

**Procedimientos técnicos para producción de
nauplios de la Empresa TEXCUMAR S.A., Ecuador**

Kleber Arturo Sánchez Cortez

**ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
Noviembre, 2006**

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

**Procedimientos técnicos para producción de
nauplios de la Empresa TEXCUMAR S.A., Ecuador**

Proyecto especial presentado como requisito parcial
para optar al título de Ingeniero Agrónomo
en Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Kleber Arturo Sánchez Cortez

Honduras
Noviembre, 2006

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Kleber Arturo Sánchez Cortez

Honduras
Noviembre, 2006

Procedimientos técnicos para producción de nauplios de la Empresa TEXTUMAR S.A., Ecuador

Presentado por
Kleber Arturo Sánchez Cortez

Aprobada:

Daniel Meyer, Ph.D.
Asesor Principal

Abelino Pitty, Ph. D
Director Interino Carrera Ciencia
y Producción Agropecuaria

Carla Garcés, M. Sc.
Asesor

George Pilz, Ph. D.
Decano Académico

John Jairo Hincapié, Ph.D.
Coordinador de Área Temática
Zootecnia

Kenneth L. Hoadley, D.B.A
Rector

.
.

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme y darme la sabiduría necesaria para poder realizar este trabajo.

A mis padres, por ser mi modelo de esfuerzo y trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la oportunidad de estar donde estoy y darme el don de la vida, por ayudarme, bendecirme y guiarme en esta etapa de mi carrera profesional.

A mis padres Kleber Arturo Sánchez M. y Eva Geoconda Cortez, por ser mi modelo a seguir y demostrarme todo su cariño y apoyo, darme la educación y siempre confiar en mí. Siempre estarán en mi corazón.

A mis hermanas, Karina y Karla, por todo su cariño y apoyo, por confiar en mí y darme animo para seguir adelante, por ayudar a mis padres y no dejarlos solos en su duro trabajo.

Al Ingeniero Rafael Verduga, por darme la oportunidad de trabajar y aprender los días de pasantía dentro de TEXCUMAR S.A., por darme su confianza, tiempo y sabiduría.

A todo el personal técnico y administrativo de TEXCUMAR S. A., por enseñarme un poco de todos sus conocimientos, por ayudarme a crecer profesionalmente y hacer que este trabajo fuera posible.

Al Doctor Daniel Meyer, por la oportunidad y la ayuda para realizar este proyecto de graduación, por la paciencia y el tiempo que me brindó.

Al Doctor Isidro Matamoros y a su esposa Lic. Carla Garcés por apoyarme, darme ánimo para seguir adelante y hacer que la realización de este documento fuera posible. Por guiarme, darme consejos, confiar en mí, por el tiempo, la paciencia y la amistad brindada a mí.

A todos mis amigos y amigas que con sus consejos, ayuda y apoyo hicieron que estos cuatro años que compartimos juntos sean inolvidables y sean parte de una de las mejores etapas de mi vida. Siempre los llevaré en mi corazón.

A todas las personas que no alcanzo a mencionar, pero que contribuyeron en mi formación personal y profesional en Zamorano.

RESUMEN

Sánchez, K. 2006. Procedimientos técnicos para producción de nauplios de la empresa TEXTCUMAR S.A., Ecuador. Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 30 p.

TEXTCUMAR S.A. se dedica a la producción y venta de nauplios y post-larvas de camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*). Es el laboratorio de maduración con mayor capacidad instalada en Ecuador, con una producción que supera los 200 millones de nauplios por día. El objetivo del trabajo fue elaborar un documento de procedimientos técnicos para el laboratorio de maduración de TEXTCUMAR S.A., identificando los materiales a utilizar y describiendo los procedimientos a seguir. La toma de datos se llevó a cabo durante los meses de enero a abril de 2006. El laboratorio de maduración es manejado en ocho áreas o salas, éstas son: recepción y reserva de futuros reproductores/adultos, maduración de los adultos, cópulas, desove, aclimatación de los huevos, incubación y eclosión, resiembra de nauplios y despacho de nauplios. Se detalló un total de 22 actividades realizadas en la producción comercial de nauplios en TEXTCUMAR S.A. Se elaboró un manual de procedimientos técnicos adecuado al sistema de producción. Se recomienda que el documento sea utilizado en programas de capacitación del personal del laboratorio.

Palabras clave: Cultivo de camarón, maduración, reproducción.

CONTENIDO

	Portada	i
	Portadilla	ii
	Autoría	iii
	Página de firmas	iv
	Dedicatoria	v
	Agradecimientos	vi
	Resumen	vii
	Contenido	viii
	Índice de figuras	ix
1	INTRODUCCIÓN	2
2	METODOLOGÍA	3
2.1	LOCALIZACIÓN	3
2.2	TOMA DE DATOS	3
3	RESULTADOS	4
3.1	ABASTECIMIENTO DE REPRODUCTORES:	5
3.1.1	Selección de reproductores:.....	5
3.2	RECEPCIÓN DE REPRODUCTORES:	7
3.3	MADURACIÓN:	8
3.3.1	Ablación del pedúnculo ocular ó epedunculación:.....	9
3.3.2	Análisis de laboratorio:.....	10
3.3.2.1	Extracción de muestras para análisis de virus y genético.....	10
3.3.2.2	Análisis para virus IHHNV	11
3.3.2.3	Análisis para virus NHP	11
3.3.2.4	Examen de consanguinidad	12
3.4	CALIDAD DEL AGUA	12
3.5	ALIMENTACIÓN	12
3.6	MEDIDAS DE LIMPIEZA Y AJUSTES	13
3.7	REPRODUCCIÓN	13
3.7.1	Pesca de hembras copuladas.....	14
3.7.2	Desove	15
3.7.3	Colecta de huevos.....	15
3.8	LIMPIEZA DE LA SALA DE DESOVE.	16
3.9	ACLIMATACIÓN Y DESINFECCIÓN DE HUEVOS.	17
3.10	ECLOSIÓN	18
3.11	RESIEMBRA	18
3.12	DESPACHO	19
4	RECOMENDACIONES	21
5	LITERATURA CITADA	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diagrama de flujo de reproductores y nauplios por salas en el laboratorio TEXCUMAR S.A.	2

1 INTRODUCCIÓN

En Ecuador la mayor parte de la acuicultura está basada en el cultivo del camarón (*Litopenaeus vannamei*). En el año 1998 Ecuador alcanzó la cifra de 114,000 toneladas de camarón exportadas, siendo esta la mayor producción registrada en la historia de Ecuador. Esta cifra bajó drásticamente en el año 2000 a una producción de 37,700 toneladas debido al fuerte impacto del Virus de la Mancha Blanca. Para finales del año 2002, gracias al desarrollo de técnicas de cultivo de camarón, la producción llegó a ser de 46,800 toneladas exportadas (FAO 2005).

En el 2006 TEXCUMAR S. A. se dedica exclusivamente a la producción y venta de nauplios y post-larvas del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*). Inició sus operaciones en 1999 y ahora cuenta con la mayor capacidad instalada de producción de nauplios en Ecuador. En agosto de 2005 se unió a las operaciones de TEXCUMAR S.A. el laboratorio de maduración Acuatecsa ubicado también en San Pablo.

La compañía tiene como meta distribuir un camarón de alta calidad, libre de patógenos y mantener su posición como líder en la industria. Para lograr esto, cuenta con un programa de mejoramiento genético de reproductores y de selección intensiva por parámetros de sobrevivencia, crecimiento y reproducción.

Un manual de procedimientos describe los materiales a usar, la infraestructura requerida y las actividades a realizar para lograr una producción eficiente en una granja. En cada actividad productiva se busca mejorar los índices de desempeño, reducir los costos y maximizar el uso de los recursos y tiempo, para obtener mayores márgenes de ganancia y poder competir en el mercado en precio y calidad. TEXCUMAR S.A. no cuenta con manuales de procedimientos para la operación del laboratorio. Por tal motivo existe la necesidad de detallar los procedimientos y estandarizar los procesos realizados en las actividades de cada etapa de producción para facilitar la capacitación del personal de la empresa. El objetivo de este trabajo fue identificar y organizar los procedimientos a seguir para lograr una mejor producción de nauplios de *Litopenaeus vannamei* que cumplan con los parámetros de calidad de TEXCUMAR S.A. y las exigencias del mercado ecuatoriano.

Diagrama de flujo

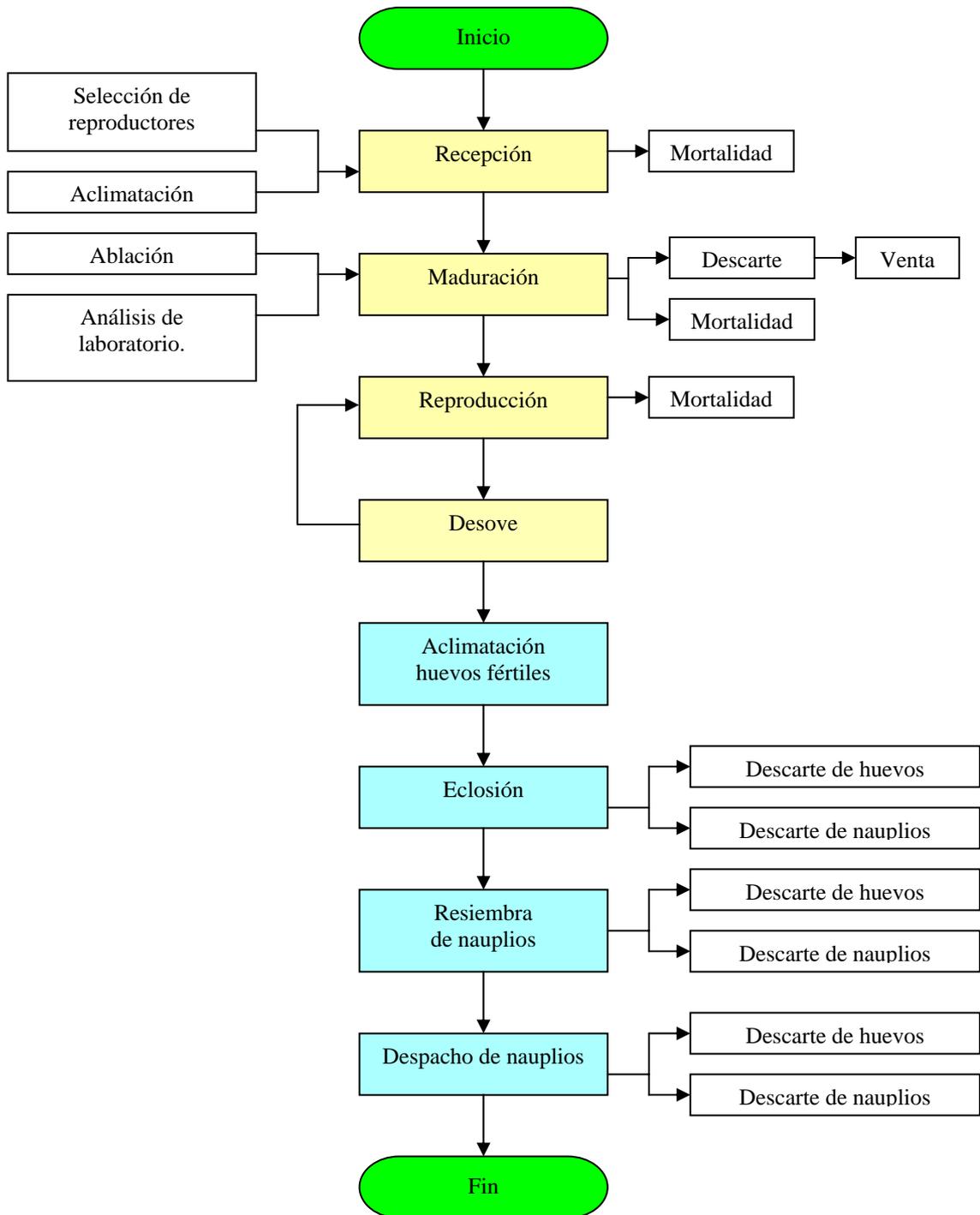


Figura 1. Diagrama de flujo de reproductores y nauplios por salas en el laboratorio TEXCUMAR S.A.

2 METODOLOGÍA

2.1 LOCALIZACIÓN

TEXCUMAR S.A. se encuentra ubicado en el kilómetro 5 1/2 de la vía San Pablo-Monte Verde, Provincia del Guayas, Ecuador, a una elevación de 4 msnm, una temperatura promedio anual de 26 °C y una precipitación anual máxima de 500 mm.

2.2 TOMA DE DATOS

La toma de datos se llevó a cabo entre enero a abril de 2006 mientras el encargado del estudio trabajó realizado en una pasantía en el Laboratorio de Maduración TEXCUMAR S.A. Durante la pasantía, el autor trabajó en cada una de las actividades y realizó cada uno de los procesos que forman parte del ciclo de producción de nauplios en el laboratorio de maduración. Además, consultó con libros, revistas científicas e información publicada en Internet sobre el proceso de maduración, reproducción y producción de nauplios de *L. vannamei*.

Se entrevistó a los operarios, técnicos de producción y personal administrativo sobre los detalles de la infraestructura del laboratorio, los materiales y procedimientos realizados en cada sala.

3 RESULTADOS

TEXCUMAR S.A. es una compañía privada, dedicada a la producción de nauplios y larvas de camarón *Litopenaeus vannamei*. En la actualidad es el laboratorio de maduración con mayor capacidad instalada en Ecuador con una producción que supera 200 millones de nauplios por día.

TEXCUMAR S.A. distribuye nauplios y post-larvas de camarón certificados libres de IHHNV (Virus de la Necrosis Hipodermal y Hematopoyética) y NHP (Hematopancreatitis Necrotizante) todo el año (Johnson 1995). La compañía tiene una política de no utilizar antibióticos en ninguno de los procedimientos.

El laboratorio de producción de nauplios esta dividido en ocho etapas en siete salas. Este manual ha sido dividido en ocho áreas.

Sala 1. (Maduración). Es el área de recepción y aclimatación de los camarones adultos ya seleccionados en una finca camaronera asociada con TEXCUMAR S.A. y suplidor de adultos. También se lleva a cabo la maduración de los reproductores por medio de la ablación ocular unilateral de las hembras. Además, se extraen las muestras para los análisis de laboratorio para virus IHHNV y NHP, se hace el análisis para detectar distanciamiento genético y consanguinidad.

Sala 2. (Cópula). En esta sala se colocan en tanques hembras y machos a razón de 1.25:1 respectivamente.

Sala 3. (Desove). Los camarones hembras ya copuladas pasan a la sala de desove donde se colocan en tanques pequeños en total oscuridad y silencio para evitar aborto de huevos.

Sala 4. (Aclimatación). Una vez desovadas las hembras regresan a los tanques de la sala de cópulas y los huevos pasan a la sala de aclimatación de huevos. En esta sala los huevos son aclimatados y son desinfectados con yodo.

Sala 5. (Eclósión). Nauplios recién eclosionados son recolectados y seleccionados por fototropismo.

Sala 6. En la sexta etapa los nauplios pasan a la sala de resiembra donde se hace la segunda selección por fototropismo.

Sala 7. La última área es la sala de conteo y despacho de los nauplios.

A continuación se describen los materiales, la infraestructura y los procedimientos a usar en la producción de nauplios de *Litopenaeus vannamei* como es practicado en TEXCUMAR S.A.

3.1 ABASTECIMIENTO DE REPRODUCTORES

3.1.1 Selección de reproductores

Introducción

En TEXCUMAR S.A., los reproductores son renovados al cumplir 120 días de producción de nauplios. La selección de los nuevos camarones adultos para ser futuros reproductores es un paso muy importante. La selección de los camarones para futuros reproductores se realiza en fincas camaroneras asociadas con TEXCUMAR S.A. Se tiene que realizar una buena selección de camarones para futuros reproductores siguiendo los parámetros de calidad de TEXCUMAR S.A. para alcanzar la calidad que se le ofrece al cliente. La selección de los camarones para futuros reproductores en la finca camaronera se realiza examinando cada animal, con el fin de escoger sólo los que tienen todos sus miembros completos y no presentan deformaciones ni manchas en su exoesqueleto.

Materiales

Para realizar la obtención de reproductores de buena calidad se debe contar con los materiales y condiciones necesarios para su captura en finca camaronera, evitando provocar el estrés y disminuyendo el número de animales con heridas y lesiones.

Los materiales que se deben utilizar son:

- Chinchorro o atarraya
- Cilindro de oxígeno
- Hielo en bolsas de plástico
- Vehículo
- Tanques para transporte
- Tubos de plástico (PVC)

Procedimientos

El personal encargado de la selección y transporte de los futuros reproductores son empleados de TEXCUMAR S.A. Trabajan en un equipo conformado por un técnico y cinco o seis operarios. El procedimiento para el transporte de camarones se detalla a continuación:

1. La cosecha se debe realizar de preferencia en la noche y en aguaje.
2. Los animales son capturados por medio de una atarraya, chinchorro o por una red puesta en la caja de monje al momento de bajar el nivel de agua en la piscina.

3. Se seleccionan individuos con un peso mínimo de 26 g. En *L. vannamei* este peso se alcanza aproximadamente a los 180 días de desarrollo.
4. Los operarios realizan una inspección visual de cada individuo sosteniéndolo en su mano. La inspección incluye revisar las antenas, pereiópodos, pleópodos, urópodos, telson y rostro del camarón en el momento de su captura.
5. Los camarones que tengan defectos físicos obvios como: golpes, manchas en su exoesqueleto, muda reciente, miembros incompletos y deformaciones, son descartados. La falta de actividad física o letargo es razón para descartar el camarón.
6. Son aceptados como futuros reproductores los individuos con su anatomía completa. Los camarones seleccionados en la finca tienen que ser transportados al laboratorio. El tiempo de transporte puede durar hasta ocho horas.
7. Los tanques para el transporte de los futuros reproductores son típicamente de 1000 L (1 × 1 × 1 m) de capacidad y montados en camiones.
8. Se separa por sexo a los camarones, para facilitar el manejo en recepción.
9. Para reducir el estrés en los camarones los tanques de transporte son llenados con agua de la piscina en la cual se realizó la captura.
10. Se ajusta la temperatura del agua de transporte a 26 °C agregando bolsas con hielo picado. A esa temperatura se reduce la actividad metabólica de los camarones y el estrés.
11. Los camarones seleccionados en finca son colocados individualmente en tubos de PVC de aproximadamente 30 cm de largo y 5 cm de diámetro. Los tubos de PVC tienen orificios que permiten la entrada y circulación de agua.
12. Los extremos de cada tubo son tapados con una malla fina para que el camarón no escape.
13. Se colocan los camarones, ya dentro de los tubos de PVC en los tanques de transporte, según su sexo.
14. Mientras hay camarones dentro del tanque de transporte se subministra oxígeno al agua por medio de un cilindro, manómetro, manguera y una piedra difusora de 5 cm. Se recomienda manejar el sistema de oxígeno en 1.6 kg/cm² aproximadamente.
15. Se tienen que revisar cada dos horas la temperatura del agua y la cantidad de oxígeno en solución en cada tanque durante el transporte. Este trabajo es responsabilidad del técnico de TEXCUMAR S.A.

Resultados.

Después de seguir todos los pasos y parámetros de selección se obtienen camarones de calidad para futuros reproductores a la puerta del laboratorio.

3.2 RECEPCIÓN DE REPRODUCTORES

Introducción.

La recepción de los futuros reproductores en el laboratorio de maduración es una etapa muy importante. La recepción de reproductores se realiza cada 15 días para mantener una población de camarones constante en el área de reserva y asegurarse de no quedar en escasez de nauplios. Después de su transporte de la finca camaronera al laboratorio los camarones están debilitados y se los debe manejar con mucho cuidado. La recepción de reproductores se la realiza en la sala de reserva. TEXCUMAR S.A. cuenta con dos salas de reserva y en ellas 39 tanques circulares en total. En esta etapa se coloca el camarón previamente seleccionado en la finca camaronera en tanques, colocando los machos y las hembras por separado.

Materiales.

Para la recepción de reproductores se necesitan los siguientes materiales:

- Redes de mano de 1.5 m de largo con malla rectangular de 0.5 cm de luz
- Tanques circulares para reproductores con capacidad para 12,000 L (diámetro de 6 m y una altura de 1 m)
- Sistema de aireación
- Gavetas o pailas de plástico (0.5 × 0.5 × 1.0 m)

Procedimientos.

Es muy importante que antes de la llegada de los camarones el agua en los tanques del área de reserva tenga la misma salinidad que la piscina de donde provienen. Esto se obtiene agregando a los tanques agua dulce de pozo y luego agregando agua de mar hasta llegar a la salinidad requerida. El agua es tomada directamente del mar por bombeo. La fuente de agua de mar utilizada es isotérmica (26-28 °C) y tiene una salinidad que oscila entre 25,000 a 36,000 ppm durante los doce meses de año. Durante el proceso de llenar los tanques con agua se hace la medición de la salinidad del agua con un salinómetro óptico. Los tanques son manejados con un recambio de 200% diario de agua.

La aireación se provee con un soplador de 4.5 hp conectado a un sistema de tubos de PVC que termina con tres piedras difusoras por tanque. El flujo de aire a cada tanque es regulado por una válvula de pelota de 12 mm de diámetro. Se requiere mantener una concentración de oxígeno en solución mayor de 5 ppm. Si la concentración de O₂ es inferior a 5 ppm el operario tiene que ajustar la válvula para incrementar el flujo de aire. Cualquier malfuncionamiento o anomalía debe ser comunicado inmediatamente al técnico de la sala. Es importante evitar cualquier sonido fuertes o movimientos bruscos de los operarios en el área de reserva para no estresar a los camarones. Síntomas de estrés en los camarones son opacidad muscular y limitada actividad física. Los tanques son tapados por un plástico negro y la sala tiene un techo de sarán de 30%.

El supervisor tiene que estar presente para la recepción de cada lote de nuevos adultos provenientes de una finca camaronera. Los pasos a seguir para realizar una transferencia eficiente de camarones desde el camión de transporte a la sala de reserva son los siguientes:

1. Se saca las piedras difusoras de los tanques de transporte.
2. Un operario saca los tubos con los camarones y los deposita en una gaveta o paila de plástico llena de agua.
3. Dos operarios llevan la gaveta o paila hacia los tanques de recepción con cuidado, tratando de no hacer movimientos bruscos.
4. Los mismos operarios deben sacar las tapas de malla de los tubos y soltar los camarones en los tanques asignados.
5. Los camarones se depositan con mucho cuidado ya que el transporte desde la finca camaronera los estresa y son muy delicados.
6. Se colocan de 200 a 300 camarones por tanque, esta cantidad depende del tamaño en que vengan los reproductores.

Una vez terminado el proceso de recepción los camarones son aclimatados hasta alcanzar la salinidad de agua de mar. Después de transcurridas 12 horas de haber llegado al laboratorio, los camarones son alimentados. Los detalles de la alimentación aparecen en la sección 3.5 del manual.

3.3 MADURACIÓN

La maduración sexual en el camarón blanco del Pacífico comienza a un peso aproximado de 32 g, mientras los adultos seleccionados permanecen y crecen en los tanques de la sala de recepción. En esta etapa los camarones permanecen aproximadamente de ocho a diez días dependiendo del peso en que se recibieron de la finca camaronera. En las hembras maduras se observan los ovarios de color amarillento en la zona dorsal del cefalotórax. En los machos maduros se nota la presencia de espermátóforos de color blanco o crema, en la parte posterior y ventral de su cefalotórax.

La intensidad de la luz debe ser baja en la sala. La fuerte luminosidad tiene un efecto negativo en el proceso de maduración y perturba el comportamiento de los camarones. Esto se logra utilizando tela sarán como techo en la sala de reserva y maduración, también se cubre los tanques con plástico negro.

3.3.1 Ablación del pedúnculo ocular o epedunculación

Introducción

Esta es una técnica que se realiza para acelerar el proceso de maduración de la hembra consistiendo en la extirpación de uno de sus ojos. Con la ablación ocular unilateral se elimina la mitad de la fuente de hormonas inhibitoras del proceso de maduración sexual procedentes del órgano x-sinus glandular (Kawahigashi, s.f.; Treece y Yates 1993).

Materiales.

Los materiales que se utilizan para la ablación son los siguientes:

- Bisturí
- Hilo desinfectado con alcohol etílico al 75%
- Redes de mano
- Gavetas o pailas de plástico
- Tubos de PVC

Para efectuar la ablación unilateral del pedúnculo ocular de las hembras se deben respetar estrictamente las siguientes condiciones:

- Realizar la ablación en todos los tanques preparados para la producción, 2 ó 3 días después de la recepción, para evitar la acumulación de estrés de los camarones.
- No se debe efectuar la ablación en los animales que hayan tenido la muda la noche anterior.
- La manipulación de los adultos tiene que realizarse con cuidado para evitar el estrés y daño físico.
- Se debe efectuar el trabajo lo más rápido posible, sosteniendo firmemente el camarón en la mano para evitar un estrés muscular.
- Se requiere tres personas para realizar la ablación ocular de manera eficiente y sin provocar estrés en los animales.

Procedimiento.

El procedimiento para realizar la ablación ocular unilateral se debe realizar de la siguiente manera:

1. Un operario atrapa las hembras y las deposita individualmente en tubos de PVC.
2. Los tubos con las hembras son depositados en una gaveta o paila con agua y una piedra difusora.
3. Otro operario saca una hembra y la sostiene con las manos con cuidado.
4. Se acomoda la hembra en la mano de tal forma que un pedúnculo ocular quede expuesto.

5. Luego un técnico experimentado en el proceso realiza la ablación amarrando un pedazo de hilo desinfectado de unos 15 cm de largo a la base del pedúnculo haciendo un doble nudo con fuerza.
6. Se corta el excedente de hilo y se vuelve la hembra al mismo tanque.

El tiempo para lograr el desarrollo de los ovarios de las hembras epedunculadas es aproximadamente de 3 a 4 días. Después de la ablación se suspende la alimentación durante seis horas, para reducir la posibilidad de infección.

3.3.2 Análisis de laboratorio:

La principal amenaza para el desarrollo de la industria camaronera son las enfermedades infecciosas especialmente las causadas por virus (Lightner 1999). La implementación de programas de reproducción adecuados permitiría desarrollar stocks domésticos libres de enfermedades o resistente a ellas (Wyban *et al* 1993). La industria del cultivo de camarones marinos es la rama de la acuicultura moderna que más se ha visto afectada por los efectos de agentes patógenos causando hasta el 90 por ciento de las producciones en los países afectados (FAO 2005).

Durante el tiempo que el camarón alcance la maduración sexual se realizan tres tipos de análisis. Estos son para detectar presencia de los virus responsables de IHHNV y NHP, pruebas realizadas en TEXCUMAR S.A., y la prueba genética realizada en CENAIM (Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas), San Pablo, Ecuador. La prueba genética sirve para evaluar el nivel de consanguinidad y la distancia genética entre los reproductores nuevos.

3.3.2.1 Extracción de muestras para análisis de virus y genético.

Los materiales que se utilizan para la extracción de las muestras se detallan a continuación:

- Redes de mano de 1.5 m de largo con red rectangular de 0.5 cm de luz
- Jeringas de un cc numeradas (se ocupa una para cada muestra)
- Hielera con hielo
- Tubos para muestras de ADN
- Anillos numerados para colocar en el pedúnculo ocular de cada individuo
- Alcohol al 75% para desinfectar los materiales
- Anticoagulante
- Tijeras
- Gavetas o pailas de plástico

Procedimiento.

Para la toma de las muestras para los análisis de IHHNV, NHP y genético se debe seguir los siguientes pasos:

1. Se necesitan tres operarios para hacer la extracción de las muestras.
2. Se captura los animales por medio de una red de mano.
3. Se deposita cada adulto en un tubo de PVC, y estos son guardados en una gaveta con agua y una piedra difusora.
4. Se toma de cada tanque 50 animales escogidos al azar para análisis genético.
5. Cada animal es tomado en la mano exponiendo su lado ventral para poder cortar con una tijera desinfectada la mitad de un pleopodo del segundo segmento abdominal. La muestra es depositada en un tubo de ADN para su envío al laboratorio en una hielera.
6. Para detectar presencia de virus se toma una muestra de hemolinfa con una jeringa, insertándola en el primer segmento abdominal de cada reproductor. La extracción de hemolinfa se realiza teniendo cuidado de no tocar el nervio central del animal ya que este puede quedar paralizado y morir.
7. Se coloca un anillo alrededor del ojo que cuenta con un número para fines de identificación y se devuelve al mismo tanque.
8. Se registra el número de anillo y de la jeringa para llevar un seguimiento con los resultados y hacer posibles descartes.
9. Se colocan las jeringas con las muestras en una hielera para mantener las muestras en frío hasta llegar al laboratorio para ser analizadas en TEXCUMAR S.A.

Los exámenes de virus para IHHNV y NHP son realizados por medio de PCR (reacción en cadena de polimerasa) en donde se determina si los animales son positivos o negativos al virus. Este examen es realizado en el laboratorio de análisis de TEXUMAR a toda la población con el objetivo de que los nauplios y larvas a vender estén exentos de dicho virus y asegurar al cliente la calidad que se le ofrece. Los animales positivos a cualquiera de los virus son simplemente descartados, mientras los otros son llevados a la sala de cópulas cuando han alcanzado la madures sexual.

3.3.2.2 Análisis para virus IHHNV

El virus IHHNV se transmite de manera vertical (padres a hijos) y horizontal (animal a animal). En *Litopenaeus vannamei*, el síndrome de la deformidad del rostro (RDS) y el enanismo son atribuidos al IHHNV (Johnson 1995).

3.3.2.3 Análisis para virus NHP

El NHP (hepatopancreatitis necrotizante) presenta los siguientes signos: anorexia, letargo, atrofia muscular abdominal, exoesqueleto blando, crecimiento retardado, coloración café de las branquias, musculatura opaca, textura terrosa (desmenuzante del hepatopancreas). Conduce a mortalidades del 20 al 95% (Lightner 1999). El NHP se

transmite horizontalmente por medio de vectores o canibalismo y afecta principalmente a los camarones mayores de 5 g de peso.

3.3.2.4 Examen de consanguinidad

Para este examen son elegidos al azar 100 muestras (50 hembras y 50 machos), por cada tanque. Con los resultados de este análisis se puede determinar que grupos de machos se pueden copular con otro grupo de hembras para evitar la consanguinidad y obtener nauplios de mejor calidad. Se analiza la variabilidad genética, inbreeding y distanciamiento genético de los reproductores por medio de microsátélites.

3.4 CALIDAD DEL AGUA

La ocurrencia de patógenos en sistemas acuáticos está relacionada con parámetros ambientales tales como la salinidad y temperatura (De la Peña *et al.* 1993; Bray *et al.* 1994; Jiménez *et al.* 2000). Para TEXCUMAR S.A. la salinidad del agua debe tener un promedio de 31,000 ppm. Por el continuo recambio de agua en el laboratorio las únicas variables monitoreadas son O₂ disuelto, temperatura y salinidad del agua.

Para la oxigenación hay que estar siempre al tanto de:

- Que no se tapen las piedras de difusión del aire.
- Que los flujos de aire no sean demasiado bajos.

3.5 ALIMENTACIÓN

En maduración de camarones la nutrición es considerada un factor esencial. La nutrición animal influye en el adecuado desarrollo ovárico y a la producción de nauplios de buena calidad (Kawahigashi s.f.). El alimento ofrecido a los camarones adultos debe ser consumido en un tiempo no mayor de dos horas. Es importante llevar registros de las horas en que se alimenta y la cantidad de alimento ofrecido en cada tanque.

Para la alimentación se necesitan los siguientes materiales:

- Krill
- Artemia
- Poliqueto
- Calamar picado
- Concentrado (balanceado) con 55% de proteína

La comida natural y congelada es nutritiva y muy aceptada por los camarones. Algunas comidas frescas para el camarón son: biomasa de artemia, krill, calamar y poliquetos. La cantidad diaria de alimento fresco ofrecido a los adultos es de 34% de su biomasa.

Utilizar un pelletizado de alta calidad y especial para maduración de camarones es importante para complementar el suplemento alimenticio de los mismos. El alimento para los camarones en las salas de reserva es ofrecido cuatro veces al día, combinando alimento fresco con un concentrado balanceado (55% proteína). En las salas de cópulas se alimentan los adultos seis veces al día con la misma proporción entre ingredientes naturales y piensos.

A las dos horas de haber ofrecido el alimento se revisa cada tanque para ver si hay sobrante. Al encontrar comida sobrante en un tanque el operario saca el alimento con una red de mano e informa al técnico de turno.

3.6 MEDIDAS DE LIMPIEZA Y AJUSTES

Es importante después de cada ciclo que los tanques de reserva, maduración, cópulas y de desove sean limpiados para evitar que los animales sean contagiados con patógenos del ciclo anterior. Los materiales que se deben utilizar para realizar la limpieza de los tanques son los siguientes:

- Cepillos
- Manguera
- Agua potable
- Cloro

La limpieza de un tanque después de un ciclo de producción se hace de la siguiente manera:

1. Se limpian las paredes y pisos del tanque con cepillos y agua clorinada (50 ppm).
2. Después de una completa limpieza, se enjuaga todo el interior del tanque con agua potable.
3. Se deja secar el tanque antes de usarlo nuevamente.
4. Todos los materiales del tanque como las piedras difusoras y tuberías siguen el mismo proceso de limpieza.
5. Se revisa la calibración de las válvulas de entrada de agua en cada tanque.

3.7 REPRODUCCIÓN

Para la reproducción es importante que sean elegidos solo reproductores maduros, las hembras tienen que tener sus órganos reproductivos desarrollados. Los lotes de animales seleccionados para la copulación son escogidos según los resultados de la evaluación genética para evitar problemas de consanguinidad.

El área de reproducción o cópulas cuenta con 11 salas dando un total de 100 tanques cilíndricos de 12 toneladas. La temperatura en los tanques de reproducción debe estar entre 28 y 29 °C y la salinidad debe estar alrededor de 30 ppm.

Para transferir los animales de los tanques de la reserva a la sala de cópulas se necesitan los siguientes materiales:

- Redes de mano
- Gavetas
- Tubos para transporte de PVC

Los procedimientos de transferencia de los reproductores a la sala de cópulas se detallan a continuación:

1. Se atrapan todas las hembras maduras con redes de mano.
2. Se deposita cada reproductor en tubos de PVC individualmente y estos se los coloca en gavetas con agua y una piedra difusora.
3. Trasladar con cuidado y sin hacer movimientos bruscos hacia la sala de cópulas. Depositar 90 hembras y 80 machos en cada tanque con una relación macho/hembra de 1.25:1 dando un total de 170 reproductores.

3.7.1 Pesca de hembras copuladas

Este es un paso muy delicado y se debe realizar con mucho cuidado para evitar estresar a las hembras y evitar la caída del espermatóforo que lleva adherido al abdomen. El objetivo de este paso es coleccionar todas las hembras copuladas y llevarlas a la sala de desove para realizar la colecta de huevos y evitar pérdidas.

Los materiales necesarios para realizar la pesca y revisión de las hembras para identificar las copuladas son los siguientes:

- Linternas de halógeno de 55 W con baterías de 12 V
- Redes de mano
- Baldes de 15 L

Para realizar la pesca se debe seguir los siguientes pasos muy cuidadosamente para no estresar a las hembras.

1. La pesca se inicia diariamente a las 18:30 horas trabajando en la oscuridad.
2. La pesca debe estar a cargo del técnico supervisor de turno ayudado por dos operarios que se alternan en la captura y el transporte de las hembras.
3. Se deben utilizar linternas conectadas a una batería de 12 V para observar cada hembra.
4. Se revisan las hembras, una por una, a fin de controlar si las hembras maduras han sido copuladas (presencia de un espermatóforo entre sus pereiópodos 4 y 5).
5. Las hembras copuladas son llevadas a los tanques de la sala de desove en baldes con una identificación de la sala y el número del tanque del que fueron recolectadas.
6. Las hembras recolectadas son transportadas con cuidado y sin hacer movimientos bruscos a la sala de desove.
7. Las hembras no copuladas son devueltas al tanque de cópulas.

8. Un operario recibe las hembras en la sala de desove y las deposita en sus respectivos tanques ya identificados con el nombre de la sala de procedencia con el objetivo de que después del desove regresen al mismo tanque del que fueron recolectadas.

3.7.2 Desove

Hay tres salas de desove en el laboratorio de TEXCUMAR S.A. Las salas de desove contienen un total de 209 tanques con capacidad para 300 L de agua cada uno. En esta sala se controla la temperatura y la salinidad del agua ya que la hembra puede abortar los huevos o perder el espermátforo si hay variaciones fuertes.

Las salas de desove reciben agua de pozo y agua de mar filtrada para poder ajustar la salinidad del agua de los tanques a 30,000 ppm de salinidad. Cada sala cuenta con un tanque elevado que sirve de reserva de agua para cosechas y lavados.

El operario tiene que revisar la temperatura y salinidad del agua. El manejo de las hembras copuladas en la sala de desove se realiza de la siguiente manera:

1. Llenar los tanques de desove a las 8–10 a.m., cuando la temperatura del agua está alrededor de 29 °C (± 1 °C).
2. En la época fría del año se utilizan calderos para calentar el agua según las condiciones.
3. Cuando las hembras copuladas empiezan a llegar, la sala de desove debe permanecer en completo silencio y en total oscuridad.
4. Cada tanque tiene que tener una piedra difusora de aire.
5. Un operario recibe las hembras y deposita de 3 a 4 hembras por tanque.
6. Cada tanque tiene que tener marcado el nombre de la sala y número del tanque de donde provienen las hembras.
7. Después de depositar las hembras en un tanque de desove, se coloca su tapadera de fibra de vidrio pintada de negro.
8. Una vez que se trasladan todas las hembras a desovar en los tanques de una sala, se cierra la sala y se prohíbe la entrada de personas desde las 21:00 a la 1:00 horas.
9. En esta etapa las hembras no son alimentadas.

3.7.3 Colecta de huevos

El objetivo de esta práctica es coleccionar la mayor cantidad de huevos, evitar pérdidas, daños a los huevos y a las hembras, llevar un control de producción por salas y por hembras. El uso de tanques para desove permite sacar las hembras desovadas con facilidad y recolectar los huevos de forma eficiente. En cada desove las hembras llegan a poner de 250,000 a 500,000 huevos (Meyer 2004).

Los huevos deben ser manipulados con cuidado por su sensibilidad a los cambios bruscos de temperatura, salinidad y oxígeno. Los materiales necesarios para la colecta de huevos son:

- Baldes colectores con malla de 100 micras especiales para recolección de huevos
- Gavetas de plástico
- Jarras de plástico de 1 L

El procedimiento para la colecta de huevos es el siguiente:

1. A partir de la 1:00 horas empieza la revisión de las hembras trasladadas la noche anterior seguida por la recolección de los huevos.
2. El técnico ayudado con dos operarios procede a pescar todas las hembras de todos los tanques de desove. Se identifica las hembras desovadas por ausencia de espermátforo y por disminución de tamaño y cambio de color de sus ovarios.
3. Las hembras no desovadas son identificadas por presencia de un espermátforo.
4. Para cada hembra revisada se anota en la planilla su procedencia y su desempeño en la reproducción.
5. No se deben abrir las válvulas de los tanques de desove hasta haber capturado la última hembra.
6. Una vez retiradas las hembras de los tanques de desove, se abre la válvula de drenaje de cada tanque para hacer pasar su contenido de agua a un balde recolector de huevos.
7. Los baldes de recolección se colocan dentro de una gaveta con agua para amortiguar físicamente la caída de los huevos. Al drenar el tanque los huevos no deben caer directamente al fondo del balde recolector.
8. Con la jarra se lava las paredes del tanque de desove mientras se drena para asegurar que no queden huevos pegados.
9. La temperatura del agua usada en los baldes de recolección debe ser igual a la de los tanques de desove de donde provienen los huevos (± 30 °C).
10. Una vez recolectados los huevos son transferidos a la sala de aclimatación en un balde de 20 litros de capacidad con el agua del mismo tanque de desove del que fueron recolectados.
11. Los baldes recolectores deben estar identificados para permitir estimar la producción de nauplios del día.
12. De cada balde recolector se toma una muestra para estimar la cantidad de huevos recolectados en el tanque.

3.8 LIMPIEZA DE LA SALA DE DESOVE

El lavado de la sala de desove se hace cada día después de su uso con el fin de controlar posibles contaminaciones. Los materiales necesarios para realizar la limpieza de la sala de desove son los siguientes:

- Cloro
- Vitamina C
- Cepillos

El lavado de la sala de desove y los diferentes equipos se realiza de la siguiente manera:

1. Se procede a limpiar los tanques, tapas, tubos, filtros, baldes, paredes y piso de la sala con agua clorinada (1000 ppm de cloro).
2. Después de la limpieza con agua clorinada se lava los tanques con una solución de vitamina C (10000 ppm) y un cepillo.
3. Enjuagar todo muy bien con agua dulce para eliminar residuos de cloro.
4. Las mangueras de aire y las piedras de difusión deben lavarse muy bien con agua dulce.

Es importante que todo el equipo de la sala de desove se seque después de ser utilizado para evitar la proliferación de hongos. Para que todo el equipo se seque se lo deja de la siguiente manera:

- Los tanques de desove con sus válvulas abiertas y tubos de drenaje inclinados hacia adentro del tanque.
- Las tapas se colocan en posición vertical entre los tanques.
- Los baldes recolectores de huevos son invertidos en el piso de la sala.
- La sala de desove permanece con las puertas abiertas hasta la llegada del nuevo lote de hembras.

3.9 ACLIMATACIÓN Y DESINFECCIÓN DE HUEVOS

TEXCUMAR S.A. cuenta con una sala de aclimatación y desinfección con 20 tanques de 300 L de agua cada uno y sistema de calentadores a gas. La aclimatación se realiza para ajustar la temperatura del agua y la desinfección para eliminar patógenos que se pueden encontrar en el agua o adheridos a los huevos.

La aclimatación y la desinfección de los huevos se realizan desde la 1:00 hasta las 3:00 horas. Para una aclimatación y desinfección efectiva de los huevos se debe seguir los siguientes pasos:

1. La sala tiene que permanecer en completa oscuridad y en silencio hasta llegar a la temperatura necesaria.
2. La desinfección de los huevos se hace en el mismo balde que proviene de la sala de desove.
3. Se agrega al balde 3 ml de solución de yodo.
4. Se agita con la mano el agua con yodo y los huevos durante 15 segundos. Este tiempo debe ser cumplido estrictamente para evitar problemas.
5. Se regresan los huevos ya desinfectados a los baldes recolectores. Se agrega agua salada pura para quitar el exceso de yodo.
6. Luego los huevos son depositados en los tanques de aclimatación y se agrega lentamente agua a la temperatura (30 °C) y salinidad adecuadas (30,000 ppm).

3.10 ECLOSIÓN

La sala de eclosión cuenta con un sistema de calentadores a gas para mantener la temperatura en 31 °C y un foco de 100 W encima de cada uno de los 12 tanques de 1000 L de capacidad con fondo cónico. La sala tiene techo y paredes sólidos y el acceso a personas es limitado. Esta sala se mantiene en total oscuridad mientras se encuentre con huevos por eclosionar.

Los huevos desinfectados pasan a la sala de eclosión. Esta sala está diseñada para obtener las condiciones necesarias para facilitar el proceso de eclosión. Eclosión es la etapa en la que la larva rompe el huevo y nace la primera etapa larvaria, el nauplio. El nauplio se nutre del vitelo y nada libremente en la columna de agua.

El agua de mar utilizada en la sala de eclosión pasa de un reservorio principal a dos tanques de fibra de vidrio donde se ajusta su salinidad a 30,000 ppm. Luego el agua pasa por dos filtros (de piolas y de carbón activado) para eliminar su contenido de materia orgánica. Finalmente el agua pasa por una lámpara de luz ultravioleta para eliminar bacterias y luego llega a los tanques de eclosión.

Los procedimientos a seguir en la sala de eclosión son los siguientes:

1. Los huevos son depositados en los tanques de eclosión en una densidad de 60,000 huevos/L.
2. La temperatura en la sala de eclosión se mantiene a 31 °C.
3. En el agua de cada tanque se hace un remolino durante 10 segundos a intervalos de 10 minutos. Durante el proceso de incubación y eclosión se pierde del 5 al 10% de los animales.
4. Durante el periodo de incubación y eclosión que dura de (14-18 horas) se mantiene el foco encendido sobre cada tanque.
5. A partir de las 10 horas de incubación se colectan los nauplios que están nadando cerca del foco tomando en cuenta su fototropismo.
6. La captura de los nauplios se realiza con baldes de 15 litros. Los baldes tienen ventanas de malla de 100 micras.
7. Los nauplios capturados son trasladados a la sala de resiembra donde son almacenados para el conteo y despacho.
8. Una vez terminada la colecta de nauplios se abre las válvulas de drenaje de los tanques de eclosión y se colecta todos los nauplios muertos y los huevos sin eclosionar para llevar un registro.

Por su fototropismo se puede determinar que los nauplios que no se acercan a la luz son nauplios débiles y estos son descartados. La limpieza y desinfección de paredes, piso, baldes y tanques de la sala de eclosión se realiza alternando el uso de yodo, cloro y vitamina C.

3.11 RESIEMBRA

Existen dos salas de resiembra las cuales son alternadas uno ó dos días para asegurar su limpieza y desinfección. En esta sala se hace una segunda selección por

fototropismo con el fin de asegurarse que sólo el nauplio más resistente sea despachado a los clientes de TEXCUMAR S.A. En la resiembra se realiza el mismo trabajo que en eclosión. Se espera en la resiembra una mortalidad de nauplios de 2%.

En esta sala los nauplios se guardan para el conteo y despacho. No son alimentados ya que estos consumen su saco vitelino para sobrevivir. Se colocan aireadores con piedras difusoras en cada tanque para mantener los nauplios en constante movimiento.

Para la limpieza de la sala se debe seguir procedimiento:

1. Desocupar toda la sala
2. Aplicar agua con cloro (1 gr/ L de agua) en toda la sala (techo, paredes y piso).
3. Se cierra esta sala para que nadie entre durante este periodo.
4. Realizar un enjuague de la sala con agua potable.
5. Todo el equipo es lavado y expuesto al sol para evitar problemas con hongos.

3.12 DESPACHO

TEXCUMAR S.A. vende nauplios libres de virus IHHNV y NHP y seleccionados dos veces por fototropismo como producto principal. Sus nauplios han sido producidos a partir de adultos libres de los virus IHHNV y NHP y genéticamente distantes.

El despacho es el último paso en la cadena de producción de nauplios. Esta sala cuenta con buen drenaje, tuberías para aireación y tuberías de agua. Además debe mantener la temperatura entre 29 a 30 °C. En la época mas fría del año la sala cuenta con calentadores a gas para elevar la temperatura. La sala de despacho cuenta con control de temperatura con lámparas a gas, también se hace recambio de agua y cada tanque cuenta con un sistema de aireación.

Los materiales utilizados en el área de despacho son:

- Pipetas de 1 ml
- Baldes para despacho de 15 litros
- Tanque de oxígeno
- Ligas o hules
- Cajas de cartón
- Bolsas de polietileno

Para llevar un control de la cantidad de nauplios que se van a despachar, se sacan las muestras directamente del balde lleno con 15 litros de agua de mar de la siguiente manera:

1. Sacar la piedra difusora de aire y remover el agua con la mano para tener una buena distribución de los nauplios en el volumen muestreado
2. Llenar una pipeta de 1 cc. sumergiéndola en el agua
3. Tomar dos muestras por tanque al mismo tiempo

4. Contar en un fondo negro, para observar mejor del número de nauplios de cada muestra. Si el conteo varía 10% para el mismo balde se toma dos muestras adicionales y se vuelve a contar
5. Encontrar el promedio de las dos muestras.
6. Multiplicar el promedio por 15,000 que es la cantidad de ml que existe en el balde
7. Típicamente se manejan poblaciones de hasta 250,00 nauplios en cada balde de 15 L

El empaclado en las bolsas de plástico, las que luego son puestas en cajas de cartón, es muy importante para proveer protección mecánica durante el transporte, y evitar fugas de agua y oxígeno. Otra ventaja de utilizar cajas de cartón durante el transporte es facilitar el maniobrar las bolsas y utilizar el espacio en los camiones eficientemente. Se utilizan las cajas cuando el cliente tiene que recorrer largas distancias y horas con los nauplios.

El proceso de empaclado se realiza de la siguiente manera:

1. Se coloca dentro de una caja de cartón dos bolsas de polietileno transparentes. Se depositan en cada una de las bolsas 15 L de agua con los nauplios ya contados.
2. Cada bolsa es inflada con oxígeno puro y cerrada con un hule. La bolsa inflada y sellada contiene aproximadamente 15 L de agua y 30 L de oxígeno puro.
3. La bolsa preparada de esta manera sirve para aproximadamente un viaje de 12 horas.
4. Las cajas son selladas con cinta de embalaje y trasladadas al camión esperando el producto.

Durante el transporte típicamente se espera 1 ó 2% de mortalidad de los nauplios. El precio de venta de nauplios es aproximadamente \$ 0.13 por millar.

4 RECOMENDACIONES

Utilizar este documento de procedimientos técnicos para obtener mejores resultados en el manejo de cada una de las áreas del laboratorio de maduración, estandarizar los procedimientos que se deben hacer y los materiales que se necesitan para cada práctica en cada una de las salas.

Evitar utilizar los mismos materiales que se utilizan en la sala de recepción en las salas de cúpulas para que no exista contaminación cruzada si se llega a dar el caso.

Utilizar guantes quirúrgicos para realizar la ablación y la toma de muestras para análisis en laboratorio.

Desarrollar medidas y procedimientos de bioseguridad y buenas prácticas operativas y de procedimientos para luego capacitar el personal de laboratorio.

Establecer registros de datos en puntos claves durante el proceso para controlar mejor la cadena de producción.

5 LITERATURA CITADA

Bray, W. A., A.L. Lawrence and J.R. Leung-Trujillo. 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei* with observations on the interaction of IHHN virus and salinity. *Aquaculture* 122:133-146.

De la Peña, L.D., T. Tamaki, K. Momoyama, T. Nakai and K. Moruga. 1993. Characteristics of the causative bacterium of vibriosis in the Kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* 115:1-12.

FAO. 2005. Síntesis Regional del Desarrollo de la Acuicultura: América Latina y El Caribe. Consultado el 24 de septiembre de 2006. (En línea). Disponible en: <http://www.fao.org>

Jimenez, R., R.L. Barniol and M. Machuca. 2000. Periodic occurrence of epithelial viral necrosis outbreaks in *Penaeus vannamei* in Ecuador. *Diseases of Aquatic Organisms* 42(2): 91-99.

Johnson, S.K. 1995. Handbook of Shrimp Diseases. Texas A&M University Sea Grant Program, Bryan, Texas. 27 p.

Kawahigashi, D. s.f. Reproducción de *Litopenaeus vannamei* (Manual de Procedimientos). Laboratorio del Pacifico, Granjas Marinas del Pacifico, Ecuador. 200 p.

Lightner, D.V. 1999. The penaeid shrimp viruses TSV, IHHNV, WSSV, and YHV: current status in the Americas, available diagnostic methods, and management strategies. *Journal of Applied Aquaculture* 9:27-52.

Meyer, D. 2004. Introducción a la Acuicultura. Zamorano, Escuela Agrícola Panamericana, Honduras. 159 p.

Treece, G.D., Yates, M.E. 1993. Manual de Laboratorio para el Cultivo de Camarón Peneido. Texas A&M University Sea Grant Program, Bryan, Texas. 83 p.

Wyban, J.A., J.S. Swingle, J.N. Sweeney, and G.D. Pruder. 1993. Specific pathogen-free *Penaeus vannamei*. *World Aquaculture* 24(1): 39-45.