposición a formalina y a

amonio no fue significativa ( $p > 0,05$ ). En base a ello, se puede afirmar que ambas pruebas de estrés, con condiciones abióticas similares (pH y T°C), producen la misma cantidad de postlarvas con contracción de la cola, tanto para las provenientes de camaronera Las Palmas como las de Aqua Prawn.

En la Figura 15 se muestra una postlarva de camarón *Macrobrachium rosenbergii* con presencia de contracción de la cola.



**Figura 15.** Postlarva de *Macrobrachium rosenbergii* presentando contracción de la cola tras la aplicación de las pruebas de estrés

De acuerdo a la literatura revisada, se conoce que el Sistema Nervioso Autónomo (SNA) es el responsable de la respuesta inmediata frente a una disrupción de la homeostasis o amenaza al bienestar del individuo.

La exposición a agentes estresantes como formalina y amonio, conlleva a la activación de neuronas pre-ganglionares simpáticas y desde allí, mediante la acción de la noradrenalina, se estimulan los diferentes órganos efectores que aumentan la producción de adrenalina. Como consecuencia se incrementa el flujo de sangre al sistema nervioso central y al sistema músculo esquelético, cuyos órganos deberán coordinar una respuesta efectiva para controlar al agresor percibido (Koscinczuk, 2014).

En el camarón *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a formalina/ amonio, la reacción de alarma mencionada se reflejó en el nado en círculos y la contracción de la cola

demostrando un comportamiento de “escape”, cuyo objetivo es mejorar el aporte de sangre oxigenada al cerebro y al sistema músculo-esquelético.

Este procedimiento tiene un alto costo energético; cuando falta O<sub>2</sub>, a causa de la actividad muscular intensa, se activa el metabolismo anaerobio mediante el cual se genera ATP y lactato. Por este motivo, cuando se activa el SNA también se produce la estimulación del eje Hipotálamo Pituitario Adrenal (HPA), asegurando así el aporte adicional de energía mediante la movilización de glucosa. Esta fuente de energía adicional permitiría un trabajo más eficiente de las células, reforzando y mejorando la respuesta inicial que había comenzado con la activación del sistema simpático.

En crustáceos, con la estimulación del eje HPA se produce la liberación de la HHc (hormona hiperglucémica de crustáceos) que actúa para satisfacer la creciente demanda de energía en pro de regular la homeostásis del organismo (Zamora, 2012 y Aparicio, 2009).

Como el estímulo estresante continúa, aumentan los niveles de lactato por la activación del mecanismo anaeróbico, que a su vez intensifica la liberación de HHc, promoviendo la conversión del glucógeno en glucosa. Sin embargo, la alta concentración de la glucosa inhibe la liberación de HHc por retroalimentación negativa (Janaína, 2016).

En consecuencia, se disminuye la cantidad de energía para cualquier proceso conductual y fisiológico (osmorregulación), por lo que la postlarva reacciona disminuyendo su actividad, hasta el punto de quedar paralizada en la columna de agua hasta hundirse.

Finalmente, debido a que las concentraciones de los tóxicos en las pruebas de estrés fueron elevadas, era necesaria una gran cantidad de oxígeno para su eliminación; sin embargo, al alterarse la osmorregulación y en el equilibrio ácido base, el flujo de agua a través de las branquias se restringe, generando un estrés respiratorio y la posterior muerte de las postlarvas caracterizado por la ausencia de signos vitales y el cambio de coloración.

Las postlarvas que sobrevivieron demuestran que los modos de captación y eliminación de desechos nitrogenados y sustancias tóxicas varían, ya que dependen de su capacidad para resistir la absorción y eliminar efectivamente estos contaminantes de su interior (Camargo y Alonso, 2007)

En el estudio de Vives (2016), los derivados organofosforados (OPs) con los que trabajó, inhibieron la enzima acetilcolinesterasa (AChE) acarreado hiperestimulación colinérgica, daños irreversibles y muerte. Esta enzima, presente en el sistema nervioso central y periférico, es reconocida como la principal unidad funcional, ya que es responsable de la finalización de la transmisión de los impulsos nerviosos mediante el neurotransmisor acetilcolina (ACh) (Cavalcanti *et al.*, 2016).

Los agrotóxicos organofosforados promovieron la fosforilación; de esta forma, hubo acumulación de acetilcolina en los empalmes nerviosos, y por ende, la propagación de impulsos eléctricos, desencadenando un proceso de parálisis, miosis, salivación, broncorrea, broncoconstricción, fasciculación, debilidad muscular y convulsiones, lo que consecuentemente provocó la muerte del organismo por asfixia (Cavalcanti *et al.*, 2016).

#### **4.6. Supervivencia de las postlarvas frente a pruebas de estrés**

En las Tabla 26 y 27 se registra la supervivencia obtenida tras la aplicación de la prueba de estrés por exposición a la formalina en E1 y E2, respectivamente. Los valores obtenidos en ambos lugares de experimentación, no se ajustaron a una distribución normal ( $p < 0,05$ ), pero sí tuvieron una distribución homogénea por presentar una desviación estándar menor a la unidad.

**Tabla 26: Supervivencia tras prueba de estrés por exposición a formalina en E1**

Unidad experimental	N° inicial de PL <sub>s</sub>	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)
Control 1	10	10	100
Control 2	10	10	100
T1	10	7	70
T2	10	6	60
T3	10	7	70
T4	10	6	60
T5	10	8	80
T6	10	8	80
T7	10	7	70
T8	10	7	70
T9	10	8	80
T10	10	7	70
Total	120	71	-
Desviación estándar	-	0,738	0,738
Promedio	-	-	71

**Tabla 27: Supervivencia tras prueba de estrés por exposición a formalina en E2**

Unidad experimental	N° inicial de PL <sub>s</sub>	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)
Control 1	10	10	100
Control 2	10	10	100
T1	10	7	70
T2	10	7	70
T3	10	6	60
T4	10	5	50
T5	10	5	50
T6	10	6	60
T7	10	6	60
T8	10	7	70
T9	10	6	60
T10	10	6	60
Total	120	61	-
Desviación estándar	-	0,738	0,738
Promedio	-	-	61

Asimismo, en las Tabla 28 y 29 se registra la supervivencia obtenida tras la aplicación de la prueba de estrés por exposición a amonio en E1 y E2, respectivamente. En E1, los valores obtenidos se ajustaron a una distribución normal ( $p > 0,05$ ); mientras que, en E2 sucedió lo contrario ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, en ambos lugares de experimentación, las desviaciones estándar fueron menores a la unidad, demostrando que los datos se distribuyeron homogéneamente.

**Tabla 28: Supervivencia de PL<sub>s</sub> tras aplicación de prueba de estrés por exposición a amonio (30 mg NAT/L) en E1**

Unidad experimental	N° inicial de PL <sub>s</sub>	Tiempo de exposición (horas)									
		0		12		16		20		24	
		N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)
Control 1	10	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
Control 2	10	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
T1	10	0	0	8	80	8	80	7	70	7	70
T2	10	0	0	7	70	7	70	7	70	6	60
T3	10	0	0	8	80	8	80	6	60	6	60
T4	10	0	0	8	80	7	70	7	70	5	50
T5	10	0	0	9	90	9	90	8	80	7	70
T6	10	0	0	10	100	9	90	8	80	8	80
T7	10	0	0	9	90	9	90	8	80	8	80
T8	10	0	0	8	80	7	70	7	70	7	70
T9	10	0	0	9	90	9	90	8	80	7	70
T10	10	0	0	10	100	9	90	9	90	8	80
Total	120	0	-	86	-	82	-	75	-	69	-
Des estándar	-	0	0	0,966	0,966	0,919	0,919	0,850	0,850	0,994	0,994
Promedio	-	-	0	-	86	-	82	-	75	-	69

**Tabla 29: Supervivencia de PL<sub>s</sub> tras aplicación de prueba de estrés por exposición a amonio (30 mg NAT/L) en E2**

Unidad experimental	N° inicial de PL <sub>s</sub>	Tiempo de exposición (horas)									
		0		12		16		20		24	
		N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)	N° PL <sub>s</sub> vivas	Porcentaje Supervivencia (%)
Control 1	10	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
Control 2	10	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
T1	10	0	0	9	90	9	90	9	90	6	60
T2	10	0	0	9	90	7	70	6	60	6	60
T3	10	0	0	8	80	8	80	8	80	7	70
T4	10	0	0	8	80	8	80	8	80	7	70
T5	10	0	0	8	80	8	80	8	80	6	60
T6	10	0	0	9	90	9	90	8	80	7	70
T7	10	0	0	9	90	8	80	8	80	6	60
T8	10	0	0	8	80	8	80	7	70	4	40
T9	10	0	0	10	100	8	80	6	60	6	60
T10	10	0	0	9	90	9	90	8	80	7	70
Total	120	0	-	87	-	82	-	76	-	62	-
Des estándar	-	0	0	0,675	0,675	0,632	0,632	0,966	0,966	0,919	0,919
Promedio	-	-	0	-	87	-	82	-	76	-	62

En la Tabla 30 se registra los porcentajes de supervivencia promedios de diez repeticiones, obtenidos tras la aplicación de pruebas de estrés en E1 y E2, respectivamente. En todos los casos, se demostró que existen evidencias estadísticamente suficientes para validar la buena calidad de las postlarvas de *Macrobrachium rosenbergii*, ya que los resultados fueron mayores al 60 por ciento.

Para el caso de este estudio, se decidió considerar el porcentaje de supervivencia mayor al 60 por ciento, como criterio de calidad, ya que las concentraciones utilizadas en las pruebas de estrés han sido altas, lo que representa un mayor esfuerzo para las postlarvas y pone a prueba su capacidad de osmorregulación y su condición para tolerar condiciones ambientales adversas.

No obstante, otros autores, que han realizados pruebas de calidad en postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, señalan que la supervivencia frente a pruebas de estrés de salinidad, debe ser mayor al 80 por ciento, del mismo modo, Anaya (2005) y Villalon (1991) sugieren supervivencias por encima del 70 por ciento.

Supervivencias a las pruebas de estrés inferiores a 60 por ciento, tienen una probabilidad considerable de que la supervivencia en la etapa de nursery sea inferior a la óptima 65% - 75%, lo que significa problemas en el cultivo Villalon (1991). Ante esta situación se debe brindar a los laboratorios la opción de mejorar la alimentación para compensar probables deficiencias nutricionales, pues es sabido que el aspecto nutricional también juega un rol importante en la reducción de la mortalidad y en la mala calidad de las postlarvas, especialmente en la constitución bioquímica-nutricional, lo que les permite tener diferentes grados de resistencia a condiciones adversas (Calderon, 1993).

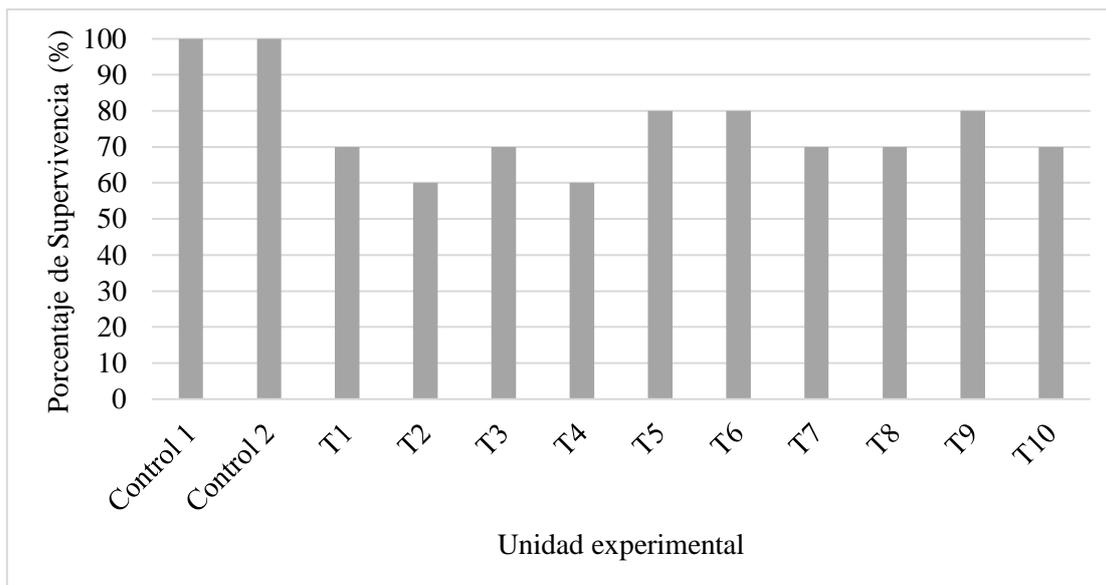
Por otro lado, las postlarvas de los grupos control (0 mg/L) mantuvieron el 100 por ciento de Supervivencia (Figura 24) y presentaron signos normales de comportamiento, como búsqueda de alimento, lucha territorial, desplazamiento en toda la columna de agua y reacción rápida a los estímulos mecánicos brindados. Con ello, se descarta que la muerte se haya debido a no tener controladas las variables fisicoquímicas del agua.

**Tabla 30: Porcentaje de supervivencia promedio tras aplicación de pruebas de estrés**

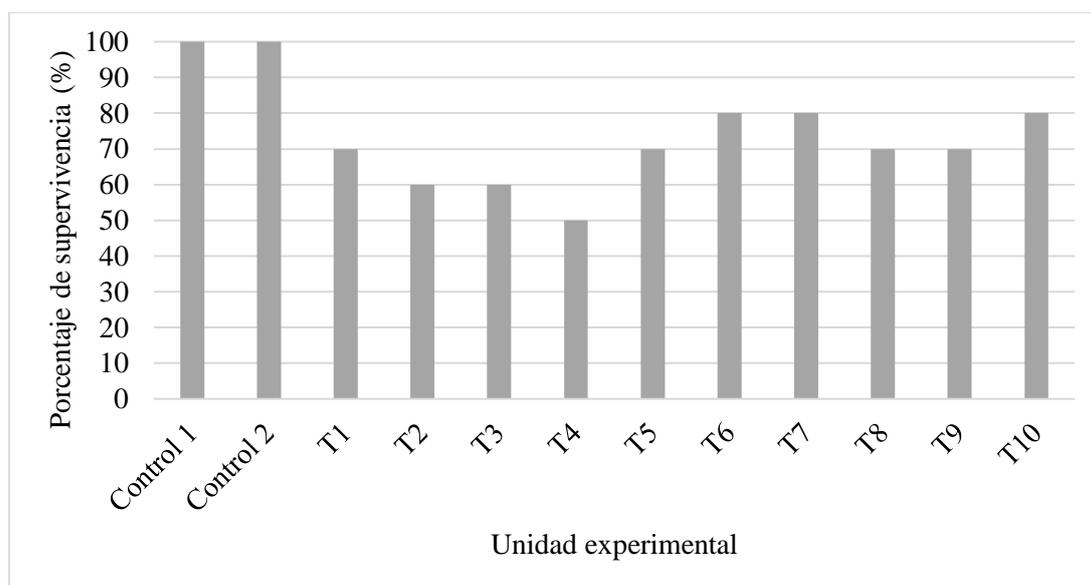
Lugar de experimentación	E1						E2					
	0 h	1 h	12 h	16 h	20 h	24 h	0 h	1 h	12 h	16 h	20 h	24 h
Controles	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Prueba de estrés de formalina	100	71	-	-	-	-	100	61	-	-	-	-
Prueba de estrés de amonio	100	100	86	82	75	69	100	100	87	82	76	62

#### 4.7. Comparación de la supervivencia obtenida en las pruebas de estrés

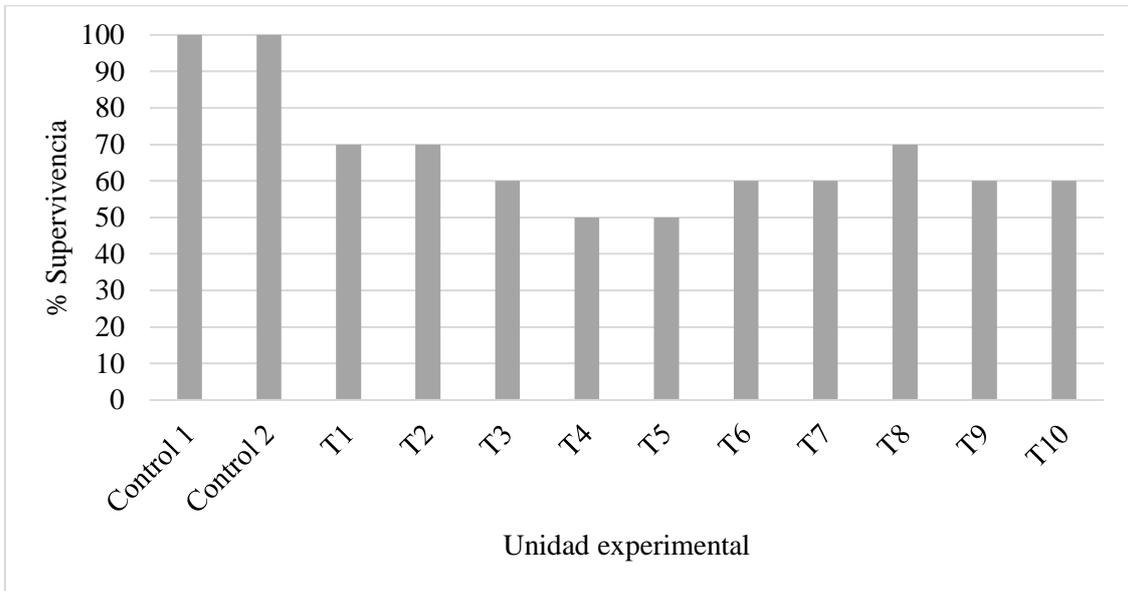
En las Figuras 15 y 16, se grafica la distribución de la supervivencia en las unidades experimentales, después de la aplicación de las pruebas de estrés de formalina y amonio en E1 y E2, respectivamente.



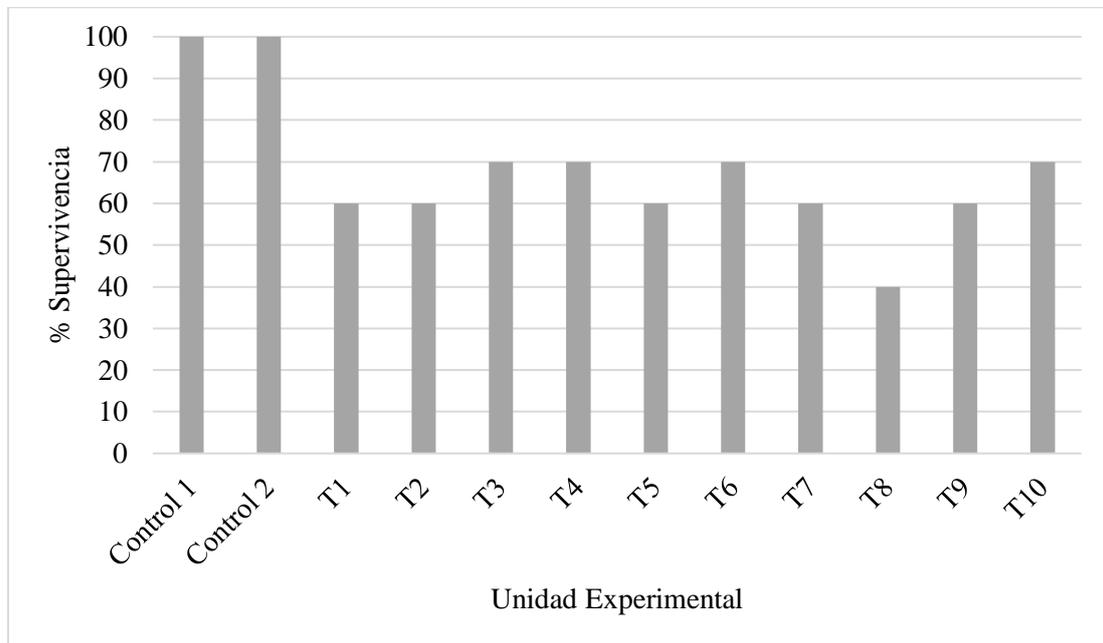
**Figura 16.** Supervivencias de PLs obtenida tras la aplicación de prueba de estrés por exposición a formalina en E1



**Figura 17.** Supervivencia de PL<sub>s</sub> obtenida tras la aplicación de prueba de estrés por exposición a amonio en E1



**Figura 18.** Supervivencias de PL<sub>s</sub> obtenida tras la aplicación de la pruebas de estrés por exposición a formalina en E2



**Figura 19.** Supervivencia de PL<sub>s</sub> obtenida tras la aplicación de las pruebas de estrés por exposición a amonio en E2

Como ya se mencionó anteriormente, en E1 se obtuvo una supervivencia promedio de 71 por ciento para la prueba de exposición a formalina y 69 por ciento para la prueba de exposición a amonio. Asimismo, en E2, la supervivencia promedio fue 61 por ciento tras la exposición a formalina y 62 por ciento tras la exposición a amonio.

En ambos lugares de experimentación, la supervivencia obtenida tras la prueba de estrés por exposición a formalina no fue estadísticamente diferente a la supervivencia de la prueba por exposición a amonio ( $p > 0,05$ ).

En base a los resultados mencionados, se valida la posibilidad de aplicar indistintamente una de las dos pruebas, para evaluar la calidad postlarval de camarón *Macrobrachium rosenbergii*, ya que ambas obtienen resultados iguales.

## V. CONCLUSIONES

1. Se evaluó la calidad de las postlarvas de camarón *Macrobrachium rosenbergii* producidas en dos ecloseries comerciales, mediante la aplicación de pruebas de estrés de exposición a formalina y a amonio, empleando un protocolo descrito en el texto.
2. La prueba de exposición a amonio, permitió evaluar la buena calidad de las PL<sub>s</sub> en ambas ecloseries al obtenerse porcentajes de supervivencia promedio de 69 por ciento y 62 por ciento en E1 y E2, respectivamente.
3. La prueba de exposición a formalina, permitió evaluar la buena calidad de las PL<sub>s</sub> en ambas ecloseries al obtenerse porcentajes de supervivencia promedio de 71 por ciento en la experimentación en la E1 y 61 por ciento, en la E2.
4. Las respuestas conductuales de las postlarvas de *Macrobrachium rosenbergii*, tras la exposición a los agentes estresantes: formalina y amonio fueron: nado circular, contracción de la cola, parálisis temporal, hundimiento y la respuesta morfológica fue coloración blanquecina del cuerpo.
5. Las pruebas de estrés de exposición a formalina y a amonio, en base a la respuesta conductual: contracción de la cola y a la supervivencia, no presentaron diferencias estadísticamente significativas, por lo que se concluye que ambas pruebas pueden realizarse indistintamente en la evaluación de la calidad de postlarvas de *Macrobrachium rosenbergii*.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda adaptar las condiciones experimentales para evaluar la calidad postlarval mediante pruebas de estrés crónico.
- Se recomienda evaluar las condiciones nutricionales de las postlarvas y su relación con la calidad de las mismas.
- Para próximas evaluaciones se recomienda realizar un diagnóstico hemocitario cuyos resultados sirvan como indicador del estado fisiológico del animal; con lo cual, se tendría un mayor sustento sobre la calidad de las postlarvas.
- Para evaluaciones siguientes se recomienda realizar una evaluación histopatológica de los tejidos branquiales, para validar los efectos bioquímicos y fisiológicos adversos.
- Se recomienda, regular la realización de pruebas de estrés a través de un certificado de calidad, proporcionado por la eclosería ejecutora, el mismo que debe ser fiscalizado por entidades acuícolas.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez, L y Sánchez, J. (2012). Formalina: características y mecanismos de control ante la exposición del personal en los servicios de anatomía patológica a nivel hospitalario (en línea). *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica LXIX* (602) 235-339. Consultado 10 oct 2018. Disponible en <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/602/art14.pdf>
2. Anaya, R (2005). Cultivo de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, Boone (1931), en sistema cerrado a alta densidad (en línea). (Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior De Ensenada). Baja California, México. Consultado 12 Jun 2019. Disponible en <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/1144/1/167251.pdf>
3. Aparicio – Simon, B. (2009). Respuesta neuroendocrina y metabólica del estrés por manipulación e hipoxia en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). (Tesis de doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste). La Paz B.C.S. México.
4. Armstrong *et al.* (1978). Interaction of ionized and un-ionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii*. Universidad de California. *Biological Bulletin*, Vol. 154, No. 1, p. 15-31.
5. Barbieri, E. (2007). Use of oxygen consumption and ammonium excretion to evaluate the sublethal toxicity of cadmium and zinc on *Litopenaeus schmitti*. *Water Environ Res*; 79, p. 461-466.

6. Burbano, E. (2014). Supervivencia de postlarvas de camarón (*Litopenaeus vannamei*) sometidas a la prueba de estrés osmótico y su relación con el estado de la muda (en línea). (Tesis de ingeniería, Universidad de Nariño). Pasto, Colombia 75 p. Consultado 18 set 2018. Disponible en <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/90040.pdf>
7. Camargo, J.A. y Alonso, A. (2007). Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático.
8. Carvajal, J y Sánchez, L. (2013). Diagnóstico y predicción del hábitat en la camaronicultura (en línea). Instituto Politécnico Nacional, México. Consultado 10 mar 2019. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/cys/v17n3/v17n3a14.pdf>
9. Castillo-Blasco, C; Lagos, M y Cáceres, C. (2009). Osmoregulación y equilibrio ácido-base en el crustáceo *Neotrypaea uncinata* (Milne Edwards, 1837) (Decapoda: Thalassinidae): consecuencias del parasitismo por *Ionella agassizi* (Bonnier, 1900) (Isopoda: Bopyridae). Universidad Católica de la Santísima Concepción Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(3): 715-724. [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&ypid=S0718-19572009000300017](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&ypid=S0718-19572009000300017)
10. Catastro Acuícola Nacional. (2019). Reporte Consolidado de Derechos Otorgados (en línea). Consultado 03 jun 2019. Disponible en <http://catastroacuicola.produce.gob.pe/web/>
11. Cavalcanti, L., Aguiar, A., Lima, J., Lima, A. (2016). Intoxicação por Organofosforados: Tratamento e Metodologias Analíticas Empregadas na Avaliação da Reativação e Inibição da Acetilcolinesterase (en línea). Revista Virtual Química 8 (3) p. 739-766. Consultado 11 Jun 2019. Disponible en <http://rvq.s bq.org.br/imagebank/pdf/v8n3a15.pdf>
12. Cavalli, R; Vanden Berghe, E; Lavens, P; Thuy, N; Wille, M y Sorgeloos, P. (2000). Ammonia toxicity as a criterion for the evaluation of larval quality in the prawn *Macrobrachium*

*rosenbergii* (en línea). Comparative Biochemistry and Physiology Part C 125. p. 333–343. Consultado 18 set 2018. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0742841399001139>

13. Chang, C., Tsai, W., Jiang, J., y Cheng, W. (2015). The acute modulation of norepinephrine on immune responses and genes expressions via adrenergic receptors in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Fish y Shellfish Immunology. Volume 46, Issue 2. p. 459-467.
14. Chih y Chien. (2003). The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. National Taiwan Ocean University. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 297, p. 107– 118.
15. Cuéllar-Anjel *et al.* (2010). Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo del camarón blanco *Penaeus vannamei*. OIRSA-OSPESCA, Panamá. 132 p.
16. Cuéllar-Anjel, J. (2015). Enfermedades tóxicas y carenciales en camarones marinos. Center for Food Security and Public Health. 12 p.
17. Díaz *et al.* (1993). Temperatura preferida y óptima para el crecimiento de postlarvas y juveniles de *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea: Palaemonidae) (en línea). Universidad Nacional Autónoma de México. 3 p. Consultado 10 oct 2018. Disponible en <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/23325/23622>
18. Díaz, F; Bückle, F y Reichelt, A. (1993). Osmorregulación y campo de crecimiento de *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea: Palaemonidae). Rev. Biol.. Trop., 41 (3). p. 85-59
19. Emerson, K.; Russo, R.; Lund, R & Thurston, R. (1975). Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. J. Fish. Res. Board Can. 32: 2379–238.

20. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Italia). (2009). Programa de información de especies acuáticas - *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) (en línea). Consultado 08 oct. 2018. Disponible en [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Macrobrachium\\_rosenbergii/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Macrobrachium_rosenbergii/es)
21. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Italia). (2018). Species catalogue. Shrimps and Prawns of the World. An annotated catalogue of species of interest to fisheries, 271 p.
22. Frías, M y Páez, F. (2000). Toxicidad de los Compuestos del Nitrógeno en Camarones (en línea). Universidad Autónoma de Sinaloa. México. p. 253 – 276. Consultado 01 abr 2019. Disponible en [http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Camaron/Toxicidad por ciento20de por ciento20los por ciento20compuestos por ciento20del por ciento20nitrogeno por ciento20en por ciento20camarones.pdf](http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Camaron/Toxicidad%20por%20de%20por%20los%20por%20compuestos%20del%20del%20nitrogeno%20por%20en%20por%20camarones.pdf)
23. Giesecker, C.; Serfling, S. & Reimschuessel, R. (2006). Formalin treatment to reduce mortality associated with *Saprolegnia parasitica* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (en línea. Revista Aquaculture 253: 120-129. Disponible en <https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.07.039>
24. Hernandez, R. (2001). Indicadores Bioquímicos – Fisiológicos de calidad larvaria y postlarvaria de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (Tesis de maestría, Centro de Investigaciones Biológicas Noroeste) La Paz, México. 101 p.
25. HSDB – Hazard Substances Data Base – Formaldehyde.
26. Hose, J y Lightner, D. (1980). Absence of formaldehyde residues in penaeid shrimp exposed to formalin. Aquaculture, 21. p. 197-201

27. ITIS (Integrated Taxonomic Information System, USA). Taxonomic of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) (en línea). Consultado 10 oct 2018. Disponible en [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSNysearch\\_value=96343#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSNysearch_value=96343#null)
28. Janaína, A. (2016). A utilização de anestésicos na sedação e transporte de juvenis do camarão branco *Litopenaeus vannamei*. Universidade Federal do Rio Grande. Brasil. 68 p.
29. Karplus, I. (2005). Social control of growth in *Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879): a review and prospects for future research. *Aquaculture Research*. p. 238–54.
30. Kaviraj A, Bhunia F, Saha NC. (2004). Toxicity of methanol to fish, crustacean, oligochaete worm, and aquatic ecosystem. *International Journal of Toxicology* 23 (1). p. 55–63.
31. Khasani, I., Lusiastuti, A. M., Zairin, M., & Alimuddin, A. (2017). Resistance to vibriosis, production performance and tolerance to stress of the selected giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Aquaculture Research*, 49(1), p. 273–281.
32. Kitchens, J.; Casner, R.; Edwards, D.; Haward, W. & Macri, B. (1976). Investigation of selected potencial environmental contaminants: Formaldehyde. Atlantic Research Corp. p.217.
33. Kitsawat, P. (1997). Acute toxicity of formalin to giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) (en línea). Sakchai Chuchot (King Mongkut's Institute of Technology Lat Krabang, Bangkok, Thailand. Disponible en <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=TH9620425>
34. Koscinczuk, P. (2014). Ambiente, adaptación y estrés. *Rev. vet.* 25 (1): 67-76
35. Kubilay, A. y Uluköy, G. (2002). The effects of acute stress on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Zoology*, 26(2). p. 249-254.

36. Kubitza, F. (2017). Producción segura en estanques y sus fundamentos I (en línea). Panorama da Acuicultura, 26 (154). Consultado 01 abr 2019. Disponible en [https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/acuicultura/publicaciones/\\_archivos//000000\\_De sarrollos por ciento20Acu por cientoC3 por cientoADcolas/170607\\_Producci por cientoC3 por cientoB3n por ciento20segura por ciento20en por ciento20estanques por ciento20y por ciento20sus por ciento20fundamentos.pdf](https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/acuicultura/publicaciones/_archivos//000000_De sarrollos por ciento20Acu por cientoC3 por cientoADcolas/170607_Producci por cientoC3 por cientoB3n por ciento20segura por ciento20en por ciento20estanques por ciento20y por ciento20sus por ciento20fundamentos.pdf)
37. Lobão, V. (1997). Camarao-da-malásia: Larvicultura. Brasil. 121 p.
38. Magee, B., Elwood R.W. (2013). Shock avoidance by discrimination learning in the shore crab (*Carcinus maenas*) is consistent with a key criterion for pain. J. Exp. Biol. 216, 353-358.
39. Maguiña, A. (2007). Efecto de la densidad de siembra y adición de substrato en el Crecimiento y la Supervivencia del “Camarón Gigante de Malasia” *Macrobrachium rosenbergii* en policultivo con “tilapia roja” *Oreochromis niloticus* (en línea). (Tesis de Biología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos). 126 p. Consultado 08 oct 2018. Disponible en [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/911/Maguina\\_ma.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/911/Maguina_ma.pdf?sequence=1)
40. Magallon Barajas, F. J., Servin Villegas, R., Portillo Clark, G. & Lopez Moreno, B. (2006). *Litopenaeus vannamei* (Boone) post-larval survival related to age, temperature, pH and ammonium concentration. Pages 492-499. The Authors Journal Compilation. Blackwell Publishing Ltd.
41. Méndez, D. (2002). Biodegradación Anaerobia de Compuestos Tóxicos en Aguas Residuales Industriales (en línea). (Tesis de doctorado, Universidad De Santiago De Compostela) Galicia, España. 230 p. Consultado 10 Jun 2019. Disponible en <http://www.usc.es/biogroup/sites/default/files/DiegoMendez.pdf>

42. Mendoza-Rodríguez, R. Toxicidad aguda del sulfato de cobre en postlarvas de camarón *cryphiops caementarius* (en línea). Universidad Nacional de Santa. Nuevo Chimbote, Ancash. Perú. Consultado 01 may 2019. Disponible en [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext ypid=S0004-05922009000100011](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext ypid=S0004-05922009000100011)
43. Moberg GP. (2000). Biological responses to stress: implications for animal welfare. In: The Biology of Animal Stress (Moberg GP, Mench JA, ed.), CABI Publishing, Oxford, p. 1-21.
44. Nandlal, S y Pickering, T. (2005). Freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming in Pacific Island countries. 40 p. Volume one. Hatchery operation. The University of the South Pacific.
45. New, M y Valenti, W. (2000). Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). FAO Fisheries Technical Paper No. 428. FAO, Rome, Italy. 212 p.
46. New, M. (2010). Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) (en línea). Consultado 20 oct 2018. Disponible en [http://www.fao.org/tempref/FI/CDrom/aquaculture/I1129m/file/es/es\\_giantriverprawn.htm](http://www.fao.org/tempref/FI/CDrom/aquaculture/I1129m/file/es/es_giantriverprawn.htm)
47. Páez - Osuna, F. (2001). Camaronicultura y Medio Ambiente. Instituto de Ciencias del mar y Limnología, Estación – Mazatlán. Universidad Nacional Autónoma de México. México. P. 271-298.
48. Ponce, G. (2008). Acondicionamiento de reproductores de camaron de agua dulce *Macrobrachium rosenbergii*, suministrando alimento natural (*Daphnia pulex*) comparado contra el método natural (en línea). Consultado 20 feb 2019. Disponible en <https://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3606/articulos-otros-temas-archivo/acondicionamiento-de-reproductores-de-camaron-de-agua-dulce-macrobrachium->

rosenbergii-suministrando-alimento-natural-daphnia-pulex-comparado-contra-el-metodo-tradicional.html

49. Pequeux, A. & Gilles, R. (1981). Na<sup>+</sup> fluxes across isolated perfused gills of the chinese crab *Eriocheir sinensis*. *Journal of Experimental Biology*, 92: 173-186.
50. Puente, E. (2009). Respuestas fisiológicas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, a condiciones oscilantes de oxígeno disuelto y temperatura. (Tesis de doctorado, Instituto Politécnico Nacional - Centro Interdisciplinario De Ciencias Marinas). La Paz, Bolivia. 175 p.
51. PRODUCE (Ministerio de la Producción, Perú). (2016). Anuario Estadístico Pesquero y Acuícola 2016.
52. Racotta, I. (2004). Criteria for assessing larval and postlarval quality of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). La Paz. México. *Revista Aquaculture* 233: 181–195
53. Rahman, M.; Wille, M.; Cavalli, R.; Sorgeloos, P & Clegg, J. (2003). Induced thermotolerance and stress resistance in larvae of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Aquaculture*. p. 569–579.
54. Sanmiguel, R; Plazas, F; Trujillo, D; Pérez, M; Peñuela, L y DiGiacinto, A. (2018). Requerimientos para la medición de indicadores de estrés invasivos y no invasivos en producción animal. *Rev Inv Vet Perú*. 29(1): p. 15-30
55. Schuler, D. (2008). Acute Toxicity of Ammonia and Nitrite to White Shrimp (*L. vannamei*) at Low Salinities (en línea). (Tesis de maestría, Instituto Politécnico de Virginia). Consultado 01 abr 2019. Disponible en <https://vtechworks.lib.vt.edu/bitstream/handle/10919/32453/SchulerThesis.pdf?sequence=3>

56. SEBRAE-ES (2005). Tecnologia de criação do camarão da malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) (en línea). Manual de carcinicultura de água doce. Consultado 10 may 2019. Disponible en [https://www.academia.edu/36114280/\\_TECNOLOGIA\\_DE\\_CRIA%C3%87%C3%83O\\_DO\\_CAMAR%C3%83O\\_DA\\_MAL%C3%81SIA\\_Macrobrachium\\_rosenbergii\\_MANUAL\\_DE\\_CARCINICULTURA\\_DE\\_%C3%81GUA\\_DOCE](https://www.academia.edu/36114280/_TECNOLOGIA_DE_CRIA%C3%87%C3%83O_DO_CAMAR%C3%83O_DA_MAL%C3%81SIA_Macrobrachium_rosenbergii_MANUAL_DE_CARCINICULTURA_DE_%C3%81GUA_DOCE)
57. Selye H. (1946). The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. J Clin Endocrinol Metabol 6: 117-230. doi: 10.1210/jcem-6-2-117
58. Sneddon LU. 2015. Pain in aquatic animals. J. Exp. Biol. 218, 967-976. Söderhäll, K., Smith, V.J. 1983. Separation of the haemocyte populations of *Carcinus maenus* and other marine decapods, and prophenoloxidase distribution. Dev. Comp. Immunol. p. 229–239.
59. SENAMHI (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú). (2018). (en línea, sitio web). Consultado 08 set.2018. Disponible en <https://www.senamhi.gob.pe/>
60. Sprague, J. (1971). Measurement of pollutant toxicity to fish. III. Sublethal effects and “safe” concentrations. Water Research. p. 245-266.
61. Straus, D.; Randall, H & Heinen, J. (1991). Toxicity of Un-ionized Ammonia and High pH to Post-larval and Juvenile Freshwater Shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. Department of Wildlife and Fisheries, Mississippi State University Journal of the World Aquaculture Society. 22 (2).
62. Subasinghe, R & Yusoff, F. (1993). Retention of formaldehyde in the tissues of two tropical fish species following exposure to therapeutic levels.

63. Thuy, T. (1999). Evaluation of short – term ammonia toxicity test as larval quality criteria using *Macrobrachium rosenbergii* as model species. (Tesis de maestría, Universidad de Ghent). p.88.
64. Union Européenne Des Médecins Spécialistes (UEMS) (2016) Formalin banning in Europe. Consultado 07 jun 2019. Disponible en: [https://www.uems.eu/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0005/39641/Draft-statement-Formalin-Banning-UEMSCouncil.pdf](https://www.uems.eu/__data/assets/pdf_file/0005/39641/Draft-statement-Formalin-Banning-UEMSCouncil.pdf)
65. Vega-Villasante, F.; Garcia, M.; Cortés, E.; Yamasaki, S.; ... Nolasco, H. (2014). Los camarones de agua dulce del género *Macrobrachium*: biología, ecología y explotación (en línea). Universidad de Guadalajara, p. 273 – 305. Consultado 20 oct. Disponible en [https://www.researchgate.net/publication/279292630\\_Los\\_camarones\\_de\\_agua\\_dulce\\_del\\_genero\\_Macrobrachium\\_biologia\\_ecologia\\_y\\_explotacion](https://www.researchgate.net/publication/279292630_Los_camarones_de_agua_dulce_del_genero_Macrobrachium_biologia_ecologia_y_explotacion)
66. Villalon, J.R., (1991). Practical Manual for Semi-intensive Commercial Production of Marine Shrimp. Texas A&M University Sea Grant Program, Galveston, TX, pp 103.
67. Vives, G. (2016). Toxicidad aguda del plaguicida Metamidofos sobre post larvas y juveniles del Camarón *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1989). (Tesis de biología, Universidad Nacional Agraria la Molina). Lima, Perú.. p. 93.
68. Weihrauch, D y Garrett, J. (2018). Ammonia excretion in aquatic invertebrates: new insights and questions. *Journal of Experimental Biology*.
69. Webster, S. (2015). G. Endocrinology of metabolism and water balance: Crustacea Hyperglycemic Hormone. *Physiology*, 4:36.
70. Wong, C y Wong, M. (2000). Morphological and biochemical changes in the gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure. *Aquatic Toxicol* 48: 517-527.

71. Zacarías-Soto, M.R. (1997). Histología del estómago, corazón, hígado y riñón de *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindacher, 1869), y sus modificaciones ante situaciones de estrés crónico. (Tesis de posgrado. U.A.B.C.S). La Paz, B.C.S. México. 74 p.
72. Zamora, S. (2012). Evaluación de la respuesta fisiológica y estatus energético del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, por efecto de distintos procedimientos de muestreo en cultivo intensivo. (Tesis de maestría Centro de Investigaciones biológicas del Noroeste, S.C) La Paz, Baja California Sur. 113 p.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1. Reporte de control de Recepción en E2

<b>Piscigranga : Camaronera Aqua Prawn</b>	
Fecha	03/12/18
<b>Parámetros de transporte</b>	
Tiempo de transporte	1,5 horas
O2 del agua de transporte	25,95 mg OD/l
pH del agua de transporte	8,05
Salinidad del agua de transporte	2 ‰
<b>Recepción</b>	
Tiempo de cosecha de PL <sub>s</sub>	30 días
Temperatura del agua de recepción	27°C
Salinidad del agua de recepción	0 ‰
Cantidad de PL <sub>s</sub>	500

### Anexo 2. Resultados de la prueba preliminar de exposición a la formalina

En la Tabla 31 se muestran el número de PL<sub>s</sub> muertas tras una hora de exposición a cinco concentraciones diferentes de formalina.

**Tabla 31: Número de PL<sub>s</sub> muertas tras la prueba de estrés preliminar de exposición a la formalina**

Concentración (mg/L)	N° PL <sub>s</sub> inicial	Repeticiones			Media ± Desv.Est
		R1	R2	R3	
0	10	0	0	0	0±0
40	10	0	0	0	0±0
200	10	1	2	1	1±0,6
400	10	1	2	1	1±0,6
600	10	2	2	1	2±0,6
800	10	10	9	9	9±0,6

### Anexo 3. Resultados de prueba preliminar de exposición a amonio

En la Tabla 32 se muestran el número de PL<sub>s</sub> muertas tras 24 horas de exposición a cuatro concentraciones diferentes de formalina.

**Tabla 32: Número de PL<sub>s</sub> muertas tras prueba de estrés preliminar de exposición a amonio**

Concentración (mg/L)	N° PL <sub>s</sub> inicial	Repeticiones			Media ± Desv.Est
		R1	R2	R3	
0	10	0	0	0	0±0
20	10	1	1	0	1±0
30	10	2	2	2	2±0,6
40	10	2	3	3	3±0,6
50	10	9	10	10	10±0,6

**Anexo 4. Registro de presencia de contracción de la cola en PLs de camarón *M. Rosenbergii* frente a prueba de amonio – E1**

Unidad muestral	No presenta deformidad	Presenta deformidad												
1	= 0	= 1	2	= 0	= 1	3	= 0	= 1	4	= 0	= 1	5	= 0	= 1
PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0	
PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0	
PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0	
PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0	
PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0	
PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6		1	PL 6	0	
PL 7	0		PL 7		1	PL 7		1	PL 7		1	PL 7	0	
PL 8		1												
PL 9		1												
PL 10		1												

Anexo 4 ... Continuación

Unidad muestral 6	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 7	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 8	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 9	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 10	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1
PL 1	0		PL 1	0										
PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0	
PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0	
PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0	
PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0	
PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0	
PL 7	0		PL 7	0		PL 7	0		PL 7	0		PL 7	0	
PL 8	0		PL 8	0		PL 8		1	PL 8		1	PL 8	0	
PL 9		1	PL 9		1									
PL 10		1	PL 10		1									

**Anexo 5. Registro de presencia de contracción de la cola en PLs de camarón *M. Rosenbergii* frente a prueba de formalina – E1**

Unidad muestral	No presenta deformidad	Presenta deformidad	Unidad muestral	No presenta deformidad	Presenta deformidad	Unidad muestral	No presenta deformidad	Presenta deformidad	Unidad muestral	No presenta deformidad	Presenta deformidad	Unidad muestral	No presenta deformidad	Presenta deformidad
1	= 0	= 1	2	= 0	= 1	3	= 0	= 1	4	= 0	= 1	5	= 0	= 1
PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0	
PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0	
PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0	
PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0	
PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0	
PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0	
PL 7	0		PL 7		1	PL 7	0		PL 7		1	PL 7	0	
PL 8		1	PL 8	0										
PL 9		1												
PL 10		1												

Continuación ...

Unidad muestral 6	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 7	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 8	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 9	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 10	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1
PL 1	0		PL 1	0										
PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0	
PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0	
PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0	
PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0	
PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0	
PL 7	0		PL 7	0		PL 7	0		PL 7	0		PL 7	0	
PL 8	0		PL 8		1	PL 8		1	PL 8	0		PL 8		1
PL 9		1	PL 9		1									
PL 10		1	PL 10		1									

**Anexo 6. Registro de presencia de contracción de la cola en PLs de camarón *M. Rosenbergii* frente a prueba de amonio – E2**

Unidad muestral	No presenta deformidad	Presenta deformidad												
1	= 0	= 1	2	= 0	= 1	3	= 0	= 1	4	= 0	= 1	5	= 0	= 1
PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0	
PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0	
PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0	
PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0	
PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0	
PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0	
PL 7		1	PL 7		1	PL 7	0		PL 7	0		PL 7		1
PL 8		1												
PL 9		1												
PL 10		1												

Continuación...

Unidad muestral 6	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 7	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 8	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 9	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 10	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1
PL 1	0		PL 1	0										
PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0	
PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0	
PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0	
PL 5	0		PL 5	0		PL 5		1	PL 5	0		PL 5	0	
PL 6	0		PL 6	0		PL 6		1	PL 6	0		PL 6	0	
PL 7	0		PL 7		1	PL 7		1	PL 7		1	PL 7	0	
PL 8		1	PL 8		1									
PL 9		1	PL 9		1									
PL 10		1	PL 10		1									

**Anexo 7. Registro de presencia de contracción de la cola en PLs de camarón *M. Rosenbergii* frente a prueba de formalina – E2**

Unidad muestral	No presenta deformidad	Presenta deformidad												
1	= 0	= 1	2	= 0	= 1	3	= 0	= 1	4	= 0	= 1	5	= 0	= 1
PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0		PL 1	0	
PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0	
PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0	
PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0	
PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0	
PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6		1	PL 6		1
PL 7	0		PL 7	0		PL 7		1	PL 7		1	PL 7		1
PL 8		1												
PL 9		1												
PL 10		1												

Continuación...

Unidad muestral 6	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 7	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 8	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 9	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1	Unidad muestral 10	No presenta deformidad = 0	Presenta deformidad = 1
PL 1	0		PL 1	0										
PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0		PL 2	0	
PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0		PL 3	0	
PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0		PL 4	0	
PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0		PL 5	0	
PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0		PL 6	0	
PL 7		1	PL 7		1	PL 7	0		PL 7		1	PL 7		1
PL 8		1	PL 8		1									
PL 9		1	PL 9		1									
PL 10		1	PL 10		1									

## Anexo 8. Resultados de análisis estadísticos

**Tabla 33: Prueba Chi – Cuadrado / Prueba de proporciones**

Comparación de Tratamientos	Ciudad	
	Lima	Tarapoto
Formalina vs Amonio	0.9093	0.7963

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

**Tabla 34: Test de Anderson Darling (Normalidad)**

Tratamiento	Ciudad	
	Lima	Tarapoto
Formalina	0.0265	0.0265
Amonio	0.0049	0.1300

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

**Tabla 35: Prueba de Signos – Formalina (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia mayor al 60 por ciento)**

Tratamiento	Ciudad	
	Lima	Tarapoto
Formalina	0.5000	0.0039

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

**Tabla 36: Prueba de Signos – Formalina (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia menor al 60 por ciento)**

Tratamiento	Ciudad	
	Lima	Tarapoto
Formalina	0.8125	1.0000

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

**Tabla 37: Prueba de Signos – Amonio / E2 ((Ho= mediana del porcentaje de supervivencia mayor al 60 por ciento)**

	Ciudad
Tratamiento	Lima
Amonio	0.1875

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

**Tabla 38: Prueba de Signos – Amonio / E2 (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia menor al 60 por ciento)**

	Ciudad
Tratamiento	Lima
Amonio	0.9687

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

**Tabla 39: Prueba t-student – Amonio / E1 (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia mayor al 60 por ciento)**

	Ciudad
Tratamiento	Tarapoto
Amonio	0.0094

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

**Tabla 40: Prueba t-student – Amonio / Tarapoto (Ho= mediana del porcentaje de supervivencia menor al 60 por ciento)**

	Ciudad
Tratamiento	Tarapoto
Amonio	0.9906

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

**Tabla 41. Prueba de Levene**

	Ciudad	
Tratamientos	Lima	Tarapoto
Formalina - Amonio	0.7222	0.4697

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

**Tabla 42: Prueba de Mann Whitney**

Comparación de Tratamientos	Ciudad	
	Lima	Tarapoto
Formalina vs Amonio	0.7056	0.7774

\*Los valores representan al p-valor obtenido al aplicar la prueba

## Anexo 9. Fotos sustentatorias de la experimentación



**Figura 20.** Observación de postlarvas en el microscopio



**Figura 21.** Recepción de postlarvas provenientes de camaronera Aqua Prawn



**Figura 22.** Envase de transporte de postlarvas provenientes de camaronera Aqua Prawn



**Figura 23.** Preparación de las unidades experimentales para la prueba de formalina en E2