



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**Análisis bioquímico y morfológico del desarrollo embrionario y
post embrionario del acocil *Cherax quadricarinatus*
(Von Martens, 1868; Decapoda: Parastacidae).**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuicultura)

p r e s e n t a

MARCELO ULISES GARCÍA GUERRERO

La Paz, B.C.S., Diciembre de 2002.

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12 horas del día 27 del Mes de NOVIEMBRE del 2002, se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., para revisar la Tesis de Grado titulada:

Presentada por el alumno:

MARCELO ULISES GARCIA GUERRERO

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN ACUACULTURA

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su APROBACION DE LA TESIS, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA



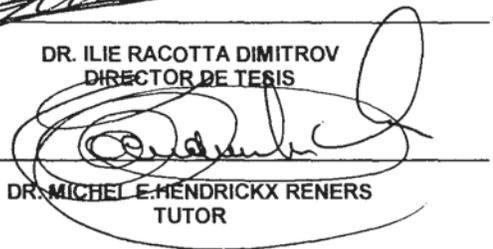
DR HUMBERTO VILLARREAL COLMENARES
DIRECTOR DE TESIS



DR. ILIE RACOTTA DIMITROV
DIRECTOR DE TESIS



DR. HECTOR NOLASCO SORIA
TUTOR



DR. MICHEL E. HENDRICKX RENERS
TUTOR



DRA. BERTHA OLIVIA ARREDONDO VEGA
TUTOR



DRA. THELMA ROSA CASTELLANOS CERVANTES,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Resumen

Cherax quadricarinatus, o langosta de quejas rojas, es un acocil australiano que ha demostrado tener un gran potencial para ser cultivado. Actualmente es preciso intensificar los estudios científicos encauzados a ampliar el conocimiento necesario para mejorar su producción en términos de calidad y cantidad a costo redituable. Uno de los aspectos que requieren ser atendidos, es la insuficiencia en disponibilidad de semilla, pues limita la capacidad de llevar a efecto con éxito la expansión de la industria. El mejoramiento de esta parte de la producción, debe estar sustentado en un claro conocimiento del desarrollo de las especies durante las primeras fases de su ciclo vital.

Para tal efecto, se realizó como primer paso, un estudio del desarrollo embrionario del acocil *C. quadricarinatus* en términos descriptivos de los caracteres morfológicos que distinguen a cada subestadio. Se describieron nueve estadios embrionarios previos a la eclosión, seguidos de dos estadios postembrionarios. La duración total del desarrollo fue de 43 días a 26°C, desde el desove hasta la aparición del juvenil.

Posteriormente, se analizaron las variaciones de los tres componentes bioquímicos principales del huevo: lípidos, proteínas y carbohidratos durante este período. Las proteínas fueron el componente más abundante, seguido de los lípidos y posteriormente de los carbohidratos que representaron un constituyente menor durante todo el desarrollo. El huevo inicial tiene aproximadamente 1400 µg de proteínas por individuo, de las cuales se consume una tercera parte durante todo el desarrollo. El contenido inicial de lípidos fue de 900 µg, de los cuales se consumen dos terceras partes durante toda la ontogenia, por lo cual se concluye que los lípidos son el principal sustrato energético del proceso de desarrollo. El contenido inicial de carbohidratos fue de 80 µg, cantidad que se mantuvo relativamente constante desde huevo hasta juvenil.

Adicionalmente, se observó que las variaciones de estos componentes dependieron de la temperatura. A temperaturas bajas (22°C), hubo cierto consumo de carbohidratos y el consumo de proteínas fue mayor que a temperaturas más elevadas. A temperaturas altas (28 y 31°C), se incrementó principalmente el consumo de lípidos. Tanto la supervivencia como el tiempo de incubación disminuyen a medida que la temperatura aumenta. Se concluye que 25°C representa la temperatura más recomendable en términos de eficiencia en el uso de la energía.

Como último paso, se realizaron análisis histoquímicos que revelaron que, a partir de la eclosión el postembrión empieza a acumular glucógeno tanto en músculo como en hepatopáncreas y que a partir del juvenil inicia la acumulación de lípidos en células del hepatopáncreas.

Adicionalmente, se observó que las células del hepatopáncreas, las estructuras de digestión mecánica y las estructuras sensoriales están plenamente desarrolladas y por lo tanto funcionales en el juvenil de una semana de edad. Por lo anterior, se recomienda dar alimento suave a los juveniles ya que pueden necesitar varios días antes de tener plena capacidad para captar y digerir alimento exógeno.

Palabras clave: Cherax, vitelo, energía

Summary

Cherax quadricarinatus (redclaw) is an Australian crayfish that has demonstrated great potential for aquaculture. To improve our understanding of quality and quantity production, more intensive studies are required. One such area of concern is the inadequacy of a supply of fry, limits the capacity to expand the industry.

One approach is to increase our knowledge of the ontogeny of this species. For this purpose, the first step was to describe the external morphology of embryos and post-embryos. Nine embryonic stages are described for growth prior to hatching, followed by two post-embryonic stages. Development occurs for 43 days at 26°C (hatching to the day-old juvenile).

After defining and describing ontogeny in detail, the three main biochemical components of the egg (lipids, proteins, and carbohydrates) were analyzed for the same period. Proteins were the main component, followed by lipids, and carbohydrates as a minor constituent during the entire developmental period. A third of the initial egg protein (1400 µg) was consumed during development. Two-thirds of the initial lipid content (900 µg) was consumed, indicating that lipids are the main source of energy for development. Carbohydrate content (80 µg) remained relatively constant.

Additionally, we observed that variations of the biochemical components depended on temperature. At low and high temperatures (22°C and 31°C), protein consumption increased, and there is some carbohydrate consumption at 22°C. At high temperatures (28 and 31°C), lipid consumption increased. Survival and incubation time decreases as temperature increases. We conclude that 25°C is the most suitable temperature in terms of energy efficiency.

As a final step, histochemical analysis of the hatchling to two-week-old juvenile stages was performed to track energy accumulation of glycogen and lipids in hepatopancreatic and tail muscle tissue. After the juvenile stage, lipids are stored in specialized hepatopancreatic *R*-cells. Glycogen accumulates in hepatopancreatic and muscular tissue from the post-embryo I stage. Additionally, hepatopancreatic cells, mechanical digestion structures, and sensory organs are fully developed in the one-week-old juvenile.

We recommend a soft food diet because the young juvenile requires several days to reach full capability to capture and digest exogenous food.

Keywords: Cherax, yolk, energy

Conformación de comités

La presente tesis fue dirigida conjuntamente por:

Dr. Ilie Racotta Dimitrov y Dr. Humberto Villarreal Colmenares.

El comité Tutorial estuvo integrado por los siguientes miembros:

- Dr. Hector Nolasco Soria CIBNOR
- Dr. Michel E. Hendrickx Reners ICMYL, UNAM
- Dra. Bertha Olivia Arredondo Vega CIBNOR

El comité de Sinodales estuvo integrado por los siguientes miembros:

- Dr. Humberto Villarreal Colmenares CIBNOR
- Ilie Racotta Dimitrov CIBNOR
- Dr. Hector Nolasco Soria CIBNOR
- Dra. Bertha Olivia Arredondo Vega CIBNOR
- Dr. Pedro E. Saucedo Lastra CIBNOR

Agradecimientos

Pude realizar este trabajo gracias a la beca 116986, otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**).

El Dr. Ilie Racotta me dió una valiosísima asesoría durante todo el trabajo y me ayudo a reconocer y enmendar mis deficiencias. El Dr. Humberto Villarreal proveyó los recursos necesarios para hacer los experimentos, apoyo económico para salidas y asesoría. Los Dres. Hector Nolasco, Michel E. Hendrickx, Pedro Saucedo y Bertha Arredondo, integrantes del comité tutorial, contribuyeron con revisiones, críticas y comentarios muy útiles. Los Dres. Roberto Civera, Elena Palacios y Elisa Serviere dieron buenas críticas y consejos al trabajo durante la fase predoctoral.

Para no hacer una lista interminable, me limitare a mencionar a las personas que, con su ayuda desinteresada y buena disposición, fueron fundamentales para que una o mas secciones pudieran ser realizadas: Carmen Rodríguez, Maricela Rendón, Ira Fogel, Edilmar Cortés, Francisco Encarnación, Elizabeth González, Oscar Armendáriz, Clara Ramírez (ICMyL, UNAM), Margarita Cordero (ICMyL, UNAM) y Natalia Medina (ICMyL, UNAM). A todos ustedes, mil gracias.

A toda mi familia, especialmente a mi Mama, gracias por continuar poniéndolo todo de su parte para que salga yo adelante.

Gracias a mis amigos; Salvador, Tere, Jesús, Pedro, Paty, Efrén, Pablo y a toda la familia Lluch Cota por haber estado allí, dándome la mano una vez mas.

Contenido

Primera sección

Capítulo I

Introducción

1

Antecedentes

6

Estudios específicos sobre *Cherax quadricarinatus*

6

Manejo y mercadotecnia

6

Filogenia y anatomía

7

Cultivo y engorda en estanques

7

Bioquímica y fisiología

9

Genética y selección

10

Nutrición

10

Reproducción y endocrinología

11

Patología y parasitología

11

Estudios relacionados con ontogenia aplicados a acuicultura

Estudios descriptivos de caracteres externos

13

Composición bioquímica de huevos y larvas

13

Efecto de la temperatura

14

Ontogenia del tubo digestivo

14

Ontogenia de *Cherax quadricarinatus*

15

Hipótesis

15

Objetivos

Generales

16

Particulares

16

Segunda sección (Artículos producidos)

Capítulo II

17

Capítulo III

25

Capítulo IV

34

Capítulo V

42

Tercera sección

Capítulo VI

Discusión e integración

50

Morfología externa embrionaria de *C. quadricarinatus*

50

Consumo de nutrientes vitelinos durante la ontogenia

53

Conclusiones

60

Perspectivas

61

Lista de Publicaciones

- A. García-Guerrero M., Hendrickx M. y Villarreal H., 2003. Description of the embryonic development of *Cherax quadricarinatus* von Martens, 1868 (Decapoda, Parastacidae), based on the staging method. Crustaceana (Aceptado). Artículo correspondiente al capítulo II.
- B. García-Guerrero M., Racotta I.S. y Villarreal H., 2003. Variation in lipid, protein, and carbohydrate content during the embryonic development of the crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). Journal of Crustacean Biology (En prensa). Artículo correspondiente al capítulo III.
- C. García-Guerrero M., Villarreal H. y Racotta I.S., 2003. Effect of temperature on lipids, proteins, and carbohydrates levels during development from egg extrusion to juvenile stage of *Cherax quadricarinatus* (Decapoda : Parastacidae). Comparative Biochemistry and Physiology part A (En prensa). Artículo correspondiente al capítulo IV.
- D. García-Guerrero M., Rodríguez-Jaramillo C., Racotta I.S., Villarreal H. y Cortes-Jacinto E., Energy storage during the transition from endogenous to exogenous feeding in *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1898). Invertebrate Reproduction and Development (Sometido). Artículo correspondiente al capítulo V.

Lista de figuras

Capítulo II (García-Guerrero M., Hendrickx M. y Villarreal H., 2003)

Fig. 1. Eggs of *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) in stages 1-3. A; B, stage 1, 10% development, no evidence of tissue formation; C; D, stage 2, 20% development, yolk splits into large droplets, white patch of cells (arrow) visible in lower part; E; F, stage 3, 30% development, caudal papilla forming, primordial eyes and post-naupliar somites (arrow) visible.

22

Fig. 2. Eggs of *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) in stages 4-6. A; B, stage 4, 40% development, eyes lobes thickening, caudal papilla larger, horseshoe shape (arrow); C; D, stage 5, 50% development, eyes forming pronounced bulges (arrow), antennules and antennae visible, caudal papilla larger, folded, all abdominal somites forming; E; F, stage 6, 60% development, eyes spherical, a medial horizontal groove present (arrow), rudimentary pereopods present.

22

Fig. 3. Eggs of *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) in stages 7-9. A; B, stage 7, 70% development, eyes separated, pigmented. Embryo larger. Antennae folded towards chelipeds (arrow). C-D, stage 8, 80% development. Yolk groove deeper. Eyes fully pigmented, cephalic appendages longer, chelipeds larger; E; F, stage 9, 90% development, eyes tissue differentiating into two lobes, rostrum larger, embryo occupies entire ventral side.

23

Fig. 4. Egg hatching and post-embryo I in *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) at stages 10-11. A; B, stage 10, hatching, thoracic appendages functional, pereopods moving, no hair or setae, embryo still attached to chorion; C; D, stage 11, post-embryo I, chorion lost, cephalothorax with yolk hunchback, chelae larger, pereopods with dactylus hooks, abdomen curling, pleopods present, telson and uropods fused.

23

Fig. 5. Post-embryo II and juvenile of *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) in stages 12-13. A; B, stage 12, post-embryo II; hairs on pereopods and pigmentation on carapace, eye-stalk and rostrum developed, segmentation of antennules and antennae visible, abdomen stretched, telson and uropods separating; C, juvenile, yolk depleted, abdomen fully extended, uropods and telson separated and hairy, hairs on antennae.

24

Capítulo III (García-Guerrero M., Racotta I.S. y Villarreal H., 2003)

Fig. 1. Lipid concentration change through time in *C. quadricarinatus* eggs. The regression line is represented by the equation $y = 895.38 - 9.93 x$, $r^2 = 0.94$.

32

Fig. 2. Protein concentration change through time in *C. quadricarinatus* eggs. The regression line is represented by the equations $y_1 = 1443.0 - 4.46 x_1$, $r^2 = 0.90$ and $y_2 = 1936.60 - 21.10 x_2$, $r^2 = 0.96$. I = inflection point.

32

Fig. 3. Relative composition of lipid, protein, and carbohydrate (percent of organic matter per day) during embryonic development of *C. quadricarinatus*.

32

Fig. 4. Time course of wet and dry weight during embryonic development of *C. quadricarinatus*.

32

Fig. 5. Energetic equivalent for proteins, lipids, and carbohydrates in the biochemical composition per day on the embryonic development of *C. quadricarinatus*. The energy expenditure regression line is given by the equation $y = 13.86 - 0.11x$, $r^2 = 0.95$.

33

Capítulo IV (García-Guerrero M., Villarreal H. y Racotta I.S., 2003)

Fig. 1.- Survival (%; mean \pm S.D) during development from egg extrusion to juvenile stage of *C. quadricarinatus* kept at different temperatures. Bars with different letters are statistically different at $P < 0.05$.

40

Fig. 2.- Development duration (days; \pm S.D) from egg extrusion to juvenile stage of *C. quadricarinatus* kept at different temperatures. Bars with different letters are statistically different at $P < 0.05$.

40

Fig. 3.- Energy expenditure (joules.egg⁻¹) and efficiency in energy use (mean \pm S.D) during development from egg extrusion to juvenile stage of *C. quadricarinatus* kept at different temperatures.

41

Fig. 4.- Average energy cost at each stage of development of *C. quadricarinatus* at different temperatures.

41

Capítulo V (García-Guerrero M., Rodríguez-Jaramillo C., Racotta I.S., Villarreal H. y Cortes-Jacinto E.,)

Fig. 1. Photomicrographs of transverse sections of *C. quadricarinatus* hepatopancreatic tissue stained in Hematoxilin- Eosin. A: POI stage (40x, scale bar 50 µm), tissue cytologically undifferentiated. Tubules (T) are forming and traces of yolk (Y) are seen. B: One-day juvenile (40x, scale bar 50 µm), tubules (T) or ducts are formed and *R*-cells (R) can be distinguished. C: Seven-day juvenile (40x, scale bar 50 µm), *R*-cells are more evident, and have granules in the cytoplasm (G), *B*-cells (B) are recognizable. D: 14-day juvenile (100x, scale bar 20 µm), epithelium (E) more corrugated and brush border (BB) well developed.

47

Fig. 2. Photomicrographs of transverse sections of *C. quadricarinatus* hepatopancreatic tissue stained in Sudan Black (40x, scale bar 50 µm). A: One-day juvenile, slightly stained spots of tryacylglycerides (TG) and traces of yolk (Y). B: Seven-day juvenile, basal region of cells stained. C: 14-day juvenile, basal and apical regions of cells stained.

47

Fig. 3. Photomicrographs of transverse sections of *C. quadricarinatus* hepatopancreatic tissue stained in Periodic Acid Shift (40x, scale bar 50 µm). A: POI stage, irregular glycogen granules (GG). B: One-day juvenile, glycogen in epithelium and cytoplasm of most cells. C: Seven-day juvenile, glycogen present in cytoplasm, epithelium and blisters of *B* cells. D: 14-day juvenile, scantily stained areas.

48

Fig. 4. Photomicrographs of transverse sections of *C. quadricarinatus* hepatopancreatic tissue stained in Alcian Blue - Periodic Acid Shift (100x, scale bar 20 µm). A: One-day juvenile, epithelium slightly stained blue (AB). B: 14-day juvenile, some areas in epithelium are more heavily stained blue.

48

Fig. 5. Photomicrographs of longitudinal sections of *C. quadricarinatus* tail muscle tissue stained in Periodic Acid Shift (100x, scale bar 20 µm). A: One-day juvenile, fibers slightly stained magenta (GG). B: 14 day juvenile, some fibers are strongly stained magenta.

49

Lista de Tablas

Capítulo II (García-Guerrero M., Hendrickx M. y Villarreal H., 2003)

Table I.

Average lengths and widths (mm) of *C. quadricarinatus* (Von Martens) eggs and carapaces of post-embryo I (POI), post-embryo II (POII) and juvenile (J). Stages to hatching as % time.

24

Capítulo III (García-Guerrero M., Racotta I.S. y Villarreal H., 2003)

Table I

Mean biochemical composition (\pm sd) and water content during embryonic development of *Cherax quadricarinatus* from ovoposition to juvenile stage .

31

Capítulo IV (García-Guerrero M., Villarreal H. y Racotta I.S., 2003)

Table I

Values of the constants a and b for the equation $y = a - bx$, where y = the variable measured and x = days of development from egg extrusion to juvenile stage. From ANCOVA and post hoc Tukey test, slopes with different letters indicate significant differences between temperatures within each variable.

40

Capítulo V (García-Guerrero M., Rodríguez-Jaramillo C., Racotta I.S., Villarreal H. y Cortes-Jacinto E.,)

Table I

Intensity of histochemical reaction to neutral lipids, polar lipids, glycogen, and muco-substances in hepatopancreatic or muscular tissue during post-embryonic and juvenile development of *C. quadricarinatus* (HP = hepatopancreatic tissue; TGS = Tryacylglycerides; PL= Phospholipids).

49

Capitulo I

Introducción

Introducción

La acuicultura, como actividad científica y económica en el ámbito mundial, se encuentra en crecimiento y se consolida cada vez más como una alternativa adicional a la pesca para proveer organismos acuáticos como alimento. Particularmente en México, numerosos proyectos de investigación continua y planificada bajo esquemas de alto rendimiento se han consolidado para dar lugar a técnicas de cultivo orientadas a la producción de diferentes especies de interés comercial. Algunos géneros de peces (vgr., *Lutjanus*, *Paralabrax*), moluscos como las almejas (*Argopecten ventricosus*, *Pecten vogdesi*, *Nodipecten subnodosus*, *Megapitaria aurantica* y *M. squalida*) el callo de hacha (*Pina rugosa*, *Atrina maura*) y la madre perla (*Pinctada mazatlanica*) se encuentran entre las mas estudiadas (Saucedo, 2001). Entre los crustáceos, la mayor cantidad de esfuerzo en investigación ha sido con camarones peneidos tales como *Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris*.

A partir de estos estudios se ha incrementado el conocimiento pero el desarrollo de la acuicultura en México aun es incipiente. Particularmente en nuestro país, la atención de proyectos de investigación sobre especies de importancia para ser cultivadas está enfocada principalmente a especies marinas (Villarreal, 1999). Si bien las amplias costas Mexicanas son adecuadas para implementar en éstas granjas y otras instalaciones con la finalidad de producir animales marinos para el consumo humano, una excelente alternativa se tiene en el cultivo de organismos de agua dulce. En casi todo el país existen regiones no aprovechadas y con suficiente abasto de agua potable como para permitir el establecimiento, de manera redituable, de estanques para producción acuícola sin con ello alterar el equilibrio de comunidades naturales. La introducción de nuevas alternativas que contribuyan a la obtención de productos acuícolas en éstas regiones, propiciara oportunidades de trabajo, diversificará la producción y generará divisas.

Dentro de las alternativas para la producción acuícola de agua dulce, una de las opciones más atractivas es el cultivo de acociles y langostinos (Jones, 1995). El interés en el cultivo de este tipo de especies se relaciona con la necesidad de producir un acocil de gran tamaño para el mercado (Curtis y Jones, 1995). Las especies nativas de nuestro país generalmente producen organismos de menos de 60 gramos después de seis meses de cultivo, por lo que no alcanzan tallas comerciales atractivas para el mercado internacional (Jones, 1999). Esto se hace factible produciendo especies procedentes de Australia (Jones, 1999). Tal es el caso de los acociles; *yabby* (*Cherax destructor*), marrón (*Cherax tenuimanus*), *redclaw* o quelas rojas (*Cherax quadricarinatus*), espinoso de Tasmania (*Astacopsis gouldi*), espinoso de Queensland (*Euastacus hystricosus*), de Nueva Gales del Sur (*Euastacus valentulus*), y el acocil de Murray River (*Euastacus armatus*). Para algunas ya se ha demostrado que son apropiadas para la acuicultura. De éstas, el que se ha estudiado y cultivado comercialmente con mayor frecuencia es el *yabby* (Jones, 1995).

Todas estas especies de acociles se distribuyen de manera natural sólo en el hemisferio sur (Hobbs, 1974):

Phylum	Arthropoda
Clase	Crustacea
Orden	Decapoda
Infraorden	Astacidea
Superfamilia	Parastacoidea
Familia	Parastacidae

La familia Parastacidae se compone de 14 géneros (Hobbs, 1974) entre los que *Cherax* es uno de los más adaptables a ser cultivados con éxito bajo un esquema controlado (Jones, 1990a).

Dentro de este género, *C. quadricarinatus*, o langosta de quelas rojas, que es conocido por su nombre en inglés (*redclaw*), es la que ha demostrado tener el mayor potencial de producción (Villarreal y Peláez, 1999). Esta especie es nativa de los ríos del Noroeste de Australia y, aunque bien conocida localmente, su potencial de cultivo no fue descubierto sino hasta la década de los 80s (Jones, 1990a). Siendo originaria de una región expuesta a cambios ambientales rigurosos, la especie ha evolucionado como un animal resistente que tolera casi cualquier clima, pues es tolerante a variaciones en parámetros ambientales. Su cultivo requiere de agua con niveles de dureza superiores a 150 mg/L CaCO₃, pH entre 7 y 8.5 y saturación de O₂ de al menos 4mg/L (Villarreal y Peláez, 1999). Es capaz de mantener mas del 80% de su capacidad en tasa de crecimiento entre los 23 y 31°C con un optimo de 27°C (King, 1994). Puede reproducirse a temperaturas superiores a 23°C (Yeh y Rouse, 1995). Esta especie se distingue además por su amplia capacidad para ser introducida con éxito pues se adapta con gran facilidad a cualquier región templada o tropical (Jones, 1990b). Tiene un amplio potencial de distribución geográfica, ciclo de vida relativamente simple, su alimentación es sencilla y su producción es económicamente viable (Villarreal y Peláez, 1999). El sabor de su carne es agradable y su textura cumple con los mas altos estándares de calidad. Todas estas ventajas, relacionadas con sus atributos físicos, biológicos y atractivo en el mercado, la convierten en una buena opción para ser cultivada con éxito (Jones, 1990b).

Actualmente la producción de Australia es de 60 ton/año y se puede comercializar desde que alcanza los 20 g, si bien la mayor aceptación del producto se tiene con ejemplares de 30 a 50 g (Jones, 1990a). La comercialización y exportación en México, son factibles (Villarreal y Peláez, 1999). La producción en otras regiones del mundo puede iniciarse con el abasto de poblaciones procedentes de Australia o de otros lugares donde se haya introducido con anterioridad. También sería recomendable el reabasto ocasional de los lotes de reproductores con machos y hembras traídos de Australia u otros lugares donde la especie haya sido introducida, lo cual contribuiría a mantener las poblaciones de reproductores con una poza genética adecuada. Sus necesidades elementales durante el cultivo están ya convenientemente establecidas y pueden cumplirse adecuadamente sin necesidad de instalaciones costosas (Villarreal, 1998).

En términos generales, los animales se cultivan con éxito al mantenerse en estanques de tierra, en tanto estos puedan retener el agua (Jones, 1988). El área mas apropiada para éstos suele ser de aproximadamente 2500 m², con profundidad ideal desde 1 hasta 2.5 m (Villarreal y Peláez, 1999). El agua adecuada para que esta especie permanezca en cultivo puede provenir de la superficie o del subsuelo y tener un pH de entre 7 y 8.5. También es recomendable un bajo contenido de sales (4 ppm) y iones metálicos disueltos. El recambio de agua puede ser bajo o no hacerse en tanto se tenga aeración continua (Naranjo, comunicación personal). Una vez llenos los estanques se recomienda fomentar la producción primaria con el empleo de fertilizantes (Naranjo, 1999).

Es por todo este fácil manejo, que en varios países se tiene ya su cultivo bien establecido con tendencia a incrementar la producción. Los principales productores son Australia, China, Ecuador y los Estados Unidos de Norte América, en donde ha sido cultivada con éxito pues tiene excelente rendimiento, siendo capaz de alcanzar un peso de 70 a 100 g en un plazo de 6-8 meses de cultivo en condiciones tropicales (Villarreal y Peláez, 1999). La situación en México es muy incipiente. En 1990, la Dirección de Acuicultura de SEPESCA importó un lote de reproductores de acocil de quelas rojas al país. Para 1995 Acuacultivos Santo Domingo, una granja productora de tilapia en Tamaulipas, inició la evaluación del potencial de cultivo de la especie, en colaboración con el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Los primeros resultados fueron muy alentadores, lo que propició que la empresa decidiera incrementar el área de cultivo para acocil de quelas rojas. Actualmente, existen varios proyectos en fase de arranque o consolidación en el país. En la medida en que se consoliden las granjas de cultivo, se contará con una producción estable que permita establecer y estabilizar los canales de comercialización del producto en los mercados internos y externos (Villarreal y Peláez, 1999a).

Actualmente ya se obtienen rendimientos de 2, 200 a 2, 500 kg/ha en ciclo de 9 meses, en granjas comerciales del estado de Tamaulipas (Villarreal y Peláez, 1999b).

Si bien se conocen las necesidades fundamentales del acocil de quelas rojas para ser cultivado bajo un esquema redituable, la tecnología orientada a mejorar sustancialmente su producción, esta en vías de desarrollo. Aun hoy, la mayoría de las granjas que operan en Australia y el resto del mundo, incluyendo México, lo hacen en función de las prácticas que les ofrezcan mejores resultados en base a métodos preestablecidos (Jones, 1995). Actualmente se tiene el reto de expandir su mercado e impulsar su producción, para lo cual es necesario intensificar estudios científicos encauzados a ampliar el conocimiento necesario para mejorar su producción en términos de calidad y cantidad a costo redituable (Villarreal, 1997). Hoy, muchos esfuerzos se realizan con este fin. Si bien ya se investiga ampliamente sobre la biología y condiciones adecuadas para su cultivo, se tienen aún muchas incógnitas.

Uno de los aspectos que requieren ser atendidos, es la insuficiencia en disponibilidad de semilla, pues limita la capacidad de llevar a efecto con éxito la expansión de la industria. El mejoramiento de esta parte de la producción, debe estar sustentado en un claro conocimiento del desarrollo de las especies durante las primeras fases de su ciclo vital, en las que los órganos y las estructuras necesarios para el desempeño del organismo, se forman (Anderson, 1982). Lo anterior es importante porque los cambios que tienen lugar durante las diferentes fases de formación de un organismo son críticos (Adiyodi, 1982; Chu y Ovsianico, 1994; Brodie y Hardey, 2001). Para mejorar los resultados en la producción de juveniles, se requiere definir las condiciones más adecuadas para incubar los huevos (Sevilla *et al.*, 1993; Sargent, 1999). Dado la gran variabilidad de estrategias reproductivas y de tipo de desarrollo embrionario y/o larvario, es preciso analizar independientemente cada especie a cultivar (Holland, 1978; Sargent, 1999). Para poder realizarlo es importante que, como punto de partida, se conozcan claramente las etapas del desarrollo embrionario de la especie. La identificación y la descripción morfológica de las fases de desarrollo que caracterizan la ontogenia, son necesarias como herramientas que contribuyan a detectar y examinar rutinariamente el grado de desarrollo que se ha alcanzado en cada momento del cultivo, lo que facilita la producción, el manejo y contribuye a determinar los momentos críticos.

En el caso de *Cherax* el macho deposita un espermátforo en el primer segmento abdominal de la hembra. Al ovopositar, los huevos son fertilizados y su cantidad por puesta varía desde 200 hasta 900, dependiendo principalmente del tamaño de la hembra (Yeh y Rouse, 1994). El proceso de diferenciación y crecimiento se inicia con la formación de una blástula, que dará origen a una gástrula durante la cual se da un arreglo de las diferentes capas celulares de acuerdo a los tejidos que han de originar (Anderson, 1982). A partir de estas capas primordiales, el desarrollo embrionario es continuo en el interior del huevo, pasando éste por varios estadios embrionizados (Huxley, 1896). Al eclosionar, se libera una forma previa al juvenil pero ya con casi todas las estructuras, tanto internas como externas, desarrolladas (Sandeman y Sandeman, 1991). La hembra mantiene los huevos o post-embriones adheridos a los pleópodos hasta que éstos se convierten en juveniles. Durante este tiempo, son protegidos y mantenidos limpios por ésta, además que fomenta, con el movimiento de los pleópodos y del abdomen, la recirculación de agua (Levi *et al.*, 1999). Este proceso ha sido descrito para *Cherax destructor* (Sandeman y Sandeman, 1991) pero hasta antes del presente trabajo, no lo estaba para *C. quadricarinatus*.

De contarse con información detallada sobre este proceso para la especie en cuestión, sería posible, con esta referencia, evaluar los diferentes fenómenos fisiológicos y bioquímicos que suceden durante la ontogenia para con ello conocer los requerimientos del organismo en formación. Por los estudios previamente realizados, se sabe que la evaluación de la dinámica de las principales reservas vitelinas durante el desarrollo embrionario (lípidos y proteínas) constituye un excelente indicador de las necesidades nutricionales del huevo (Holland, 1978; Sargent, 1999). Ya que dichos nutrientes son los mayoritariamente empleados durante la ontogenia (Cahu *et al.*,

1988). Las proteínas son necesarias para construir tejido y para generar energía (Stryer, 1995). Un balance adecuado de proteínas provee los aminoácidos necesarios para la formación de la estructura tisular (De Silva *et al.*, 1998). Aunque los requerimientos de este componente dependen de la especie y de la fase de desarrollo en que se encuentra (Holland, 1978; D' Abramo *et al.*, 1997). Los lípidos proveen la principal reserva energética en casi todas las especies acuáticas durante la ontogenia (vgr. triglicéridos, Holland, 1978; Cavalli *et al.*, 2000). Además son precursores para la síntesis de compuestos funcionales (vgr. colesterol) y estructurales (vgr. fosfolípidos) indispensables en cualquier organismo en crecimiento (Heras *et al.*, 1998). La información sobre las necesidades de carbohidratos para crustáceos no está suficientemente estudiada (D' Abramo *et al.*, 1997). Aunque es claro que son importantes para sintetizar intermediarios y moléculas clave del metabolismo y, en el caso de los crustáceos, indispensables para proveer los polisacáridos que conforman el exoesqueleto (Stryer, 1997). Sin embargo, está demostrado que dichas biomoléculas no son el principal recurso energético durante la ontogenia de especies cuyos huevos se desarrollan en el agua (Holland, 1978).

De acuerdo a los estudios previos se espera que la concentración de los componentes arriba referidos cambie a medida que avanza el desarrollo, siendo estas variaciones en la concentración, un indicador de las necesidades nutritivas para este periodo (Holland, 1978; Bromage y Roberts, 1990; Sargent, 1999). Hay estudios previos que ponen de manifiesto la importancia de los componentes vitelinos del huevo durante el desarrollo embrionario, pues la falta o escasez de alguno de éstos puede ser determinante en la supervivencia y calidad del juvenil producido (vgr., Clarke *et al.*, 1990; Biesiot, 1995; Mourente *et al.*, 1995; Coutteau *et al.*, 1997; Heras *et al.*, 1998; Cavalli *et al.*, 2000). De acuerdo con éstos trabajos, cuando la cantidad y las proporciones de éstos nutrientes no son apropiadas, el crecimiento es deficiente y se pueden presentar altas mortalidades debido a un bajo aporte de algún elemento esencial (Petersen y Anger, 1997; Rønnestad *et al.*, 1998). De manera similar, algunos estudios describen los cambios en la concentración de lípidos, proteínas y carbohidratos durante el desarrollo embrionario y su relación con la calidad de la post-larva obtenida (Palacios *et al.*, 1999), haciendo énfasis en la importancia de ésta dependencia. Para definir estas necesidades, hay que considerar que los requerimientos nutricionales de un embrión lecitotrófico no pueden ser estudiados directamente (Holland, 1978). Es necesario conocer los cambios que ocurren en la composición bioquímica total del huevo durante diferentes momentos de la ontogenia e inferirlos a partir de estos (Fraser *et al.*, 1989). Esta información contribuye a que sea más eficiente la producción de juveniles, al establecer los requerimientos del embrión en términos de tipo, cantidad y calidad de reservas vitelinas (Holland, 1978). La información que se obtiene de este análisis contribuye a conocer las necesidades nutricionales de la especie durante su incubación e incluso en fases posteriores de su producción (Whyte *et al.*, 1990).

Debido a la variedad de estrategias reproductivas entre los decápodos, los huevos varían en número depositado, tamaño y composición bioquímica (Watanabe *et al.*, 1984). Esta última depende de los antecedentes nutricionales de la hembra que los pone (Rønnestad *et al.*, 1998). El desarrollo embrionario de los Astácidos y Parastácidos es lecitotrófico primario, lo que implica dependencia nutricional del vitelo durante toda la ontogenia (Anderson, 1982). Dado que el alimento proporcionado a la hembra durante su maduración determina la composición del vitelo, la dieta que ésta reciba es uno de los factores que más influyen para que se tenga éxito en la producción de juveniles (Ouellete y Taggart, 1992).

Es importante aclarar que, además de lo antes mencionado, los factores ambientales a que se expongan los huevos, pueden influir en la eficiencia del uso que estos hagan del vitelo (Booth, 1998; Estévez *et al.*, 1998). Los más relevantes son la salinidad, el oxígeno disuelto y la temperatura (Lasker, 1964). La temperatura es particularmente importante para los organismos poiquilotermos, como lo son los crustáceos, pues influye en la duración del desarrollo embrionario (García-Guerrero, 1994). Determina su tasa metabólica (Schmidt -Nielsen, 1995) así como el uso que del vitelo haga un embrión en desarrollo (Pavlov y Moksness, 1995; Lein *et al.*, 1997; Gilroy y

Edwards, 1998; Lemos y Phan, 2001). Aunado a la detección de la variación en concentraciones de los nutrientes, existe la necesidad de establecer cual es la temperatura a la cual éstos son empleados con mas eficiencia durante la ontogenia.

El desarrollo exitoso del embrión puede ser condicionado por el tipo, la cantidad, la calidad de nutrientes disponibles y por las condiciones ambientales en que se mantengan los huevos. Sin embargo, la capacidad del embrión para almacenar y metabolizar los nutrientes, es también condicionante del éxito en la producción de juveniles. En virtud de que en esta especie la ontogenia depende de las reservas vitelinas para subsistir, es de esperar que los órganos especializados en la digestión y el almacenamiento de nutrientes, tengan un desarrollo paralelo al consumo de éste y a la capacidad de digerirlo y almacenarlo. Esta capacidad aumenta con el avance de la ontogenia (Loya-Javellana *et al.*, 1994). Los Parastacidae, tienen un sistema digestivo compuesto por esófago, estómago, hepatopáncreas y recto, básicamente (Vogt, 2002). Dado el tipo de desarrollo embrionario que tienen, las células primordiales del hepatopáncreas son funcionales cuando el huevo eclosiona, pero las estructuras moledoras y masticadoras que capacitan al organismo a procesar alimento exógeno, se terminan de desarrollar hasta que alcanza el grado de juvenil (Loya-Javellana *et al.*, 1994). Esto implica que la estructura y el funcionamiento del tubo digestivo condicionen la supervivencia del juvenil una vez liberado de la madre. En particular, la capacidad de almacenamiento y uso de reservas nutritivas en los tejidos, alternas a las reservas vitelinas, debe iniciarse antes del agotamiento del vitelo, permitiendo así al organismo sobrevivir durante el período que necesita para habituarse al medio y desarrollar las habilidades para encontrar alimento.

Antecedentes

Estudios específicos sobre *Cherax quadricarinatus*

Actualmente, existe un importante sustento de investigación sobre el género *Cherax* en particular para *C. destructor* y *C. quadricarinatus*. En el caso de *C. quadricarinatus*, dado el origen de la especie, gran parte de los estudios se han realizado en Australia, no obstante también se han hecho investigaciones en China, Israel y Ecuador, por ser los primeros países en importar ejemplares para iniciar su cultivo (Jones, 1990). Casi todos los aspectos que deben ser evaluados cuando se pretende cultivar intensivamente una especie con fines comerciales, han sido considerados. A continuación se ofrece una reseña de los trabajos más relevantes, relativos a cada una de las áreas a las que se ha prestado mayor interés:

Manejo y mercadotecnia

Horwitz (1990) analiza los problemas que se derivan de la introducción de acociles lejos de sus lugares de origen, tanto del acocil de quelas rojas como del *yabby* y del marrón, tomando en cuenta los mecanismos necesarios para regular los aspectos relacionados con la interacción con especies nativas, la alteración del hábitat, el impacto y la posibilidad de hibridación. Hutchings (1990a) analiza el mercadeo del *redclaw* en Australia con base en los costos de producción y ganancias. Hutchings (1990b) analiza el manejo y empaque del producto, recomendando para ello el empaque cebollero. El transporte poscosecha del producto, fue analizado por Jones (1990a), quien sugiere el transporte vivo en hieleras a 15°C. Recomienda el sacrificio de los animales con shock termico a -18°C durante media hora antes de ser cocinados. Jones (1990b) analiza el manejo de la producción de juveniles, sugiriendo dividirla en 4 etapas (selección de reproductores, desove, incubación de los huevos y manejo post-eclosión). Rubino (1992) analiza los aspectos económicos de importar el cultivo de acocil de quelas rojas a los Estados Unidos de norte América y sugiere que hay que considerar todos sus aspectos biológicos para evaluar los costos de producción, las cadenas comerciales y la aceptación en el mercado. Holdich (1992) hace un análisis comparativo de los alcances hasta ese momento de la astacicultura en Europa, Estados Unidos, China, Australia y Kenia. Hace énfasis en lo fácil que resulta el incubar los huevos pues no tienen fases larvales para las cuales se requiera de producir un alimento especial. Destaca al acocil de quelas rojas como uno de los candidatos mas prometedores a ser cultivados bajo un esquema redituable, aunque tiene la desventaja de no tolerar las bajas temperaturas, lo cual limita su cultivo en el caso de Europa y en el norte de Estados Unidos de norte América. Medley *et al.* (1994) hicieron un análisis económico de los riesgos relacionados con el cultivo de acociles en Estados Unidos de norte América, mostrando el potencial económico de cultivarlos a baja, media y gran escala. Mills *et al.* (1994) hicieron un estudio donde se comparan y discuten las ventajas y desventajas económicas de cultivar a los acociles marrón, *yabby* y acocil de quelas rojas. De este estudio, se desprende que falta mucha investigación para seleccionar a uno de estos como el mejor. Rouse (1994) hace un estudio donde analiza la factibilidad de cultivar al acocil de quelas rojas en Ecuador. Concluye que el citado país reúne ampliamente los requisitos para el cultivo de acocil de quelas rojas. Jones (1995a) ofreció un estudio que detalla el potencial de *C. quadricarinatus* para ser cultivado en un amplio intervalo de temperatura, de salinidad y con diversos tipos de alimento, señalando la facilidad con que se reproduce la especie en condiciones controladas. El mismo autor propone la producción de juveniles en tres etapas; primero el desarrollo de las condiciones adecuadas para incubación (Jones, 1995b), segundo los aspectos relacionados con la nutrición y el hábitat adecuados (Jones, 1995c) y tercero, el manejo de estanques y de siembra (Jones, 1995d). Medley *et al.* (1995) hicieron una compilación de mas de 270 trabajos publicados entre 1985-1995 sobre la biología general y el manejo de *C. quadricarinatus*, tanto en Australia como fuera de ese continente. Curtis y Jones (1995) han analizado las ventajas del cultivo y sus posibilidades como industria comercialmente factible.

Ofrecieron un análisis de las prácticas de manejo de reproductores más recomendables, de la nutrición y el manejo poscosecha, haciendo énfasis en la posibilidad de exportación. Rouse (1995) ha estudiado extensivamente el cultivo de acociles en América, considerando que, fuera de Australia, no hay especie con mayor potencial que *C. quadricarinatus*. En China, Yixiong *et al.* (1996) han analizado extensivamente los pros y contras de la introducción de la especie, determinando que en las condiciones que se puede cultivar allá, el acocil de quelas rojas es el más rentable de entre seis especies introducidas, y que han sido analizadas y que, por lo tanto es el más propicio para el mercado Chino y de exportación. Jones y Ruscoe (1998) analizaron el mercado potencial para el acocil de quelas rojas en Estados Unidos de norte América en función de las ganancias que se pueden obtener y concluyen que es redituable. Jones y Grady (2000), elaboraron un manual especializado en el manejo del producto.

Filogenia y Anatomía

Se han realizado al menos dos trabajos compilatorios muy completos que discuten aspectos relativos a la biología de acociles de agua dulce. Uno es el trabajo clásico de Huxley (1896) y el otro es el editado por Holdich (2002). Hay también un trabajo especial solo para los acociles Australianos (Smith, 1911). Hobbs (1974) definió claramente la posición filogenética de *Cherax*, en un trabajo que es una revisión que incluye a todos los acociles de agua dulce, explicando la posición taxonómica del grupo con respecto a los decápodos y los crustáceos en general. Este aspecto fue actualizado y redefinido por Austin (1995). Algunos estudios se han realizado sobre las características anatómicas del grupo, aunque son pocos los estudios que se enfocan en particular a *C. quadricarinatus*. Entre los más importantes, Jones (1990) realizó un folleto sobre la biología general de la especie, describiendo su anatomía, el dimorfismo sexual, el ciclo de vida, la reproducción, su crecimiento, su alimentación y su conducta. Por otro lado Medley (1993) describe los caracteres externos e internos que definen a este tipo de especímenes. Loya Javellana *et al.* (1994) hicieron una descripción a nivel histológico de la ontogenia de las estructuras digestivas de *C. quadricarinatus*. El crecimiento proporcional de los quelípedos en función del músculo abdominal en machos y hembras fue estudiado por Gu *et al.* (1994), quienes determinaron que los machos tienen las quelas más largas y anchas que las hembras a una misma talla abdominal, y que esta diferencia se incrementa a mayores tallas. Otro trabajo trata las características morfológicas externas del abdomen, del cefalotórax y de los pereiópodos y la relación de éstos con la ubicación de los gonoporos en hembra y macho (Shao *et al.*, 1995). La capacidad reproductiva de los especímenes intersexuales fue estudiada por Sagi *et al.*, (1996a), así como una descripción de los cambios anatómicos, morfológicos y fisiológicos que tienen lugar cuando la hembra se prepara para su primer ciclo reproductivo (Sagi *et al.*, 1996b). La descripción de la estructura de las partes bucales de los juveniles y el desarrollo de éstas hasta la fase adulta fue revisada por (Loya-Javellana y Fielder, 1997). Batang e Hiroshi (2000) estudiaron la estructura de las branquias en adultos, así como los mecanismos de limpieza de las mismas, encontraron que tienen un epitelio grueso y que hay un mecanismo permanente de agitación pasivo que las limpia constantemente de impurezas. Recientemente, se ha descrito la estructura branquial de la especie, en función de los mecanismos de recirculación de agua a través de sus diferentes capas, filamentos y estructuras (Batang y Susuki, 2000).

Cultivo y engorda en estanques

Hutchings (1990) hizo un estudio de cultivo en estanques a pequeña escala, teniendo como variante el estanque con fondo de tierra o con lona de plástico, determinó mejores resultados si se usa la lona de plástico. Austin (1992) realizó estudios preliminares que examinan las posibilidades de producir acociles en estanques de tierra sembrando juveniles de 3.5g, con alimento peletizado para camarón, obtuvo animales de 27g en 90 días y una supervivencia del 79%. Du-Boulay *et al.*, (1993) estudiaron el cultivo intensivo del acocil de quelas rojas, y observaron que la principal limitante es el canibalismo, aunque la provisión de refugios puede reducir este problema hasta en

un 33%. La funcionalidad de tres diferentes tipos de refugios (empaques plásticos de desecho, tubos de PVC y piedras) fueron evaluados por Karplus *et al.* (1995) en la engorda de juveniles, los tubos de PVC resultaron ser los mas eficientes y las piedras los de menor eficiencia pues tuvo un mayor índice de canibalismo en este ultimo caso. Las ventajas del cultivo monosexual han sido analizadas por Curtis y Jones (1995), quienes concluyen que el cultivar machos y hembras por separado da lugar a tallas mas grandes bajo las mismas condiciones de alimentación y en el mismo periodo de tiempo que si cultivan juntos. Jones (1995a) estudió la producción de juveniles bajo tres esquemas, diferentes en cuanto a la dimensión de los estanques, la densidad de siembra y la duración del ciclo. Encontró que la talla de los juveniles producidos puede variar de 0.31 a 1g, por lo cual se recomienda perfeccionar la producción incrementando la disponibilidad de alimento y la duración del ciclo. Jones (1995b) sembró juveniles recién eclosionados en acuarios durante 39 días, proporcionando diferentes tipos de alimento y con presencia-ausencia de macroalgas flotantes; concluye que el alimento fresco es mas recomendable y que la presencia de macroalgas no es adecuada. Jones (1995c) ha desarrollado tecnologías para controlar la producción de juveniles y concluye que una temperatura de 24 a 27°C, 14 horas al día de luz, y refugios artificiales para las hembras, son factores indispensables para el optimo desarrollo embrionario y post-embrionario. Hume *et al.*, (1995) han usado plantas de maíz para fertilizar los estanques de cultivo, encontraron que es adecuado pues ayuda a controlar el nivel de pH, además de lo económico que resulta pues se trata de plantas de desecho. Pinto y Rouse (1996) estudiaron el cultivo en estanques de *C. quadricarinatus* a tres densidades de siembra diferentes (1, 3 y 5 animales m²) y encontraron que el peso obtenido al final del ciclo, es inversamente proporcional a la densidad de siembra, al igual que se ha observado con otras especies en cultivo. Barki *et al.* (1997) comprobaron que la distribución espacial de la comida en los estanques influye en el desempeño de los acociles allí sembrados; observaron que el suministro de alimento cada cuatro días vuelve a los acociles agresivos y estresados en comparación con el suministro diario. En Zambia, Grubb (1997) hizo estudios para importar la especie para su cultivo, que consideró como recomendable ya que puede tolerar las altas temperatura de ese país y soporta densidades de cultivo muy altas. También indica que el escape accidental de animales al medio no representaría un problema dado la fuerte cantidad de depredadores que tendría entre los animales locales. Este análisis también ha sido realizado en Ecuador por parte de Romero (1997) quien sugiere que el lugar tiene amplias regiones adecuadas para el cultivo de este acocil y es muy alto el potencial que este país tiene en este sentido, comparable al de Australia. Kotha y Rouse en 1997, analizaron las posibilidades de un policultivo de acocil con la tilapia del Nilo, concluyendo que no es recomendable esta combinación para *C. quadricarinatus* dado que la supervivencia y crecimiento son mas bajos en presencia de la tilapia. En China se ha introducido el cultivo de la especie, se alimento con caracol y residuos de camarón, en policultivo con camarón y tilapia. Bajo estas condiciones el acocil sobrevive un 68% si la densidad no supera los 20 individuos/m² (Wang *et al.*, 1998). También se ha analizado, por parte de Karplus *et al.*, (1998) el cultivo a baja temperatura, durante el invierno, en Israel. De sus trabajos se desprende que al cultivar a temperatura de 10°C el crecimiento es mínimo y mueren el 40% de los organismos durante el ciclo, que es de 170 días.

Recientemente, se han elaborado manuales especializados que discuten los aspectos mas importantes relacionados con la producción de acociles, desde el diseño de una granja y los criterios para la selección del lugar, hasta el manejo postcosecha del producto y su introducción al mercado, con un análisis económico detallado del mismo (Villarreal y Peláez, 1999; Jones, 1999). El Departamento de Industria de Queensland en Australia, produjo un poco mas adelante otro manual para el manejo del producto y su introducción al mercado (Jones y Grady, 2000). El mismo departamento, en 1998, había producido para la especie un manual especializado en la crianza. Este mismo departamento (Jones y Ruscoe, 2000) produjo un trabajo donde se evalúa la talla mas adecuada de siembra en estanques de tierra, en función de la densidad de siembra. Se encontró que a medida que se aumentan las densidades, baja la talla media de cosecha (estudio realizado en un ciclo de 170 días. Para conocer la competencia y adaptabilidad entre especies, se ha considerado el policultivo con peces (Rouse y Kahn, 1998; Barki *et al.*, 2001, Karplus *et al.*, 2001).

De estos trabajos se desprende que las tilapias, principalmente, pueden cultivarse exitosamente con este acocil sin que se vea afectada la supervivencia en ninguna de las dos especies (*). Barki y Karplus (2000) han estudiado la máxima densidad soportable por hembras mantenidas en tinas y lograron mantener con éxito hasta 60 animales por m² en los tanques. Salame y Rouse (2000) compararon la efectividad del alimento peletizado contra los forrajes y la combinación de ambos en organismos en cultivo semi intensivo y descubrieron que la combinación ofrece una dieta mas variada y por tanto, existe una mejoría en el crecimiento. Jones y Ruscoe (2001) evaluaron cinco tipos diferentes de refugios en juveniles cultivados en estanques de tierra, en función del crecimiento y supervivencia de estos. Encontraron a los racimos de malla como los más efectivos. (*) Esta afirmación se contradice con lo recomendado por Kotha y Rouse (1997).

Bioquímica y Fisiología

Anson y Rouse (1994) evaluaron el efecto de la salinidad en la eclosión de huevos. Encontraron que la supervivencia de los post-embriónes disminuye a medida que aumenta la salinidad del agua en que se mantienen y que no sobreviven si se les mantiene por dos semanas o mas en agua con mas de 11g/l de sal. Meade *et al.*, (1994) midieron el calor liberado y la tasa de respiración a 28°C teniendo como variante el nivel de O₂ disuelto en el agua. Encontraron que al exponer los acociles a un nivel de 25% de saturación de O₂ o inferior el organismo empieza a tener problemas de estrés anóxico. El efecto de la salinidad en la supervivencia de juveniles, ha sido estudiado por Jones (1995a) quien determinó que toleran sin problema hasta 18 ppm, mientras que entre 19 y 24 ppm los organismos mueren en el plazo de una semana. En cuanto a la temperatura, Jones (1995b) determinó que toleran un intervalo de 20 a 34°C y que mueren a temperaturas mas altas. En base a sus resultados, propone el intervalo de 24 a 28°C como el mas recomendable para su crecimiento. Austin (1995) ha estudiado el efecto combinado de la temperatura y de la salinidad combinadas en el crecimiento y la supervivencia de juveniles y encontró que el intervalo de 25 a 30°C propicia un crecimiento significativamente mas elevado que el de 15 a 20°C y que desde 0.2 hasta 14 ppm de salinidad no existen diferencias significativas. La toxicidad de los nitritos en organismos recién eclosionados ha sido analizada por Rouse *et al.* (1995) quien encontró una reducción del crecimiento equivalente a 17% y de la supervivencia en un 5% al mantener a los organismos 48 h en agua con 29.3 mg/l de nitritos y después de un mes a esta exposición, todos mueren. Yeh *et al.* (1995) estudiaron el efecto de la temperatura y de la densidad en las tasa de desove y encontraron que la temperatura influye fuertemente, pues al aumentarla se aumento la frecuencia de desove obteniendo la máxima a 30°C. De las tres densidades empleadas (10, 15 y 20 hembras/m²), no se tuvieron diferencias significativas. Loya Javellana *et al.* (1995) han analizado el efecto de la talla del animal y la frecuencia alimenticia en la evacuación de heces. Encontraron que la producción fecal no esta influenciada por la frecuencia alimenticia y concluyen que este acocil tiene una gran capacidad para procesar el alimento. Sheehy *et al.*, (1995) idearon un método para determinar la edad en acociles que consiste en usar como indicador la concentración de lipofuscina en el lóbulo olfatorio derecho, con lo cual se vio que se puede determinar la edad con esta herramienta con hasta un 95% de confianza. Sagi *et al.*, (1995) estudiaron los carotenoides y tres derivados de estos en gónadas de hembras maduras; encontraron que están presentes de manera abundante en los ovarios durante la fase vitelogénica tardía, estado en el cual los niveles son muy bajos en el hepatopáncreas y no fueron detectados en el tejido muscular. La toxicidad del amonio, de los nitritos y de los nitratos en juveniles ha sido evaluado por Meade y Watts (1995), encontrando que el consumo de oxígeno en animales expuestos a niveles de hasta de 25 mg/l total de NH₃ y 10 mg/l de NO₂ no es significativamente diferente que en condiciones normales y no hay mortalidad, pero por arriba de estos niveles el consumo de O₂ decrece y los animales ya no se recuperan. Barki y Hulata (1996) revisaron el ciclo anual de desove y la alternancia de este con la muda y encontraron que los dos obedecen al mismo patrón de dos regímenes de fotoperiodo, con tres desoves y dos mudas anuales estacionales. Austin (1998) comparó la fecundidad de *C. quadricarinatus* y *C. destructor*, concluyendo que este último produce 1.5 veces mas huevos por hembra a la misma talla. Asgari *et al.*, (2001) estudiaron

la composición de ácidos grasos en los tejidos de organismos de diferentes edades, descubriendo que la composición es similar para todas las edades. Abdu *et al.*, (2001) estudiaron la lipoproteína que compone el vitelo hallando que esta compuesta de seis sub unidades densas y susceptibles a degradación por enzimas.

Genética y selección

Gu *et al.*, (1995) compararon los genotipos, en cuanto a rapidez de crecimiento, de tres diferentes familias de acociles de esta especie, provenientes de tres diferentes ríos de Australia; Weipa, Gilbert y Mitchell. De esto, se concluyó que los de Gilbert tienen un componente genético hereditario que puede propiciar un crecimiento medio significativamente superior bajo las mismas condiciones. El mejoramiento genético de la especie, en lo que respecta a su tasa de crecimiento, fue estudiado por Jones *et al.*, (2000), determinando que, entre diferentes cepas seleccionadas, se pudieron conseguir individuos cuya tasa de crecimiento sea de 9.5% mas rápida que la de los individuos control.

Nutrición

Loya Javellana (1993) comparó la aceptación de alimentos de origen vegetal y animal en función de la talla de los organismos y observó que los más pequeños (20-75mm) prefieren los vegetales, en tanto que arriba de esta talla solo lo comen si el alimento les es colocado junto a los refugios. Thomas *et al.* (1993) cultivaron acociles en tanques poblados con caracoles de agua dulce y recomiendan ampliamente esta opción pues el acocil come activamente a los caracoles. Meade y Watts (1993) analizaron varias dietas administrada a juveniles recién liberados de la hembra, detrrminando que dependiendo de la dieta empleada, la supervivencia de estos después de un mes, puede variar del 10 al 91%. El peor resultado se tuvo con el alimento comercial Argent® y el mejor con el UAB® formulado. Jones (1995) evaluó el efecto de cinco dietas peletizadas contra dietas naturales en el crecimiento de juveniles, observando que las dietas naturales ofrecen mejores resultados pero son mas laboriosas. Meade y Watts (1995) evaluaron la ganancia en peso de juveniles en engorda al administrar dietas formuladas comerciales y otros alimentos por separado tales como hojuelas de camarón, spirulina y krill congelado, determinando que ninguno de estos, por separado puede ofrecer una supervivencia del 100% y que la combinación de estos alimentos puede ofrecer mejores resultados. Anson y Rouse (1996) analizaron diferentes dietas comerciales administradas a juveniles, concluyendo a los nauplios de *Artemia* como los mas efectivos en cuanto a ganancia en peso. El efecto de la cantidad de alimento y de la inanición sobre el crecimiento ha sido analizado por Gu *et al.*, (1996) quienes concluyen que el incrementar la cantidad de alimento administrado provoca un incremento en la cantidad de proteína corporal y un decremento en la cantidad de agua en los tejidos. Harpaz *et al.*, (1998) estudiaron el efecto de los carotenoides provenientes de diferentes tipos de alimento, sobre el crecimiento y la pigmentación de juveniles, encontrando que los acociles que recibieron carotenoides en la dieta exhibieron mejor coloración corporal que los que no recibieron este pigmento. Chang (2001) evaluó dietas formuladas a partir de plantas asiáticas, y las comparó con alimentos comerciales y mostraron que el crecimiento y la digestibilidad son similares pero es mas barato el alimento vegetal. El requerimiento de proteina cruda para juveniles ha sido estudiado por Manomaitis *et al.*, (2001) quienes analizaron el efecto de diferentes niveles (25%, 30%, 35% y 40%) en el crecimiento, teniendo como resultado que los niveles bajos son los mas eficientes si se alimentan los organismos dos veces por día. Figueredo *et al.*, (2001) estudiaron las enzimas digestivas del tracto en juveniles, observando actividad de proteasas, carbohidrasas y lipasas en la glándula digestiva y con mas intensidad en el fluido gástrico.

Reproducción y Endocrinología

Sammy (1988) revisó la capacidad reproductiva de la especie en su ambiente natural. Explica que puede reproducirse todo el año en tres ciclos durante los meses de verano y dos durante los de invierno. También destaca la importancia de la talla de la hembra como determinante de su fecundidad. King *et al.*, (1993) evaluaron la fecundidad en hembras de la especie y hallaron que si se las mantiene a 25°C con fotoperiodo 12:12 pueden desovar todo el año. Los desoves pueden ocurrir dos o tres veces entre muda y la cantidad de huevos producidos es directamente proporcional al peso de la hembra. Yeh y Rouse (1994) analizaron el ciclo reproductivo anual, determinado que el pico está entre mayo y julio. Si se incrementa el fotoperiodo de 12L:12D a 14L:10D, este pico puede manipularse en estación, pero no en extensión. Zimmermann y Fielder (1994) ablacionaron la glándula androgénica en machos juveniles, lo cual se traduce en el desarrollo de caracteres sexuales secundarios femeninos. Rouse y Yeh (1995) han analizado los factores que fomentan el desove en hembras mantenidas en tanques a cubierto, determinando que el fotoperiodo y la temperatura son los más importantes. Recomendaron una combinación de 14 horas de luz y un intervalo de temperatura de 28 a 30°C. La funcionalidad de los intersexos (individuos con ovarios previtelogénicos) ha sido analizada por Sagi *et al.* (1996a) quienes encontraron que también son viables como machos pues hay todos los órganos para ello, pero sin que esto sea indicador de que haya hermafroditismo en la especie. Sagi *et al.*, (1996b) analizaron la madurez gonadal en hembras primerizas en función de los cambios morfológicos y fisiológicos de la gónada, concluyendo que los oocitos crecen de tamaño continuamente hasta su madurez, y el incremento en diámetro de los ovocitos está directamente relacionado con la concentración de astaxantina en la hemolinfa. El efecto de la insulina en el metabolismo de la glucosa y de la leucina ha sido analizado para la especie por Richardson *et al.* (1997) quienes han encontrado que el inyectar esta hormona incrementa la capacidad de síntesis de glucógeno muscular y en el hepatopáncreas. Barki y Karplus (1998) estudiaron el comportamiento copular de machos y hembras por pares, resultando de este estudio que casi siempre la hembra inicia el cortejo induciendo el comportamiento del macho a que se coloque dorsalmente bajo ella para el apareamiento. Silkovsky *et al.* (1999) compararon las prostaglandinas de este acócil y de *Macrobrachium rosenbergii* encontrando que, dada la diferencia en estrategia reproductiva, las dos especies responden diferentemente a la misma hormona. Sagi *et al.* (1999), determinaron el efecto de la glándula androgénica en la vitelogénesis secundaria, descubriendo que los niveles altos de la hormona en la hemolinfa propician la vitelogénesis. Levi *et al.* (1999) estudiaron los cuidados maternos a los huevos por parte de la hembra, quien proporciona aeración moviendo los pleópodos; al eclosionar los huevos, despliega el abdomen propiciando un mayor contacto de estos con el medio externo. Yehezkel *et al.* (2000) estudiaron la estructura de la lipoproteína asociada a la vitelogénesis, observando que se compone de dos sub unidades de 96 daltons. Por su parte, Abdu *et al.* (2000) estudiaron la dinámica de los polipéptidos y el desarrollo de los oocitos durante la maduración; los polipéptidos encontrados en el ovario previtelogénico son de bajo peso molecular en tanto que en los ovarios vitelogénicos hay cuatro tipos específicos, solo uno de estos de bajo peso molecular. Khalaila *et al.* (2001) estudiaron el efecto de implantar hormonas androgénicas a las hembras, y observaron que el índice gonadosomático de las hembras implantadas era significativamente más bajo que aquel de las hembras control. Meade y Watts (2001) estudiaron la compensación fisiológica de las hembras ablacionadas, concluyendo que la frecuencia de mudas es similar que las hembras control pero las ablacionadas tienen mejor capacidad para sintetizar proteínas.

Patología y Parasitología

Herbert (1987) estudio a los epibiontes de *C. quadricarinatus* como causantes de enfermedades y determinó que en una población estudiada en su ambiente natural, es común encontrar al menos dos especies de hongos oomicetos infectando los huevos. También fue frecuente encontrar protozoarios epibiontes, incluyendo a los ciliados *Zoothamnium* sp., *Vorticella* sp. y *Lagenophrys*

sp, o bien tres platelmintos ectocomensales y un nemátodo comensal. El parásito *Psorospermium* sp. fue encontrado por primera vez en un Parastacido. El microsporidio *Thelohania* sp. también fue encontrado incidentalmente, al igual que otras especies como *Zoothamnium*, *Epistylis* y algunos temnocéfalos. Sin embargo, denota como peligrosos solo a algunos causantes de enfermedades endémicas (*Thelohania* sp, ciliados y platelmintos). En particular, en el caso del hongo microsporidium *Thelohania* sp., Herbert (1988) encontró que puede infectar a los acociles silvestres hasta en un 7.8% del total de animales en una población dada. Un manual sobre los parásitos que pueden infectar al acocil en estanques fue elaborado por Pearce (1990). Como los mas dañinos y frecuentes, reporta al los temnocéfalos, a los nemátodos y a las colonias de hongos. Keteer *et al.* (1992) estudiaron la infección de estos acociles por parte de *Rickettsia*, un protozoario. Vieron que es frecuente encontrarla en los filamentos de las branquias y que puede conducir a hiperplasia e hipertrofia en las células de este órgano, principalmente. La patogenicidad de *Vibrio* ha sido estudiada por Wong y Desmarchelier (1994) y concluyeron que hasta el 45% de los animales en cultivo pueden tener hasta 100 unidades formadoras de colonia por cada mg de tejido, lo que produce una enfermedad sistemática en los animales infectados. Sewell y Withington (1995) hicieron un estudio sobre platelmintos y temnocéfalos ectosimbiontes de la cámara branquial de acociles juveniles y adultos, en el cual se describe las estructuras succionadoras y de sujeción que permiten a estos ectoparásitos fijarse a la cámara branquial de los acociles. Jones y Lester (1996), estudiaron los factores que propician la infestación en exoesqueletos de acociles por parte del temnocéfalo *Diceratocephala boschmai* (Platyhelminthes; Temnocephalida) y determinaron que el cultivo en estanques propicia la propagación del parásito. Sin embargo, los hábitos de acicalamiento del acocil contribuyen fuertemente a controlar este problema, al igual que la muda, que propicia la expulsión al perderse el exoesqueleto viejo. Edgerton y Owens (1997) analizaron las edades a las que el acocil es mas susceptible de ser infestado por bacilovirus y observaron que una hembra ovígera infectada fácilmente puede transmitir el virus a todos los huevos. Romero y Jiménez (1997) analizaron la infestación de huevos de hembras ovígeras por parte de *Epistylis* sp. Concluyeron que en los cultivos intensivos, hasta el 40% de las hembras pueden estar infectadas por el hongo, que se aloja en exoesqueleto y superficie de los huevos. Los depósitos de hierro en el exoesqueleto se estudiaron por parte de Jiménez y Romero (1998), quienes determinaron que el organismo puede acumularlos en la cutícula. Asimismo, Jiménez *et al.* (1998) descubrieron que en el Ecuador existe un comensal que habita en la cutícula de los juveniles y de las adultos; se trata de un procarionta con forma de pera llamado *Mycoplasma gallisepticum*. Por su parte, Saker y Egleshian (1999) han estudiado la acumulación de las cianobacterias *Cylindrospermopsis raciborskii* en tejidos de acocil en estanques; sus resultados indican que hasta un 93% de los animales analizados pueden estar infestados. Edgerton (1999) describió el bacilo virus que infecta específicamente a *Cherax quadricarinatus* y no al acocil marrón o al *yabby*. Shi *et al.* (2000) infectaron artificialmente a la especie con el síndrome de la mancha blanca y concluyeron que puede portarlo sin síntomas aparentes. Owens y McElnea hicieron observaciones histopatológicas en organismos infectados con giardiavirus y que la citolisis en células infectadas es muy limitada y que los organismos infectados sucumben fácilmente ante el estrés. Edgerton (2000) estudio las lesiones ideopaticas en acociles de granjas de Australia y observo que los que tienen el exoesqueleto dañado son mucho más susceptibles a enfermedades y muerte. Edgerton *et al.* (2000) describieron las características de un reovirus que puede contagiar a acociles en cultivo, concluyendo que puede estar alojado en el hepatopáncreas o en las branquias y causar estrés y hasta la muerte. Romero *et al.* (2001) revisaron la ultraestructura de la bacteria patógena *Coxiella*, mostrando que puede estar libre en el citoplasma de cualquier tipo de tejido y pasa por varias fases, de forma similar a lo que ocurre con *Rickettsia*.

Estudios relacionados con ontogenia aplicados a acuicultura

El estudio de los diferentes procesos y fenómenos que se producen durante la ontogenia de especies que son importantes para acuicultura está ampliamente documentado. Se le ha prestado interés desde que los trabajos pioneros en el campo (Pandian, 1970; Holland, 1978; Watanabe *et al.*, 1984) pusieron en evidencia la relación entre el alimento suministrado a las hembras en maduración y la composición bioquímica de los huevos producidos por éstas. La mayoría de los trabajos disponibles tratan sobre la supervivencia, el crecimiento y los requerimientos nutricionales de las especies bajo diferentes esquemas de cultivo. Los peces son quizá el grupo taxonómico del que existe más información. Entre los invertebrados, los camarones peneidos y los moluscos bivalvos reciben la mayor parte de la atención. Se enlistan a continuación los trabajos más relevantes disponibles para cada uno de los aspectos que se tratan en el presente estudio.

Estudios descriptivos de caracteres externos

Existen trabajos clásicos que tratan el tema en capítulos completos de libros y en publicaciones especiales que, de manera general, describen y analizan a los invertebrados (Adiyodi, 1982), a los crustáceos (Anderson, 1982), a los decápodos (Anger, 2001) o a los acociles (Huxley, 1896; Zhender, 1934; Holdich, 2002). Entre las publicaciones que se refieren al desarrollo de especies en particular, la mayoría de estas se refieren a decápodos marinos, especialmente aquellos que tienen fases larvianas planctónicas (vgr. Gore, 1969 ; Charmantier *et al.*, 1991 ; Hertzler y Clarck, 1992; Yang y Kim, 1999; Spivak y Cuesta, 2000; Broadie *et al.*, 2001; Choi y Hong, 2001; González-Gordillo y Rodríguez, 2001; Cuesta *et al.*, 2001; Maas y Waloszek, 2001; McLaughlin *et al.*, 2001; Coutres, 2001; Cuesta *et al.*, 2002; Hernández *et al.*, 2002). También hay trabajos que describen de manera particular el desarrollo de algunas especies de decápodos de agua dulce (vgr. Ameyaw-Akumfi, 1976; Celada *et al.*, 1985, 1987, 1991; Sandeman y Sandeman, 1991; Fiegler *et al.*, 1995; Rodríguez-Serna *et al.*, 2000) o se especializan en puntualizar sobre el desarrollo embrionario de ciertos órganos o estructuras de estos animales (Whittington *et al.*, 1993; Loya-Javellana, 1994; Sandeman y Sandeman, 1996; Hafner y Tokarski, 1998; Sullivan y Macmillan, 2001; Ferrari y Ivanenko, 2001). De cualquier modo, previo al presente trabajo, solo está disponible una publicación que describa el desarrollo embrionario, en términos morfológicos, de una especie del género *Cherax* (*C. destructor*; Sandeman y Sandeman, 1991).

Composición bioquímica de huevos y larvas

Un trabajo clásico es el de Pandian (1970), quien ofreció uno de los primeros artículos que mencionan la relación entre los nutrientes disponibles para la larva de *Homarus gammarus* y su desempeño fisiológico. Holland (1978) ofreció información detallada sobre los requerimientos básicos de lípidos, proteínas y carbohidratos durante la ontogenia de crustáceos, haciendo énfasis en el papel de cada uno de éstos nutrientes y sus necesidades particulares, así como en las consecuencias de una deficiencia en su suministro. Asimismo, el trabajo de Bromaje (1990) hizo una evaluación completa sobre los criterios a considerar cuando se determina la calidad de huevos y de las larvas con base en su composición bioquímica, entre otros. El consumo de lípidos, particularmente los triglicéridos, ha sido ampliamente revisado; tenemos por ejemplo, los trabajos de Cahu *et al.* (1988, 1995), Fraser (1989), Lovrich y Ouellete (1994), Heras *et al.* (2000), Evjemo *et al.* (2001) y Palacios *et al.* (en prensa). También hay estudios que particularizan sobre el perfil de consumo de proteínas o de ciertos tipos de aminoácidos (Murugadass y Pandian, 1991; Sevilla *et al.*, 1993; Conceicao *et al.*, 1998; Christensen y Korsgaard, 1999; Soroka *et al.*, 2000). El consumo comparativo de los tres nutrientes principales, lípidos proteínas y carbohidratos, también están suficientemente documentado tanto para peces (Watanabe *et al.*, 1984; Coutteau *et al.*, 1997; Rønnestad *et al.*, 1998; Coutteau *et al.*, 1998; Sargent *et al.*, 1999; Mookerji y Ramakrishna, 1999) como para crustáceos (Clarke *et al.*, 1990, 1992; Ouellete y Taggart, 1992; Xu *et al.*, 1994; Rodríguez *et al.*, 1994; Chu y Ousvaniko-Koulikovsky, 1994; Biesiot *et al.*, 1995; Mourente *et al.*,

1995; Lemos y Rodríguez, 1997; Petersen y Anger, 1997; Laing y Earl, 1998; Palacios *et al.*, 1998; Heras *et al.*, 2000; Cavalli *et al.*, 2000; Roustaian y Kamarudin, 2001) y moluscos (Whyte *et al.*, 1990; Videla *et al.*, 1998; Heras *et al.*, 1998). Recientemente, Hernández-Herrera (2001) y Racotta *et al.* (en prensa) revisan los criterios de calidad larvaria y postlarvaria de *Litopenaeus vannameii* en función de su composición bioquímica.

Efecto de la temperatura

La mayoría de los trabajos que estudian el efecto de la temperatura sobre el desarrollo embrionario y/o larvario, analizan especies de peces de importancia comercial. Sin embargo hay también mucho interés sobre algunos grupos de invertebrados. De estos trabajos, el aspecto más analizado es en función del tiempo que toma obtener juveniles, considerando como criterios para evaluar la calidad del juvenil obtenido algunos aspectos como el porcentaje de larvas, de embriones o de juveniles deformes o los coeficientes de mortalidad (Lasker, 1964; Jones, 1978; Yeh y Rouse, 1995; Kamler *et al.*, 1998; Bermudes y Ritar, 1999). Entre los trabajos que analizan el consumo de vitelo en función de la temperatura, la mayoría de éstos buscan la temperatura óptima para su uso ideal, estudiando la influencia de ésta sobre el consumo total durante las etapas tempranas (Mason, 1978; Gilroy y Edwards, 1998; Kamler *et al.*, 1998; Hansen y Falk-Petersen, 2001). Otros trabajos analizan el consumo y la utilización de un componente particular, como las proteínas y algunos aminoácidos (Conceicao *et al.*, 1998; Christensen y Korsgaard, 1999). En el caso de análisis enfocados a estudiar la variación en el consumo de lípidos o de algunas clases de ácidos grasos específicos según la temperatura, están como ejemplos los trabajos de Desvilletes *et al.* (1997), Evjemo *et al.* (2001) y Keckeis *et al.* (2001). Trabajos específicos que evalúan al mismo tiempo la tasa de consumo de lípidos, proteínas y carbohidratos son escasos; en este caso también la mayoría de las investigaciones realizadas se relacionan con los peces (vgr., Fukuhara, 1990; Firkins y Holdich, 1993; Pavlov y Moksness, 1995; Peterson y Robichaud, 1995; Peterson *et al.*, 1996; Lein *et al.*, 1997; Ojanguren *et al.*, 1999). Hay trabajos que analizan la adaptabilidad de huevos de varias especies para desarrollarse a diferentes temperaturas y las consecuencias de esto (King, 1993, 1994; Galloway *et al.*, 1998; Agard, 1999; Small y Bates, 2001). Otros analizan el consumo de vitelo bajo un esquema energético (Pedersen, 1997; Booth, 1998; Keckeis *et al.*, 2001; Lemos y Phan, 2001). Por otro lado, también se ha analizado el efecto de la temperatura sobre el consumo de vitelo en función del efecto de otros factores, como el fotoperíodo (Mason, 1978; Portelance y Dube, 1995), el consumo de alimento (Hirche *et al.*, 1997; Overnell, 1997), la salinidad (Peterson y Robichaud, 1995; Ottesen y Bolla, 1998; Kumlu *et al.*, 2000) o la relación entre la densidad de hembras y la cantidad de juveniles producidos (Verhoef y Austin, 1999). Zhao *et al.*, (2001) estudiaron el efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario de *C. quadricarinatus* y observaron que puede ser mortal el incubar sobre 33°C, en tanto que la mejor temperatura resulto ser 28°C.

Ontogenia del tubo digestivo

La mayor cantidad de información disponible parte de trabajos realizados con peces, si bien el estudio de este fenómeno, como herramienta para evaluar el desempeño y las necesidades de especies en cultivo, es mucho más reciente. Los trabajos de Avila (1976), Ehrlich *et al.* (1976), Baglolle (1977), Govoni (1980), Botham y Manning (1981), Mohanna *et al.* (1985), Mohanna y Nott (1985a, 1985b, 1986), Cousin y Laurencin (1985), O'Connell (1981a, 1981b), Cataldi *et al.* (1987), Ferrari *et al.* (1987), Hung (1990), Biesiot (1990), Lovett y Felder (1990a, 1990b), Beccaria (1991), Boulhic y Gabaudan (1992), Dos Santos *et al.* (1993), Kamarudin *et al.* (1994), Fyhn (1995), Kurokawa y Suzuki (1995, 1998), Kurokawa *et al.* (1995, 1998), Eastman y DeVries (1997) y Fonatagné *et al.* (1998) se encuentran entre los más representativos que analizan el desarrollo del tracto digestivo, a nivel celular, en función de su capacidad de metabolizar y almacenar nutrientes, tanto en peces como en crustáceos.

Ontogenia de *C. quadricarinatus*

King (1993c) estudio el tiempo que tardan en desarrollarse los huevos de la especie a diferentes temperaturas, con énfasis en el desarrollo durante los días posteriores a la eclosión. Loya Javellana *et al.* (1994) ofrecieron una descripción a nivel histológico de la ontogenia de las estructuras digestivas de *C. quadricarinatus*. Yeh y Rouse (1994) ofrecieron una descripción del desarrollo de los huevos de acuerdo a su cambio en color, destacando que los huevos pasan por un patrón de cambios de color que van del verde olivo al naranja. Anson y Rouse (1994) estudiaron el efecto de la salinidad en el proceso de eclosión y en la calidad de los juveniles producidos, de lo que deducen que la supervivencia decrece a medida que la salinidad aumenta. En 1995, Rouse realizó un estudio que explica el efecto tóxico del amonio y de los nitritos disueltos en el agua sobre el desarrollo de los huevos. Romero y Jiménez (1997), estudiaron el grado de infección por protozoarios en los huevos de hembras que se mantuvieron en estanques de producción, en comparación con hembras mantenidas en acuarios individuales. Sugieren que mantenerlas en acuarios puede ser mas adecuado en virtud de que, en los estanques de producción es muy fácil que los huevos sean sujetos a infestaciones por parásitos tales como el hongo *Epystilis* sp., frecuentemente encontrado en el fondo de los estanques. Fan Li *et al.* (2001a) describieron el desarrollo embrionario de *C. quadricarinatus* en términos de los caracteres externos, definiendo los estadios de nauplio, metanauplio temprano, metanauplio tardío y una fase post-embrionaria. Los mismos autores describieron las etapas de desarrollo a nivel histológico, del tubo digestivo durante la ontogenia (Fan Li *et al.*, 2001b). Zhao *et al.* (2001) estudiaron el efecto de diferentes gradientes de temperatura sobre el desarrollo embrionario de la especie. Encontraron que es recomendable incubar dentro del intervalo de temperatura de 24-31°C con un óptimo de 28°C.

En función de lo hasta ahora expuesto, se postularon las siguientes:

Hipótesis

- I. La ontogenia de *C. quadricarinatus* obedece a un desarrollo continuo de estructuras sin estadios definidos previos a la eclosión, y la descripción de este desarrollo en función de los caracteres anatómicos externos, contribuirá al mejor manejo de los huevos durante la incubación.
- II. Los lípidos, las proteínas y los carbohidratos constituyen los principales recursos nutritivos durante la ontogenia de *C. quadricarinatus*. Estos nutrientes se consumen a lo largo del desarrollo embrionario y, el estudio de su concentración y los cambios de ésta durante la ontogenia contribuirá a un mejor conocimiento de las necesidades nutricionales de la especie durante esta etapa.
- III. La tasa de consumo de los lípidos, las proteínas y los carbohidratos durante la ontogenia de *C. quadricarinatus*, depende de la temperatura de incubación. El incubar los huevos a temperaturas extremas afectará negativamente el uso de estos nutrientes y, el estudio de estas diferencias, mostrara una pauta para la elección de la temperatura de incubación mas adecuada.
- IV. El periodo de transición de alimentación endógena a exógena de *C. quadricarinatus* requiere del desarrollo de tejidos especializados en el almacenamiento de reservas y. En los crustáceos los órganos capaces de almacenar reservas son el hepatopáncreas y el músculo abdominal y, el estudio de el desarrollo de estos tejidos y el inicio de acumulación de reservas energéticas en estos, contribuirá al conocer la edad de primera alimentación exógena de los juveniles.

Objetivos

General

Describir la ontogenia de *C. quadricarinatus* en términos de los caracteres externos y analizar el papel de las proteínas, lípidos y carbohidratos vitelinos desde la ovoposición hasta la aparición de juveniles, así como el efecto de la temperatura en el consumo de estos nutrientes.

Particulares

- I. Describir los cambios anatómicos externos durante el desarrollo embrionario de *C. quadricarinatus*.
- II. Definir la demanda de energía en términos de los cambios en concentración de proteínas, lípidos y carbohidratos durante la ontogenia de *C. quadricarinatus*.
- III. Evidenciar el efecto de la temperatura del agua en la variación del consumo de proteínas, lípidos y carbohidratos durante la ontogenia de *C. quadricarinatus*, así como la duración del desarrollo y la supervivencia de los organismos en función de esta variable.
- IV. Definir las etapas y las estrategias de acumulación de reservas en los tejidos durante la ontogenia post-embrionaria de *C. quadricarinatus* tomando como herramienta la caracterización de los cambios morfológicos del hepatopáncreas en esta etapa.

Capitulo II

**Descripción del desarrollo embrionario y postembrionario con base en el
método de porcentajes
Artículo aceptado (Crustaceana)**

Capítulo III

Variaciones de lípidos, proteínas y carbohidratos totales durante el desarrollo embrionario y postembrionario

Artículo en prensa (Journal of Crustacean Biology)

Capitulo IV

Análisis del efecto de la temperatura en la variación en el consumo de proteínas, lípidos y carbohidratos durante el desarrollo embrionario y post embrionario

Artículo en prensa (Comparative Biochemistry and Physiology, part A)

Capítulo V

**Estrategias de acumulación de reservas energéticas durante el cambio
de alimentación de endógena a exógena
Artículo sometido (Invertebrate Reproduction and Development)**

Capitulo VI

Discusión e integración

Discusión e integración

Esta tesis fue planteada con el propósito de analizar de manera interdisciplinaria el proceso de desarrollo embrionario y post-embrionario del acocil *Cherax quadricarinatus*. El carácter lecitotrófico de la especie durante la ontogenia, aunado al conocimiento previo que se tiene con la ontogenia de los crustáceos en general, muestran que existe una relación entre la calidad de los nutrientes aportados a la hembra durante la maduración y la composición del vitelo, este conocimiento sirvió de marco teórico para plantear y delimitar las hipótesis propuestas.

En el caso de los acociles como *C. quadricarinatus*, los huevos, al eclosionar son estructuralmente similares a un juvenil, y una cantidad de vitelo es mantenida como reserva hasta que se convierten finalmente en juveniles, proviniendo, por tanto, del vitelo el total de nutrientes necesarios para todo el proceso.

Debido a las variaciones en la concentración de nutrientes entre las muestras se decidió que era mas conveniente el expresar las cantidades de lípidos, proteínas y carbohidratos en función del contenido total por individuo (μg), es la forma más conveniente de presentar los resultados. Lo anterior refleja directamente el consumo de un determinado nutriente a lo largo del desarrollo y en consecuencia, el consumo energético o por interconversión de nutrientes durante el periodo lecitotrófico. Por otro lado, fue necesario obtener el peso seco medio de los huevos a cada paso del desarrollo y considerar esta información en los análisis. De este modo se evidenció que hay una tendencia a la pérdida real de peso seco (materia orgánica + minerales) causada por la quema de combustibles equivalente al costo energéticos del desarrollo embrionario. También se comprobó que el individuo gana peso a medida que se desarrolla y crece, debido a que continuamente aumenta la cantidad de agua en el interior, si bien la cantidad de materia orgánica disminuye sensiblemente. Al respecto, el peso medio del juvenil de un día es aproximadamente el doble que el del huevo recién desovado, debido a la incorporación de agua a los tejidos.

En otra etapa del estudio, se procedió a evaluar la supervivencia de los organismos en estadio juvenil entre los huevos de varias hembras mantenidas en las mismas condiciones; se encontró que la variación entre hembras fue de 6% promedio. En general, las diferencias que pueden encontrarse entre los huevos de hembras maduras bajo el mismo esquema, suelen deberse a diferencias en edad, estado fisiológico de la hembras, e incluso variabilidad genética (Palacios, 1999).

Así pues, incubando los huevos a 26°C, se observó que en periodos de 24h no hubo cambios significativos en la concentración de nutrientes. Se estableció que, para *C. quadricarinatus*, la composición bioquímica de los huevos y de los embriones varía dependiendo del grado de desarrollo de estos. Posteriormente, se seleccionó, en base a lo propuesto por Zhao *et al.* (2001) el intervalo de temperatura comprendido entre 21 y 31°C para comparar los cambios en el consumo de nutrientes en función de esta variable.

Morfología externa embrionaria de *C. quadricarinatus*

El efectuar estudios sobre la dinámica de componentes vitelinos o sobre cualquier otro fenómeno relacionado con el desarrollo de los embriones resulta difícil si no se tiene primero un panorama preciso de cuales son y como son las fases por las que atraviesa la especie durante la embriogénesis. Por tal motivo, la estrategia inicial de la tesis se dirigió a obtener un panorama claro de los cambios morfológicos externos en *C. quadricarinatus* y seleccionar el criterio mas adecuado para clasificar y describir este proceso. Los trabajos descriptivos sobre la morfología de huevos de acociles a través del desarrollo son, en su mayoría, generalizados para familias y son muy pocos los que describen de manera detallada lo que acontece en especies. Por tal motivo, se

tomaron como base el trabajo de Huxley (1898) que generaliza la embriología de todos los acociles y el de Sandeman y Sandeman (1991) que describe de manera particular a *C. destructor*, una especie cercana a *C. quadricarinatus*.

En términos de la diferenciación y el crecimiento de órganos y estructuras internos y externos, existe una relación estrecha (Anderson, 1982). Asimismo, el desempeño fisiológico del organismo depende del desarrollo exitoso y de la correcta coordinación de estos procesos (Charmantier *et al.*, 1991). Tal como se pudo apreciar en el estudio de morfología externa, el desarrollo de *C. quadricarinatus* es similar a lo descrito para otras especies de acociles y es más parecido el desarrollo en tanto más cercanas sean las especies (Huxley, 1896). Esta descripción es fundamental pues constituye una herramienta útil para detectar y evaluar momentos críticos en el desarrollo de la especie durante el cultivo, contribuyendo así a resolver problemas relacionados con el mantenimiento de hembras grávidas y, en su caso, de larvas para producir juveniles destinados a la siembra (Charmantier *et al.*, 1991).

Se considera erróneo el explicar y describir la ontogenia de todos los crustáceos bajo un mismo esquema (Sandeman y Sandeman, 1991). Hay muchas diferencias en lo que respecta a la producción de los huevos, la incubación y el grado de desarrollo alcanzado al momento que el organismo es liberado en el medio, sobre todo considerando la existencia de ambientes tan diferentes como el medio lacustre y el marino.

Cuando se trata del estudio ontogénico de crustáceos que producen muchos huevos con poco vitelo que se liberan al plancton y que darán lugar a larvas que se alimentan del medio, pasando por etapas que pueden ocupar diferentes nichos, es correcto el proponer una descripción que permite diferenciar los estadios en función de rasgos morfológicos completamente diferentes, como sucede en el caso de los camarones peneidos, es correcta (Gore, 1969). Sin embargo, en el caso de los acociles es inadecuado clasificar subestadios bajo ese criterio en virtud de que el proceso de diferenciación y de crecimiento de estas especies es continuo dentro del huevo y no hay cambios ambientales de nicho que impliquen el desarrollo de estructuras adaptativas especializadas (Sandeman y Sandeman, 1991). De acuerdo a Reynolds (2002) lo anterior es característico de los acociles de agua dulce, que ponen pocos huevos grandes ricos en vitelo; los adultos incuban y protegen estos huevos hasta que se convierten en juveniles. Trabajos previos han descrito el desarrollo embrionario de *C. quadricarinatus*, y han establecido diferentes fases tomando en consideración cambios en la apariencia externa del huevo (Yeh y Rouse, 1994) o bien clasificándolo en estadios naupliares y post-naupliares (Fan Li *et al.*, 2002) cuando no hay etapas claramente diferentes que justifiquen el uso de tal criterio. En otros casos (Loya-Javellana, 1994) se ha considerado juvenil al organismo desde que eclosiona, siendo que aun tiene vitelo y que no ha desarrollado algunas de las estructuras que reconocen a la especie y que deben estar presentes para considerarlo como juvenil. Por consiguiente, el criterio establecido por Bentley (1979) y adaptado para Parastácidos por Sandeman y Sandeman (1991), el cual propone el dividir en porcentajes el desarrollo dentro del huevo y en etapas post-embrionarias claramente diferentes para el periodo posterior a la eclosión y previo al juvenil, resulta el más adecuado para describir la ontogenia en términos de cambios en caracteres externos. Basándose en estos argumentos y en la propia escala establecida por Sandeman y Sandeman (1991), la descripción de los cambios en caracteres externos durante la ontogenia de *C. quadricarinatus* fue realizada en esta tesis (Capítulo II). Los resultados indican además una similitud entre ambas especies tal como se discute en la sección correspondiente.

Esta descripción nos permite, durante el monitoreo de la incubación de los huevos, saber en todo momento que grado de desarrollo tiene el organismo relacionándolo así con cualquier cambio importante en el desempeño del embrión. Para dar un ejemplo, el repentino cambio de consumo energético que, de acuerdo a los resultados del Capítulo III, tiene lugar al momento y a partir de la

eclosión, se relaciona con el hecho de que el organismo crece mas rápidamente a partir de ese momento y demanda mas energía por día.

Tomando como referencia esta descripción de caracteres externos para la especie, se efectuaron estudios histológicos e histoquímicos para analizar la diferenciación celular del hepatopáncreas y de algunas estructuras accesorias involucradas en los eventos mecánicos de digestión (Capítulo V). En el caso de especies que tienen un proceso ontogénico externo continuo (e.g. *Cherax*, Sandeman y Sandeman, 1991), el desarrollo de los órganos internos suele ser continuo también. Es decir, no se observa un crecimiento repentino de determinado órgano como preparativo para el cambio de hábitos o nicho, que se da para satisfacer una nueva necesidad, sino que, los órganos, paralelamente al desarrollo externo, se diferencian gradualmente a lo largo de toda la ontogenia (Anderson, 1982). Su diferenciación termina coincidiendo con el grado de desarrollo en que al organismo le surge la necesidad de emplear el nuevo órgano o estructura. Son, en realidad pocos los estudios que analizan el desarrollo externo e interno en el mismo contexto, y de hecho no existe ningún antecedente previo a este trabajo para algún Parastacido.

La forma mas frecuente de analizar el desarrollo de las estructuras internas durante la ontogenia (órgano génesis) es por medio de técnicas histológicas. Esto permite tener una idea de la complejidad de los órganos a nivel celular así como acerca del crecimiento de estos y su ubicación en las cavidades internas del organismo a cada etapa del desarrollo embrionario. Durante el de *C. quadricarinatus*, se monitoreo con técnicas histológicas la formación del sistema digestivo, en particular del hepatopáncreas a fin de dilucidar mediante histoquímica como se empiezan a acumular las reservas energéticas en los tejidos durante la ontogenia y en las dos primeras semanas posteriores a la aparición del juvenil, lo cual será analizado mas adelante en la siguiente sección, en conjunto con los datos de composición bioquímica.

El estudio histológico permitió observar los cambios en el sistema digestivo desde la eclosión hasta el juvenil, los cuales son también equiparables al grado de desarrollo externo del organismo así como a su comportamiento y necesidades nutricias. De acuerdo a Loya-Javellana (1994), un organismo de reciente eclosión y carente de estructuras moledoras y masticadoras tiene un hepatopáncreas funcional y capaz de acumular reservas energéticas. Es posible que el desarrollo de este órgano responda a una necesidad de disponer de estructuras masticadoras, pues el proceso de acumular lípidos puede ser lento y es preciso garantizar que haya una cantidad suficiente de estos componentes cuando llegue la muda, la cual pudiera presentarse aun antes de que el organismo tenga suficientes reservas provenientes de la captación de alimento.

Se observó que el juvenil externamente ya tiene pelos sensitivos en el telson y en los apéndices para detectar alimento y percibir otros estímulos del medio (e.g. movimiento). El desarrollo de las vellosidades del epitelio de absorción del hepatopáncreas (*brush border*) después de que el juvenil se ha formado pudiera ser otro indicador de que el organismo esta listo para la alimentación exógena; estas estructuras no son evidentes sino hasta que el juvenil es liberado. El aumento en pliegues y superficie de absorción en el epitelio de las células hepatopancreáticas indica que el organismo esta apto para absorber nutrientes (Loya-Javellana, 1994). Se observo también que el *brush border* se tiño positivo con azul alciano, indicando que en el lugar hay mucosubstancias, uno de cuyos componentes, las proteínas, se tiñen de azul. Estas substancias corresponden a la mucosa que recubre el epitelio y su presencia indica que los procesos digestivos ya tienen lugar allí (Ribeiro *et al.*, 1999). Cabe aclarar que, las células especializadas, típicas del hepatopáncreas (*R*, *B*, *E* y *F*) no son claramente diferenciables hasta que el juvenil esta formado. La acumulación de reservas solo se observo en nuestro trabajo en células *R*, lo cual también coincide con lo hallado por Loya-Javellana (1994) y descrito por Bell y Lightner (1988) para camarones peneidos. Las células *R* están especializadas en el almacenamiento de reservas en forma de gotas lipídicas o gránulos de glucógeno, y el patrón de acumulación de estos componentes puede variar de acuerdo a la condición fisiológica y la edad del organismo, lo cual concuerda para el presente trabajo con los

resultados de Vogt (2002). Estas células, se encontraron dispersas en el epitelio de los túbulos que conforman el hepatopáncreas y su estructura se encontró muy similar a las células del mismo tipo descritas para acociles y langostinos por Vogt (2002). También fueron notorias las células *B*, que se caracterizan por tener vesículas, las cuales se tiñeron ante la prueba de azul alciano. Estas vesículas son almacenes de desechos, que las células *B* acumulan para luego expulsar al lumen en forma de bolo de desecho (Vogt, 1997).

Consumo de nutrientes vitelinos durante la ontogenia

El segundo problema abordado en la tesis fue analizar las variaciones de los tres principales componentes del huevo (lípidos, proteínas y carbohidratos) a lo largo de la ontogenia, considerando también los cambios en humedad del organismo en formación. Para evaluar esto, se partió de la premisa de que el alimento que ingirió la hembra durante la maduración determina en gran medida la composición bioquímica de los huevos y que los cambios en la concentración de nutrientes generalmente es hacia una disminución. A medida que el embrión se desarrolla, se hace uso de estos nutrimentos ya sea como componentes estructurales o como fuente de energía (Holland, 1978; Biesiot y Perry, 1995; Roustaian y Kamarudin, 2001). Los resultados relacionados con esta dinámica de consumo se encuentran en el Capítulo III. Se observa que, efectivamente, se tiende a una disminución de las concentraciones de los componentes principales (lípidos y proteínas) a medida que transcurre el desarrollo. Los lípidos disminuyen en más de la mitad de su concentración inicial (de 900 a 409 $\mu\text{g}/\text{individuo}$) en tanto que las proteínas en una tercera parte de la concentración inicial (de 1424 a 958 $\mu\text{g}/\text{individuo}$). Estas disminuciones se explican debido a que, en los organismos que son lecitotróficos durante toda la ontogenia, como lo es *Cherax*, los nutrientes vitelinos proveen todos los recursos necesarios durante el desarrollo, por lo que es fundamental asegurar una adecuada provisión de nutrientes a las hembras que producirán los huevos. El hecho de que el embrión no ingiere alimento, lo condiciona, entre otros factores, a obtener energía solo a partir de combustibles endógenos (Lovrich y Ouellete, 1994). Los trabajos previos al respecto (e.g. Holland, 1978; Clarke *et al.*, 1990; Ouellete y Taggart, 1992; Chu y Ousvianico-Koulikovsky, 1994; Biesiot y Perry, 1995; Sargent, 1995; Palacios, 1999, Rodríguez, 2001) pusieron en evidencia la importancia que tiene el proveer de adecuados y suficientes nutrientes a las hembras grávidas. En el caso de otros crustáceos que dependen del saco vitelino solo para la parte inicial de la ontogenia, como sucede con los camarones peneidos, los estudios sobre nutrición consideran la aportación hecha por la hembra al vitelo, pero solo como una etapa inicial del estudio pues los estadios larvarios libres dependen de fuentes externas de alimento.

Los lípidos y proteínas, junto con los carbohidratos, constituyen casi toda la materia orgánica del huevo recién desovado y a partir de ellos la dinámica nutricional embrionaria puede ser explicada (Clarke, 1995). En el caso particular de los carbohidratos, fueron siempre el constituyente encontrado en menor concentración y no se tuvo evidencia estadística de que hubiera un consumo neto. Se sabe que estos componentes son intermediarios en muchas tareas metabólicas y, hacia el final del desarrollo, indispensables en la síntesis de quitina (Stryer, 1995). Sin embargo, su uso durante la ontogenia de crustáceos no es del todo claro, pero hay evidencias de que en circunstancias normales carecen de importancia como fuente de energía durante la fase lecitotrófica de huevos acuáticos (Holland, 1978).

Los huevos acuáticos que durante toda la ontogenia dependen del vitelo, son ricos en lípidos y en proteínas, como pudo observarse en el caso de *C. quadricarinatus*. De estos dos elementos, las proteínas suelen ser las más abundantes, pero los lípidos suelen ser los principales proveedores de energía, tal como sucedió en este estudio, pues pueden proporcionar la mayor cantidad de energía/gramo. Esto, concuerda con lo que encontraron Heras *et al.* (2000) trabajando con el langostino *Macrobrachium rosenbergii*. La dinámica de estos nutrientes está involucrada con el uso continuo de estos como sillares para sintetizar las proteínas y los lípidos polares que constituyen las células, así como su uso como combustible metabólico (Holland, 1978, Sargent, 1995).

Muchos estudios concuerdan con este esquema de consumo de lípidos y de proteínas. Su uso como fuente de energía durante la ontogenia está bien documentado para los crustáceos (e.g. Holland, 1978; Clarke *et al.*, 1990; Ouellete y Taggart, 1992; Chu y Ouvsonianico-Koulikovsky, 1994; Biesiot y Perry, 1995; Mourente *et al.*, 1997; Lemos *et al.*, 1997; Couteau *et al.*, 1998; Palacios *et al.*, 1998; Cahu *et al.*, 1998; Cavalli *et al.*, 2000; Heras *et al.*, 2000; Roustaian y Kamarudin, 2001, Evjemo, 2001). Nuestros resultados concuerdan con lo que encontraron estos investigadores y se presentan resumidos en la tabla II. Se destacó el papel de los lípidos como proveedores primordiales de energía (ante todo a partir de la combustión de triacilglicéridos) y de las proteínas en un doble papel como sustrato para construir tejido y como combustible metabólico. Al respecto, la importancia de las proteínas como fuente de energía ya ha sido previamente establecida para los crustáceos, considerándose normal este uso (véase Chu y Ouvsonianico-Koulikovsky, 1994; Biesiot y Perry, 1995; De Silva *et al.*, 1998; Lemos y Phan, 2001).

La conjunción de la información relativa a la morfología de *C. quadricarinatus* durante el desarrollo embrionario y la relativa al perfil de consumo de los tres componentes primarios del vitelo ofrece una relación entre la demanda de energía, el grado de desarrollo y las estructuras que se forman cuando esa demanda tiene un cambio significativo. Por ejemplo, la coincidencia entre el incremento entre la tasa de consumo de proteínas y el periodo post embrionario, podría ser explicada por el hecho de que es mayor la ganancia en peso/día del organismo después de este momento, con el consecuente aumento en la necesidad de proteínas para síntesis de tejido pero también como combustible metabólico, en virtud de que un organismo más grande necesita más energía. Esto último, previamente observado por Mackeviciene (1992).

Así pues, se tiene por un lado la transformación de vitelo en biomasa pero por otro, la combustión de energía que es aportada por los triacilglicéridos o por las proteínas, principalmente. Sin embargo, muchos de los trabajos que realizan análisis bioquímico de huevos en desarrollo, ya sea con acociles o langostinos (Murugadass y Pandian, 1991; Cavalli *et al.*, 2000) u otros decápodos (Oulluete y Taggart, 1992; Lovrich y Ouellete, 1994; Rodríguez *et al.*, 1994; Xu *et al.*, 1994; Mourente *et al.*, 1995; Lemos y Rodríguez, 1997; Cahu *et al.*, 1998), no analizan el consumo de los tres nutrientes, con lo que se dificulta determinar si en todos los casos el incremento en la tasa de consumo de uno de estos tiene algún efecto sobre el consumo de los demás. Sin embargo, entre los trabajos que sí analizan las variaciones de los tres componentes, se observa que existe una composición bioquímica y una tendencia de consumo equivalentes a lo que se obtuvo para *C. quadricarinatus* en el presente trabajo. Como ejemplo, están los estudios de Biesiot y Perry (1995) quienes habiendo evaluado la composición bioquímica de huevos recién desovados de *Chaceon quinquegens*, mostraron que el componente mayoritario son las proteínas (60%) y después los lípidos (35%), aunque el consumo total de lípidos fue del 36% en tanto que de las proteínas, el 21%. Petersen y Anger (1997), trabajando con el cangrejo *Hyas arenus*, encontraron que el 69% del aporte inicial de lípidos y el 35% del aporte inicial de proteínas han sido consumidos cuando la larva llega a la fase en que se le termina el vitelo. Un panorama similar encontró Roustaian y Kamarudin (2001) en larvas de *Macrobrachium rosenbergii*, mostrando una vez más que los lípidos son el principal recurso energético, si bien las proteínas son el componente más abundante para todos los estadios analizados. Otros autores reportan aportación similar de ambos componentes; Heras *et al.* (2000), encontraron que en huevos recién desovados de *Macrobrachium borellii*, el aporte de lípidos (29.3%) y de proteínas es similar (28.7%). En este caso, se hizo énfasis en los lípidos como el principal combustible metabólico, pues aportan hasta el 57.1% de la energía disponible. Todos estos trabajos coinciden en que los carbohidratos son siempre un componente menor, no destinado en condiciones normales a suministrar energía. El panorama general ofrecido por estos autores, coincide por lo tanto con lo encontrado para los huevos de *C. quadricarinatus*. Esto, se explica fácilmente si se observa que, la estrategia reproductiva de cada una de estas especies, implica la dependencia del vitelo hasta muy avanzada la ontogenia, con organismos que eclosionan en formas cercanas al juvenil.

Hay sin embargo, trabajos que difieren de lo encontrado en *C. quadricarinatus*. Chu y Ovsianico (1994) analizaron la composición bioquímica de huevos y larvas de *Metapenaeus ensis*, sin determinar que la cantidad total de proteínas hubiese disminuido a lo largo del desarrollo, mientras que los lípidos y los carbohidratos fueron consumidos en un 50% hacia el final de la ontogenia. Por otro lado, Clarke *et al.* (1990) encontraron en el caso de *Macrobrachium rosenbergii* concentraciones relativamente constantes de proteínas a lo largo de la ontogenia (30-33 $\mu\text{g/larva}$) con un consumo significativo de la cantidad total de lípidos (de 14.4 a 6.82 $\mu\text{g/larva}$). En ambos casos es importante considerar que estas especies solo dependen del saco vitelino en los estadios iniciales, teniendo después fases larvarias que se alimentan de fuentes exógenas, y por tanto es posible una ingestión de las proteínas a una tasa similar a la que se consumen.

Como consecuencia, se sostiene que existe una tendencia común para todos los crustáceos en fases lecitotróficas, a mantener a las proteínas como principal componente estructural y a consumir para producir energía, tanto lípidos como proteínas, pero recayendo en los lípidos la tarea de ser el principal abastecedor de energía.

También se observó que las cantidades totales de lípidos y proteínas que tienen los huevos recién desovados de *C. quadricarinatus* son altas si se las compara con los niveles iniciales de otras especies, principalmente los que tienen fases larvarias planctónicas (e.g. *Penaeus indicus*, Cahu *et al.*, 1988; *Chorismus antarcticus*, *Lebbeus polaris*, *Eualus gaimardii*, *Nototrangon antarcticus* y *Nematocarcinus lancopes*, Clarke, 1992; *Macrobrachium rosenbergii*, Clarke *et al.*, 1990 y Roustaian y Kamarudin, 2001; *Penaeus keraturus*, Mourente *et al.*, 1995; *Penaeus vannameii*, Palacios *et al.*, 1998; *Macrobrachium borellii*, Heras *et al.*, 2000). A pesar de las diferencias en estrategia energética que tienen estas especies con respecto a *C. quadricarinatus* (total dependencia del vitelo durante la ontogenia), las proporciones iniciales de proteínas, lípidos y carbohidratos en unos y otros huevos, son similares.

Por otro lado, es sabido por numerosos estudios previos (Bell y Lightner, 1988; Factor, 1989; Loya-Javellana, 1994; Vogt, 1997) que el hepatopáncreas es el principal órgano en que los crustáceos pueden acumular reservas energéticas (triacilglicéridos y glucógeno) en células especializadas. Los resultados de histoquímica muestran que la acumulación de estas reservas se inician antes del agotamiento del vitelo y se considera que ambos tipos de compuestos son empleados para afrontar diferentes tareas metabólicas, lo cual se sugiere de acuerdo con lo establecido por Vogt (1997) para langostinos y acociles. Esto contribuye a obtener información del grado de desarrollo del órgano y del tipo de células que almacenan estas reservas. Existen células especializadas del hepatopáncreas para la acumulación de reservas energéticas. Estas reservas también se incorporan a las células musculares, particularmente en el abdomen. De acuerdo a lo que se ha reportado previamente (Bell y Lightner, 1989; Vogt, 1997), los triacilglicéridos normalmente son acumulados para afrontar la demanda energética durante la muda, ya que el organismo no puede comer durante este proceso. Asimismo, una vez que ha reabsorbido su vitelo, el juvenil debe acumular la energía necesaria para sobrevivir los primeros días de vida independiente, pues con frecuencia no inmediatamente aptos para iniciar la captación y la digestión de partículas de alimento. En el presente trabajo pudo observarse que después de la eclosión, al alcanzar la etapa de post-embrión I, el hepatopáncreas ya está formado de manera primordial. A partir de este momento los gránulos de triacilglicéridos en el citoplasma de las células hepatopancreáticas se incrementan, alcanzando un máximo en el estadio más avanzado que se consideró en el muestreo (juvenil de dos semanas). Es posible que para entonces, el juvenil se prepare para su primera muda después de la ontogenia, con lo cual el incremento en esta acumulación, se explica. El incremento en la cantidad de triacilglicéridos también puede ser indicador de un incremento en la ingesta de alimento y la capacidad de asimilación de éste por parte de los organismos a medida que se desarrollan. Los resultados de los análisis histológicos indican que, entre la semana previa y la posterior a la eclosión, los organismos adquieren la capacidad de acumular reservas en el

hepatopáncreas y que previo a estas fases no existen indicios de esta acumulación. Esto coincide con los resultados de morfología externa, que indican que tiene aun una reserva energética de vitelo que le permitirá continuar el desarrollo a lo largo de dos mudas, hasta convertirse en juvenil. A los cuatro o cinco días después de la eclosión, una primer muda da lugar al post-embrión II y otra un poco mas adelante cuando aparece el juvenil. Por sus rasgos externos, al post-embrión II aun no se le puede considerar "juvenil" ya que aun es evidente la presencia de una reserva vitelina. Pero, después de una segunda muda aparece el juvenil, que se caracteriza, entre otras cosas, por carecer de vitelo. En esta etapa se hace indispensable ya el tener suficientes reservas en el hepatopáncreas, el cual esta casi completamente desarrollado. Esto coincide con lo descrito por Loya-Javellana (1994) para la misma especie. Los triacilglicéridos almacenados en hepatopáncreas, podrían provenir, durante las fases aun lecitotróficas del organismo, de los ácidos grasos almacenados en el vitelo y transferidos al hepatopáncreas, o de los lípidos en el alimento disponible en el caso de los juveniles, de acuerdo a lo sugerido por D' Abrammo (1997).

Considerando que el organismo, aun después de eclosionar, conserva reservas vitelinas durante las fases post-embriónicas I y II y hasta que se ha convertido en juvenil y no capta alimento de inmediato, se procedió a analizar la existencia de evidencias sobre la posible transferencia de recursos nutricionales del vitelo a los tejidos ya diferenciados de estas fases previas al juvenil. De este modo se observo que el hepatopáncreas y el músculo de la cola continúan desarrollándose, particularmente después de que el organismo ha eclosionado. Las técnicas histoquímicas permiten, mediante la tinción PAS, rastrear la acumulación de glucógeno en estos tejidos, que pudiera ser utilizado para proveer la energía necesaria para el movimiento. Es posible que este componente acumulado provenga de la degradación de proteínas mediante gluconeogénesis (Stryer, 1995) lo cual concuerda con una mayor disminución de proteínas después de la eclosión (Capítulo III, figura 2).

Es evidente que el glucógeno y los triacilglicéridos son almacenados para cubrir demandas energéticas posteriores, y se emplean los lípidos del hepatopáncreas para consumos a largo plazo y posiblemente el músculo abdominal como un sitio de almacenamiento de energía para ser usada a corto plazo (movimiento muscular). Se puede sugerir de lo anterior, que el organismo pudiera destinar los triacilglicéridos que acumulo en el hepatopáncreas a la muda y a otros procesos que demandan energía adicional para sostener el metabolismo rutinario, como lo es la respiración, el transporte de gases y de metabolitos o la síntesis y degradación de compuestos. El glucógeno almacenado en músculo del abdomen y en el hepatopáncreas puede proveer energía para los movimientos musculares. Lo anterior se propone con referencia en lo encontrado por diferentes autores que han trabajado con el metabolismo de compuestos destinados para el uso de la energía en los crustáceos (e.g., Castell, 1977; Cahu, 1988; Kurmaly *et al.*, 1989; D' Abrammo, 1997; Cavalli *et al.*, 1999; Evjemo *et al.*, 2001) donde se menciona el papel principal de estos compuestos en la maquinaria metabólica.

El esquema anterior, sin embargo, puede verse alterado por causas distintas de la calidad del vitelo o el grado de desarrollo alcanzado por el huevo en un momento dado (Lein *et al.*, 1997). La calidad de los huevos puestos por una hembra y la proporción de nutrientes contenidos en estos, pueden variar independientemente de la calidad de los nutrientes empleados durante la maduración (Palacios, 1999). Cuando se incuban los huevos, el éxito depende no solamente de que el vitelo tenga una cantidad suficiente de los nutrientes requeridos pero también de que las condiciones en que se les mantiene, sean adecuadas. El incubar los huevos bajo estrés causado por condiciones ambientales extremas puede conducir a un uso ineficiente de los recursos nutritivos disponibles (Ojanguren *et al.*, 1999). Los parámetros físicos del agua son quizás los factores que mas influencia tienen en este sentido, tales como la temperatura, la salinidad, el pH, el foto período el amonio y algunos elementos disueltos como los iones metálicos o incluso los contaminantes, pueden modificar la eficiencia en el uso del vitelo y con ello afectar el desarrollo del organismo (Pavlov y Moskness, 1995).

Después de haber analizado el papel y el uso de reservas energéticas, la siguiente estrategia consistió en evaluar el efecto de cuatro temperaturas experimentales (22, 25, 28 y 31°C) sobre el esquema de consumo de estos nutrientes que se presenta en la tabla II. Estas temperaturas corresponden al intervalo propuesto inicialmente por Yeh y Rouse (1995) y retomado por Zhao *et al.* (2001), para incubar los huevos de esta especie. La literatura disponible (e.g. Lasker, 1964; Jones, 1978; Desvilletes *et al.*, 1997; Kamler *et al.*, 1998; Villarreal y Ocampo, 1998, Villarreal y Peláez, 1999; Evjemo *et al.*, 2001; Hansen y Falk Petersen, 2001; Zhao *et al.*, 2001) indica que la temperatura es el factor ambiental que más influye en el desarrollo de los huevos y de las larvas.

Los resultados (Tabla III) demuestran que la composición bioquímica de los huevos varía según la temperatura a que son mantenidos. La mayoría de los trabajos revisados que comparan el efecto de la temperatura durante la ontogenia en los crustáceos y en otros invertebrados (e.g. Firkins y Holdich, 1993; Pavlov y Moksness, 1995; Lein *et al.*, 1997; Desvilletes *et al.*, 1997; Gilroy y Edwards, 1998; Kamler *et al.*, 1998; Agard, 1999; Bermudes y Ritar, 1999; Ojanguren *et al.*, 1999; Evjemo *et al.*, 2001; Hansen y Falk-Petersen, 2001; Lemos y Phan, 2001) consideran aspectos tales como la supervivencia, la duración del desarrollo y/o la presencia-ausencia de malformaciones durante el mismo. No se encontraron estudios previos sobre el perfil de consumo de los tres nutrientes principales en huevos de crustáceos mantenidos a diferentes temperaturas. En la mayoría de los estudios que han examinado este fenómeno, los huevos han sido mantenidos a la temperatura que normalmente es citada como la más recomendable o de distribución térmica natural de la especie. Para *C. quadricarinatus*, previo a este experimento, ya se había propuesto 28°C como la temperatura más adecuada para incubación, tomando la supervivencia y el aspecto externo de los huevos como criterio de evaluación (Yeh y Rouse, 1994). En este trabajo se estableció como hipótesis que si la temperatura de cultivo no es propicia, tampoco lo será el uso de los nutrientes vitelinos y por tanto, el desarrollo embrionario será deficiente. Para evaluar esto, se partió de la inferencia de que, si los organismos experimentales provienen de hembras con la misma historia nutricional y de cultivo, la composición bioquímica inicial de los huevos de todos los tratamientos y la calidad de sus componentes es similar. Por lo tanto, las diferencias que se obtuvieran en cuanto a el uso del vitelo serían debido a la temperatura de incubación. También se partió de la premisa de que el incremento en la tasa de consumo de un componente, como consecuencia de la incubación a temperatura inadecuada, pueda tener un efecto sobre el nivel de los demás.

Las temperaturas más bajas (22 y 25°C) produjeron las más altas supervivencias. En cuanto al tiempo de incubación, se encontró una tendencia a acelerar la tasa metabólica si la temperatura es alta y a retardarla si es baja. Se muestran también los resultados obtenidos en lo que se refiere a las diferencias encontradas en las tasas de consumo de lípidos y de proteínas a diferentes temperaturas, expresadas como pendientes (Tabla III). En la figura 3 de esta sección, se observa que el consumo medio de energía por individuo/día se incrementa ligeramente entre los 22 y los 25°C, sugiriendo con ello que la tasa respiratoria es similar a 22 y a 25°C. Esta tasa, sin embargo, aumenta proporcionalmente al incremento de la temperatura entre los 25 y los 28°C, para disminuir nuevamente por arriba de 28 y hasta los 31°C, cuando al parecer, la tasa de consumo energético se aproxima al máximo tolerable por el organismo. Lo anterior concuerda con la información disponible en la literatura y que señala que la tasa metabólica o tasa respiratoria de los organismos poiquiloterms aumenta de forma proporcional al incremento de la temperatura dentro de un intervalo definido para cada especie hasta un punto máximo, por encima del cual empieza a disminuir (Lasker, 1964; Schmidt Nielsen, 1995; Villarreal y Ocampo, 1998; Saucedo *et al.*, 2002). Se sugiere que si se incuban los huevos cerca de este límite (31°C), el organismo no puede ya aumentar su tasa metabólica en función de la temperatura del agua, por lo que el uso de los nutrientes se vuelve ineficiente, posiblemente debido a que a esta temperatura empiezan a degradarse los componentes del vitelo, además de que la actuación de enzimas digestivas y otros procesos es inadecuada y el calor excesivo no permite al organismo regular y compensar

adecuadamente los procesos metabólicos. Otros factores que pudieran contribuir a acentuar esta respuesta son las posibles diferencias en la historia nutricional de las hembras, la edad de estas (Palacios, 1999) o algunos cambios en la respuesta atribuibles a variaciones genéticas (Jones, 1995).

Es posible que los organismos que mueren a altas temperaturas no hayan tenido suficientes nutrientes para completar el proceso hasta convertirse en juveniles, por el uso ineficiente que se hizo de éstos con el gasto adicional de energía y nutrientes. Los lípidos se consumen a una tasa mayor cuando los organismos son mantenidos a altas temperaturas (Evjemo *et al.*, 2001). Siendo éstos una de las reservas bioquímicas fundamentales del huevo, una disminución crítica de sus niveles puede ser causa de baja supervivencia. Un mayor consumo de nutrientes por día puede ser indicativo de que el uso de éstos, no es eficiente. En trabajos previos que analizaron el consumo de los lípidos o de las proteínas a diferentes temperaturas, se encontraron las mismas tendencias obtenidas con *C. quadricarinatus*. Tal es el caso de *Macrobrachium rosenbergii* en cultivo larvario, donde Agard (1999) encontró que existe una relación directa entre la tasa metabólica sostenida y el consumo del vitelo. Asimismo, Conceicao *et al.* (1998) observaron que la cantidad total de aminoácidos encontrados en huevos de *Clarias gariepinus* del mismo estadio, pero mantenidos a diferente temperatura, es menor en los que provienen de temperatura mas alta. Por su parte, Evjemo *et al.* (2001) comprobaron que los nauplios de *Artemia* son altamente dependientes de la temperatura para consumir lípidos, cuya tasa de consumo aumenta ostensiblemente por arriba de los 32°C. Para este crustáceo, los autores concluyen que hay una considerable pérdida de ácidos grasos en nauplios mantenidos en alta temperatura y relacionan esto con la alta mortalidad observada. En un experimento relacionado con la incubación de huevos de *Farfantepenaeus paulensis*, Lemos y Phan (2001) demostraron que las larvas de estos camarones destinan hasta el 70% de los nutrientes disponibles en el vitelo, y posteriormente en el alimento consumido, a la producción de energía cuando los animales son mantenidos a temperatura por arriba de su intervalo óptimo. Esta tendencia ocurre también en peces (Conceicao *et al.*, 1998; Ojanguren *et al.*, 1999; Keckeis *et al.*, 2001) o moluscos (Gilroy y Edwards, 1998).

Los resultados muestran que si las condiciones obligan al organismo a consumir casi el total de todos los lípidos disponibles, posteriormente utilizan en mayor medida las proteínas e incluso de los carbohidratos como fuente de energía. Esto pudiera ocurrir en dos casos: Cuando la tasa metabólica es demasiado alta por el efecto de temperaturas altas, o cuando el desarrollo embrionario es tan largo que la demanda acumulada de energía propicie el uso de fuentes secundarias para proveerla.

El mejor desempeño, sería aquel en que los organismos se conviertan en juveniles en un tiempo razonable, con la mas baja tasa de mortalidad y habiendo utilizado la menor cantidad posible de la energía aportada inicialmente al huevo en forma de vitelo. Esto ocurre para *C. quadricarinatus* a 25°C. En condiciones extremas, se estableció que el tiempo de incubación es demasiado largo si la temperatura es muy baja, y la mortalidad demasiado alta si la temperatura es muy alta. Si añadimos el uso del vitelo como criterio de evaluación del rendimiento, se observa que en ambos extremos el uso del vitelo es ineficiente (Capítulo IV, fig 3), ya que es necesaria una mayor cantidad de energía por día de cultivo. De este modo, es energéticamente mas costoso el cultivar a temperaturas extremas, considerando que las altas mortalidades a temperaturas altas y el largo tiempo de desarrollo a temperaturas bajas, hacen que el costo de producción de un juvenil se incremente. Esto puede tener implicaciones importantes al elegir la temperatura de incubación mas adecuada a nivel comercial.

Adicionalmente, los juveniles obtenidos a 31°C presentaron indicios de deformidades. Se observó que existe una relación proporcional entre los individuos malformados y alta la mortalidad, al menos a esta temperatura. Las malformaciones pudieran ser el resultado de un uso ineficiente del vitelo a causa de un desequilibrio entre el tiempo mínimo necesario para formar adecuadamente los

órganos y las estructuras internas y la tasa metabólica resultante de incubarlos a dicha temperatura. Los organismos mantenidos a 31°C tienen que atravesar los mismos estadios, completar los mismos procesos y formar las mismas estructuras, pero gastando más energía en cada estadio por esta diferencia en la tasa metabólica. La disminución de los nutrientes a niveles críticos, puede llegar a ser causa de inanición y, consecuente de la muerte cuando los organismos son forzados a permanecer en temperaturas extremas (Gilroy y Edwards, 1998). Al respecto, Mackeviene (1993) encontró que durante la incubación de huevos de *Pacifastacus leniusculus*, obligados a sostener una alta tasa metabólica durante las fases post-embrionarias, se obtuvieron frecuentemente malformaciones y la muerte. Esto concuerda con los resultados obtenidos en el experimento 4, en el cual se puso de manifiesto que las reservas endógenas no solo son importantes en esta etapa post-embrionaria sino también en los primeros días del estadio de juvenil. Por lo anteriormente expuesto, se puede decir que la diferencia en los niveles de compuestos bioquímicos, o en la utilización de éstos según la temperatura de cultivo podría determinar el éxito o el fracaso durante la ontogenia.

Así pues, se sugiere que la temperatura ideal para el desarrollo de los huevos de *C. quadricarinatus* es de 25°C, no obstante que hasta los 28°C el uso del vitelo es relativamente eficiente e implica un ahorro de una semana en el tiempo de incubación, si consideramos el total de tiempo necesario desde el desove hasta la producción de juveniles. De hecho, Yeh y Rouse (1994) recomendaron incubar a 28°C, basados únicamente en la supervivencia hasta la conversión en juvenil y la velocidad de incubación.

Por otro lado, se observó que las concentraciones medias iniciales de los tres componentes en los huevos varían sensiblemente en función de la fuente nutricional y de la época del año, como lo demuestra la comparación de los resultados obtenidos en los experimentos 2 y 3. En el primer caso, se emplearon hembras llevadas a la madurez en estanques y que tuvieron disponible una dieta variada compuesta por el alimento administrado y lo que resultaba de la productividad del mismo estanque. Estas hembras tuvieron 901 µg/huevo de lípidos, 1424 µg/huevo de proteínas y 89 µg/huevo de carbohidratos en huevos recién desovados. En el segundo, las hembras fueron llevadas a la madurez en tanques de 200L y alimentadas con peletizado comercial con un contenido de 32% proteína cruda (867 µg/huevo de lípidos, 1416 µg/huevo de proteínas y 99 µg/huevo de carbohidratos en huevos recién desovados). Asimismo, en el experimento 2 las hembras se maduraron durante el verano y en el experimento 3 durante el invierno, hecho que pudiese haber influido en la eficiencia de síntesis del vitelo en la gónada y su transferencia a los huevos (Barki *et al.*, 1997; Karplus *et al.*, 1998).

Conclusiones

- I. La ontogenia de *Cherax quadricarinatus* obedece al típico esquema de los Parastácidos; un desarrollo embrionario continuo y la eclosión en grado avanzado a los 30 días a 26°C. El organismo continúa siendo lecitotrófico hasta que adquiere todas las características que definen a un juvenil, lo cual corresponde a 12 días después de la eclosión a 26°C.
- II. Después de la eclosión el desarrollo comprende dos estadios adicionales, POI y POII antes de convertirse en juvenil.
- III. El método de porcentajes es el más adecuado a usar en este caso como criterio de clasificación debido al desarrollo embrionario continuo que caracteriza la ontogenia de *Cherax quadricarinatus*.
- IV. El componente más abundante del vitelo en los huevos de *Cherax quadricarinatus* son las proteínas, los lípidos son el segundo y los carbohidratos son sólo constituyentes menores.
- V. Los lípidos son el principal recurso energético y las proteínas también son importantes como combustible, especialmente en las fases post-embrionarias.
- VI. La temperatura del agua afecta la incubación de los huevos de *Cherax quadricarinatus*. El tiempo total necesario para obtener los juveniles y la supervivencia a esta fase disminuyen a medida que la temperatura aumenta.
- VII. La tasa de consumo de los lípidos aumenta con el aumento de temperatura y la tasa de consumo de las proteínas aumenta a temperaturas extremas, tanto las bajas (22°C) como las altas (31°C).
- VIII. La temperatura de incubación más recomendable es 25°C.
- IX. La capacidad digestiva en términos de las células hepatopancreáticas especializadas, las estructuras implicadas en los eventos mecánicos de la digestión y las estructuras sensoriales se encuentran plenamente desarrolladas hasta que el juvenil tiene una semana de edad.

Perspectivas

El presente trabajo, propone soluciones para resolver algunos problemas relacionados con la producción de huevos de *C. quadricarinatus*, pero también surgen otras interrogantes sobre la ontogenia de la especie y relacionadas con las condiciones mas adecuadas para que se desarrolle. En principio, si se tiene una clara idea del uso de los tres componentes vitelinos principales en función del grado de desarrollo y de la temperatura, se ofrece una idea clara de la necesidad de estos y de su uso. Un estudio detallado que refleje el perfil de consumo de los ácidos grasos y de los amino ácidos esenciales, puede proveer un panorama sobre los requerimientos de estos en cantidad, tipo y momentos en los que son empleados. Asimismo, el perfil de consumo del vitelo en función de otras variables ambientales debe ser estudiado. La salinidad es otra de las variables ambientales que normalmente interfieren con el desempeño de los huevos, en particular debido a que si la cantidad de sales en el medio difiere mucho de la de los fluidos internos, los organismos serán obligados a gastar energía en osmorregular, con el consecuente desvío de recursos para afrontar el costo energético adicional de esta tarea metabólica.

Aun queda como interrogante que relación existe entre la cantidad y la calidad del vitelo y las malformaciones observadas en los embriones (frecuencia o gravedad de las malformaciones). El posible desarrollo de malformaciones externas durante la ontogenia, es otro aspecto que se pudiera usar como indicador en el uso adecuado de la temperatura máxima de incubación. Un estudio que incluya paralelamente la dinámica del uso de los componentes vitelinos a diferentes temperaturas y la presencia ausencia de malformaciones de acuerdo a ese uso, es deseable.

También sería bueno comparar si hay variaciones en la calidad de los nutrientes en función de la edad de la hembra. Se tienen antecedentes de que existe una disminución en la producción de los huevos y en la calidad de estos en las hembras que se acercan a la senectud. Esto ha sido observado en camarones Peneidos (Palacios, 1999). Esto puede ayudar a decidir el momento de descartar las hembras que, por la edad ya no son capaces de producir huevos de alta calidad aun si se les da alimento bien balanceado durante la maduración. Es posible que el tiempo que la hembra pase produciendo desoves afecte la calidad de sus huevos (Palacios, 1999). Para evaluar esto, se podrían usar hembras de diferente edad, con distintos antecedentes (fisiológicos y nutricionales) y con distinta antigüedad en su uso como reproductoras. Con estas, se podrían hacer estudios de evaluación de las reservas contenidas en los huevos a lo largo del desarrollo y ver la calidad de los juveniles producidos por cada una. Incluso, se podría determinar una edad ideal de las hembras para producir huevos de alta calidad.

El intentar cultivar los huevos *in vitro*, sería otra opción interesante y que debería evaluarse con el fin de comparar la supervivencia y la calidad de los juveniles obtenidos al incubarlos separadamente de la hembra. El consumo de los nutrientes vitelinos podría ser distinto según los huevos permanezcan entre los pleópodos de la hembra o sean incubados *in vitro*. Además, este modelo experimental podría permitir otro tipo de estudios, por ejemplo de balance energético en los cuales se requiere de medir variables como el consumo de oxígeno de los huevos y de los embriones. Otra posibilidad es montar un experimento que midiera la excreción de nitrógeno en los huevos y en los post embriones. Esto nos podría indicar cuantas proteínas son catabolizadas para usarlas como combustibles. De este modo, se puede definir la importancia real de las proteínas en la producción de energía metabólica durante la ontogenia.

Otro experimento interesante, sería el realizar el cultivo embrionario con una variación de la temperatura según la fase de desarrollo, buscando si existen diferentes temperaturas óptimas para diferentes estadios. De esta manera se podrían determinar temperaturas optimas de cultivo embrionario o post embrionario tomando en cuenta las mismas variables que en el presente trabajo (i.e., supervivencia, tiempo de desarrollo y consumo de nutrientes vitelinos).

Finalmente, se requieren estudios sobre las rutas metabólicas involucradas en la síntesis, el almacenamiento y el transporte de reservas desde el tubo digestivo hasta el hepatopáncreas durante los días previos y posteriores a la eclosión. Lo anterior pudiera contribuir a conocer mejor las necesidades nutricionales del organismo en las etapas críticas de cambio a alimentación exógena.

Referencias

- Abdu U., Yehezkel G, y Sagi A., 2000. Oocyte development and polypeptide dynamics during ovarian maturation in the red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Invertebrate Reproduction and Development* 37; 75-83.
- Abdu U., Barki A, y Karplus I., 2001. Physiological effects of methyl farnesoate and pyriproxyfen on wintering female crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture* 202; 163-175.
- Abi ayad S., Melard C, y Kestemont P., 1997. Effects of n-3 fatty acids in eurasian perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. *Aquaculture international* 5; 161-168.
- Ackefors S., 1988. The culture and capture of crayfish in Europe. *World aquaculture* 29 No 2; 18-26.
- Adiyodi, R. G., 1985. Reproduction and its control. Bliss, D. E. y Mantel, L. H. *The Biology of Crustacean* 147-215.
- Agard J. B., 1999. A four dimensional response surface analysis of the ontogeny of physiological adaptation to salinity and temperature in larvae of the palaemonid shrimp *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 236; 209-233.
- Alam M., Ang K., y Begum M., 1995. Replacement with *Artemia* with *Moina micrura* in the rearing of freshwater shrimp larvae. *Aquaculture International* 3; 243-248.
- Alam M., Begum M., y Ang K., 1995. Use of egg custard augmented with cod liver oil and *Moina micrura* on production of freshwater prawn postlarvae. *Aquaculture International* 3; 249-259.
- Anderson D., Embryology, Bliss D. y Abele L., 1982. Embryology Morphology and Genetics. (1), 1-42. Academic Press *The Biology of Crustacea*.
- Anger K., 1989. Growth and exuvial loss during larval and early juvenile development of the hermit crab *Pagurus bernhardus* reared in the laboratory. *Marine Biology* 103; 503-511.
- Anger K., 2001. The biology of decapod crustacean larvae. *Crustacean Issues* 14 A. A. Balkema, Lisse, The Netherlands.
- Anson K., y Rouse D., 1994. Effects of salinity on hatching and post - hatch survival of the Australian redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Journal of the World aquaculture society* 25; 277-280.
- Anson K. y Rouse D., 1996. Evaluation of several commercial feeds and a crustacean reference diet for juvenile Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Applied Aquaculture* 6; 65-73.
- Asgari A., Saad C., y Alimon A., 2001. Fatty acid composition of whole body in different size groups of red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). 11. 2001. 6th Asian Fisheries Forum Book of Abstracts, Asian Fisheries Society, Unit A, Mayaman Townhomes 25 Mayaman Street UP Village, Quezon City Philippines.

- Austin C., 1995a. The definition and phylogenetic position of the genus *Cherax* (Decapoda Parastacidae). *Freshwater crayfish* 8. 12-31.
- Austin C., 1995b. Effect of temperature and salinity on the survival and growth of juvenile redclaw (*Cherax quadricarinatus*) 10. *Int. Symp. on Freshwater Crayfish, Adelaide, S.A. (Australia)*, 10-15 Apr 1995.
- Austin C., 1998. A comparison on clutch and brood size in the red claw *Cherax quadricarinatus* (Von Martens) and the Yabby *C destructor* (Clarck) Decapoda Parastacidae. *Aquaculture* 167; 135-145.
- Austin C., 1998. Intraespecific variation in clutch and brood size and rate development in the yabby *Cherax destructor* (Decapoda Parastacidae). *Aquaculture* 167; 147-159.
- Barki A., Levi T., y Hulata G., 1997. Annual cycle of spawning and molting in the redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, under laboratory conditions. *Aquaculture* 157; 237-247.
- Barki A., Levi T., y Shrem A., 1997. Ration and spatial distribution of feed affect survival, growth, and competition in juvenile red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, reared in the laboratory. *Aquaculture* 148; 149-167.
- Barki A. y Karplus I., 2000. Crowding female redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* under small tanks hatchery conditions: what is the limit? *Aquaculture* 181; 235-240.
- Barki A., Gur N., y Karplus I., 2001. Management of interspecific food competition in fish-crayfish communal culture: the effects of the spatial and temporal separation of feed. *Aquaculture* 201; 343-354.
- Barnes H. y Blackstock J., 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 12; 103-118.
- Batang B. y Hiroshi S., 2000. Gill structure and gill-cleaning mechanisms of the redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Astacidea, Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology* 20, 4; 699-714
- Bechler D., 1995. A review on prospectus on sexual and interespecific pheromonal communication in crayfish. *Freshwater Crayfish* 8, 657-667.
- Bell T. y Lightner D., 1988. *A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology*. The World Aquaculture Society, State of Hawaii, USA.
- Bentley D., 1979. Quantitive staging on embryonic development of the grasshopper *Shistocerca nittens*. *Journal of Embriology and Experimental Morphology* 54; 47-74.
- Benzie J., 1997. A review of the effect of genetics and environment on the maturation and larval quality of the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 155; 69-85.
- Bermudes, M., y Ritar A., 1999. Effects of temperature on embryonic development of the striped trumpeter *Latris lineata* (Bloch and Schneider, 1801). *Aquaculture* 176; 245-255.
- Biesiot, B. M., y Perry H. M., 1995. Biochemical composition of the deep sea red crab *Chaceon quinquedens* (Geryonidae): organic reserves of developing embryos and adults. *Marine Biology* 124; 407-416.

- Bligh E. y Dyer J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37; 911-917.
- Bradford M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding. *Analytical Biochemistry* 72; 248-253.
- Broadie R. y Harvey A., 2001. Larval development of the land hermit crab *Coenobita compressus* H milne Edwards reared in the laboratory. *Journal of Crustacean Biology* 21, 715-732.
- Bromage N. y Roberts R., 1990. Broodstock management and egg and larval quality. (3), 353-373. London, Blackwell science.
- Cacecci T., Smith S., Duncan R., y Walker S., 1999. Identification of individual prawns with implanted microchip transponders. *Aquaculture*. 180; 41-51.
- Cahu L., Severe A., y Quazaguel P., 1988. The variation of lipid content in *Penaeus indicus* during larval development. *Comite de la mariculture, France*.
- Cahu L., Cuzon G. y Quazuguel P., 1995. Effects of highly unsaturated fatty acids α -tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development on *Penaeus indicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 112; 417-429.
- Castell J., 1977. Fatty acid metabolism in crustaceans. 124-145. *Proceedings of the second international conference on aquaculture. Baton rouge, Louisiana*
- Cavalli R., Lavens P., y Sorgellos P., 1999. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. *Aquaculture* 179; 387-402.
- Cavalli R, Menschaert G, Lavens P, y Sorgellos P. 2000. Maturation performance, offspring quality and lipid composition of *Macrobrachium rosenbergii* females fed increased levels of dietary phospholipids. *Aquaculture international* 8; 41-58.
- Chang A., 2001. Analysis of the performance of a formulated feed in comparison with a commercial prawn feed for the crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *World Aquaculture* 32; 19-23.
- Chang A., 2001. Analysis of the performance of a formulated feed for redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* compared to a commercial prawn feed. *Aquaculture-2001:-Book-of-Abstracts 143-JM-Parker-Coliseum-Louisiana-State-University-Baton-Rouge-LA-70803-USA World-Aquaculture-Society 2001* 109.
- Charmantier G., Charmantier D., y Aiken D., 1991. Metamorphosis in the lobster *Homarus*, a review. *Journal of the Crustacean Biology*. 11 (4); 481-495.
- Christensen N. y Korsgaard B., 1999. Protein metabolism growth and pigmentation patterns during metamorphosis of plaice *Pleuronectes platessa* larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 237; 225-241.
- Chu K. y Ousvianico-Koulikovsky N., 1994. Ontogenic changes in metabolic activity and biochemical composition in the shrimp *Metapeneus ensis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 183; 11-26.

- Clarke A., Brown J., y Holmes L., 1990. The biochemical composition of eggs from *Macrobrachium rosenbergii* in relation to embryonic development. Comparative Biochemistry and Physiology 96 B; 505-511.
- Clarke A. 1992. Egg size and egg composition in polar shrimps (Caridea Decapoda). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 16; 188-203.
- Chio J. y Hong s., 2001. Larval development of the kishi velvet shrimp *Metapenaeopsis dalei* (Rathbun) (Decapoda: Penaeidae) reared in the laboratory. Fisheries Bulletin 99, 275-291.
- Conceicao L., Ozorio R., Suurd E., y Verreth J., 1998. Amino acid profile and aminoacid utilization in larval african catfish *Clarias gariepinus*; effects of ontogeny and temperature. Fish Physiology and Biochemistry 19; 43-57.
- Coutteau P., Geurden I., Camara M., Bergot P., y Sorgellos P., 1997. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. Aquaculture 155; 149-164.
- Crespo S., Marín de Mateo M., Santamaría C., Sala R., Grau A., y Pastor E., 2001. Histopathological observations during larval rearing of common dentex *Dentex dentex* (Sparidae). Aquaculture 132-138.
- Cuesta J., Diesel R., y Schubart C., 2001. Re examination of the zoeal morphology of *Chasmagnatus granulatus*, *Cyclograpsus lavauxi*, *Hemigrapsus sexdenatus* and *H. crenulatus* confirms consistent chaetotaxy in the Varunidae (Decapoda: Brachiura). Crustaceana 74, 895-912.
- Curtis M.C., y Jones C., 1995. Overview of reddaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, farming practices in northern Australia 10. International Symposium on Freshwater Crayfish, Adelaide, S.A. (Australia), 10-15, Apr 1995.
- D' Abrammo L., Conklin D., y Akiyama D., 1997. Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture 6; World Aquaculture Society.
- De Silva S., Sheikhn-Eldin M., Ingram A., y An P., 1998. Changes in proximate and aminoacid composition during early development of two Australian Percychtynid fish, Maquarie perch, *Maquaria australasica* Cuvier and trout cod, *Maccullochella macquarensis* (Cuvier). Aquaculture international 29; 459-467.
- Desvillettes C., Bourdier G., y Breton J., 1997. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in pike *Esox lucius* eggs and larvae. Fish Physiology and Biochemistry 16; 381-393.
- Du-Boulay, -A.J.H.; Sayer, -M.D.J.; Holdich, -D.M., 1993. Investigations into intensive culture of the Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* Freshwater Crayfish IX, Holdich, -D.M.; Warner, -G.F.-eds. Lafayette, LA USA, University of South Western Louisiana, 70-78pp.
- Edgerton B. y Owens L., 1999. Histopathological surveys of the reddaw freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* in Australia. Aquaculture 180; 23-40.

- Edgerton B. Pathology of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* in Australia. 201. 2001. Aquaculture 2001: Book of Abstracts, World Aquaculture Society, 143 J.M Parker Coliseum Louisiana State University Baton Rouge LA 70803 USA.
- Edgerton B., Webb R, y Anderson I. 2001. Description of a presumptive hepatopancreatic reovirus, and a putative gill parvovirus, in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. Diseases of Aquatic Organisms 41; 83-90.
- Edgerton B. 2002. A compendium of idiopathic lesions observed in redclaw freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Journal of Fish Diseases 23; 103-113.
- Edgerton B. y Owens L. 2002. Histopathological surveys of the redclaw freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*, in Australia. Aquaculture 180; 23-40.
- Evjemo O., Coutteau P., Olsen Y., y Sorgellos P., 1997. The stability of docosahexaenoic acid in two *Artemia* species following enrichment and subsequent starvation. Aquaculture 148-
- Evjemo O., Danielsen T., y Olsen Y., 2001. Losses of lipid, protein and n - 3 fatty acids in enriched *Artemia franciscana* starved at different temperatures. Aquaculture 193; 65-80.
- Fabregas J., Abalde J., Cabezas B., y Herrero C., 1989. Changes in protein, carbohydrates and gross energy in the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) by nitrogen concentrations as nitrite, nitrite and urea. Aquacultural Engineering 8; 223-239.
- Fan Li M., Yun-Long Z., Li-Qiao X., Zhi-Min Gu, Gu-Xing X., y Qi Wen L., 2001. Embryonic development of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* II Development of the digestive system. Zoological Research 22; 387-391.
- Fan Li M, Yun-Long Z, Li-Qiao X., Zhi-Min Gu, Gu-Xing X., y Qi Wen L., 2002. The study of embryonic development of *Cherax quadricarinatus* I. Morphogenesis of external structures of embryo. Zoological Research 21; 468-472.
- Figueredo M., Cricker J., y Anderson A., 2001. Digestive enzyme activities in the alimentary tract of redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). Journal of Crustacean Biology 21; 334-344.
- Firkins I. y Holdich D., 1993. Thermal studies with three species of freshwater crayfish. 241-248. Freshwater crayfish IX.
- Fletcher A. y Warburton K., 1997. Consumption of fresh and decomposed duckweed *Spirodela sp.* by Redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Aquaculture research 28; 379-382.
- Fontagne S., Geurden I., Escaffre A., y Bergot P., 1998. Histological changes induced by dietary phospholipids in intestine and liver of common carp (*Cyprinus carpio*) larvae. Aquaculture 213-233.
- Fontagne S., Pruszinsky T., Corraze G., y Bergot P., 1999. Effect of coconout oil and trycaprilin vs. triolein on survival, growth and fatty acid composition of common carp *Cyprinus carpio* larvae. Aquaculture 179; 241-251.

- Fontagne S., Robin J., Corraze G., y Bergot P., 2000. Growth and survival of European sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae fed from first feeding on compound diets containing medium chain triacylglycerols. *Aquaculture* 190; 261-271.
- Fraser A., Gamble J. y Sargent J., 1988. Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod *Gadus morhua*. *Marine Biology* 99; 307-313.
- Fraser A., 1989. Triacylglycerol content as a condition index for fish, bivalve and crustacean larvae. *Canadian Journal of fisheries and aquatic science*. 46; 1868-1872.
- Furuïta H., Takeuchi T., y Kazumasa U., 1998. Effects of eicosapentaenoic acids on growth, survival and brain development of larval japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*. 161; 269-279.
- Galloway T., Kjorsvik E., y Kryvi H., 1998. Effect of temperature on viability and axial muscle development in embryos and yolk sac larvae of the Northeast arctic cod *Gadus morhua*. *Marine Biology* 132; 559-567.
- Garcia-Guerrero M., Racotta I., y Villarreal H. Variation in the lipid, protein and carbohydrate composition during the embryonic development of *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology* (en prensa).
- Gardner C. y Maguire B., 1998. Effect of photoperiod and light intensity on survival, development and cannibalism of larvae of the Australian giant crab *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). *Aquaculture* 165; 51-63.
- Gilroy A. y Edwards S. J., 1998. Optimum temperature for growth of Australian abalone *Haliotis rubra* (Leach) and greenlip abalone, *Haliotis laevigata* (Leach). *Aquaculture international*. 29; 481-485.
- Gisbert E., Rodriguez A., Castelló F. y Williot P., 1998. A histological study of the development of the digestive tract of Siberian sturgeon *Acipenser baeri* during early ontogeny. *Aquaculture* 167; 195-209.
- González-Baro M., Heras H. y Pollero R., 2000. Enzyme activities involved in lipid metabolism during embryonic development of *Macrobrachium borellii*. *Lipids* 35, 645-651.
- González-Gordillo J. Y Rodríguez A., 2001. the complete larval development of the spider crab *Macropodia parva* (Crustacea: Decapoda: Majidae) from laboratory culture. *Invertebrate Reproduction and Development* 39, 135-142.
- González J., Carra J., Celada D., y Saenz-Royuela M., 1992. Management of crayfish eggs *Pacifastacus leniusculus* for intensification of juvenile production. *Freshwater crayfish IX* 144-146.
- Gore R. 1969. *Petrolistes armatus*. A redescription of larval development under laboratory conditions (Decapoda, Porcelanidae). Miami, Institute of Marine Sciences, University of Miami. 1122, 75-89.

- Grubb C. 1994. Introduction and cultivation of crayfish in Zambia. Report of the Technical Consultation on Species for Small Reservoir Fisheries and Aquaculture in Southern Africa. FAO/SIDA Aquaculture for Local Community Development Program, 19, 35-36. Livingstone, Zambia.
- Gu,-H.; Mather,-P.B.; Capra,-M.F., 1995. Juvenile growth performance among stocks and families of red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Aquaculture 134, no. 1-2, pp. 29-36.
- Gu H, Anderson A, y Mather P. 1996. Effects of feeding level and starvation on growth and water and protein content in juvenile redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Marine and Freshwater Research. 47; 745-748.
- Harpaz,-S.; Rise,-M.; Arad,-S.; Gur,-N., 1998. The effect of three carotenoid sources on growth and pigmentation of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture Nutrition 4, no. 3, pp. 201-208.
- Heras H., Garin C., y Pollero R., 1998. Biochemical composition and energy source s during embryo development in early juveniles of the snail *Pomacea canaliculata* (Mollusca Gastropoda). The Journal of Experimental Zoology 280; 375-383.
- Heras H., Gonzales-Baro M., y Pollero R., 2000. Lipid and fatty acid composition and energy partitioning during the embryo development in the shrimp *Macrobrachium borellii*. Lipids 35; 645-651.
- Hernández-Herrera R. 2001. Indicadores Bioquímico- Fisiológicos de la calidad larvaria y post larvaria de camarón blanco *Litopenaeus vannameii*. Programa de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
- Hertzler P. y Clark W., 1992. Cleavage and gastrulation in the shrimp *Sicyonia ingentis*: invagination is accompanied by oriented cell division. Development 116; 127-140.
- Herbert, B., 1998. Infection of *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) by the microsporidium *Thelohania* sp. (Microsporida: Nosematidae). Journal of Fish Diseases 11, no. 4, pp. 301-308.
- Hobbs, H. Jr., 1974. Synopsis of the family and genera of crayfishes (Crustacea: Decapoda). Smithsonian Contributions to Zoology, 164: 1-32.
- Holdich D., Reeve D., y Rogers W., 1995. Introduction and spread of alien crayfish in British waters, implications for native crayfish populations. Freshwater crayfish 8. 99-112.
- Holdich, D., 1992. A global review of Astaciculture., Freshwater crayfish farming 1. European Crustacean Conf., Paris (France), 31 Aug-5 Sep 1992., Museum-Natl.-d'-Histoire-Naturelle,-Paris-France pp. 69-70.
- Holland D., 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. Malins D C. Biochemical and biophysical perspectives in marine biology. Seattle W, Academic Press. 85-123.
- Horwitz. P., 1990. The translocation of freshwater crayfish in Australia: Potential impact, the need for control and global relevance. Biology and Conservation, vol. 54, no. 4, pp. 291-305.

- Hutchins R., 1990. Backyard and small scale farming of red-claw. Proceedings of the seminar farming the red claw fresh water crayfish. Shelley C., Pearce M C. eds. Northern Territory Department of Ports and Fisheries, Darwin Australia 1990. no. 21 p. 41
- Hutchins R., Rawles S., y Gatlin D., 1998. Effects of dietary carbohydrate kind and level on growth, body composition and glycemic response of juvenile sunshine bass. *Aquaculture*. 161; 187-199.
- Huxley T. H., 1886. The crayfish, an introduction to study of zoology. New York, D. Appleton 1, 1-326.
- Jarboe H. y Romaine R., 1995. Effects on density reduction and supplemental feeding on stunted crayfish *Procambarus clarkii* populations in earthen ponds. *Journal of the World Aquaculture Society* 26; 29-37.
- Jiménez R., Barniol R., y Romero X., 1998. A prokaryotic intracellular organism in the cuticular epithelium of cultured crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens), in Ecuador. *Journal of Fish Diseases* 21; 387-390.
- Jiménez R. y Romero X., 1998. Iron deposits on the cuticle and in the hepatopancreas of the Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Von Martens). *Journal of Fish Diseases* 21; 395-398.
- Jones C., 1978. Effect of temperature on growth and survival of the tropical freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Von Martens) Decapoda Parastacidae. *Freshwater crayfish IX*, 391-398.
- Jones C., 1990. Biology and aquaculture potential of the tropical Australian freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*. 8. Int. Symp. on Freshwater Crayfish, Baton Rouge, LA (USA), April 22-26, 1990
- Jones C., 1999. A Handbook for farmers and investors. Redclaw Crayfish. Inf-Ser-Dep-Prim-Ind-Queensl Brisbane,-Qld-Australia QDPI 2000 36 pp.
- Jones C., Mc Phee C., y Ruscoe M., 2000. A review of genetic improvement in growth rate in redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens) Decapoda Parastacidae. *Aquaculture Research*. 31; 61-67.
- Jones J., 1993. Architecture and composition of the muscles that drive stomatopod eye movement. *The Journal of Experimental Biology*. 188; 317-331.
- Jones J. y Grady,-J., 2000. Redclaw from harvest to market: a manual of handling procedures Inf-Ser-Dep-Prim-Ind-Queensl Brisbane,-Qld-Australia QDPI 2000 36 pp
- Jones J. y Ruscoe M. 2001. Assessment of Five Shelter Types in the Production of Redclaw Crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) Under Earthen Pond Conditions. *Journal of the World Aquaculture Society* 32; 41-52.
- Jones J., y Ruscoe M. 2001. Assessment of stocking size and density in the production of redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens) (Decapoda: Parastacidae), cultured under earthen pond conditions. *Aquaculture* 189; 63-71.

- Jones P., Austin C., y Mitchell B., 1995. Growth and survival of juvenile *Cherax albidus* Clark cultured intensively on natural and formulated diets. Freshwater crayfish. 10; 480-493.
- Jones P., De Silva S, y Mitchell B. 1996. Effects of replacement of animal protein by soybean meal on growth and carcass composition in juvenile Australian freshwater crayfish. Aquaculture international. 4; 339-359.
- Jones P. y De Silva S. 1997. Apparent nutrient digestibility of formulated diets by the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor* Clark (Decapoda Parastacidae). Aquaculture research.
- Jones P. y De Silva S., 1997. Influence of differential movement of the marker chromic oxide and nutrients on digestibility estimations in the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor*. Aquaculture 154; 323-336.
- Jones T. y Lester R., 1996. Factors influencing populations of the ectosymbiont Diceratocephala boschmai (Platyhelminthes; Temnocephalida) on the redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* maintained under laboratory conditions. Aquaculture 143; 233-243.
- Kamler E., Keckeis H., y Bauer-Nemeschkal E., 1998. Temperature induced changes of survival, development and yolk partitioning in *Chondostroma nasus*. Journal of Fish Biology 53; 658-682.
- Karplus,-I.; Barki,-A.; Cohen,-S.; Hulata,-G., 1995. Culture of the Australian red-claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) in Israel I. Polyculture with fish in earthen ponds. Israeli Aquaculture Bamidgeh, no. 1, pp. 6-16
- Karplus I., Zoran M., Milstein A., Sheenan H., Eran Y., Joseph D., y Sagi A. 1998. Culture of the Australian redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* in Israel. Survival in earthen ponds under ambient winter temperatures. Aquaculture 166; 259-267.
- Karplus I., Zoran M., y Milstein A., 1998. Culture of the Australian red-claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) in Israel III. Survival in earthen ponds under ambient winter temperatures. Aquaculture 166; 259-267.
- Keckeis H., Kamler E., Bauer-Nemeschkal E., y Schneeweiss K., 2001. Survival, development and food energy partitioning of nase larvae and early juveniles at different temperatures. Journal of Fish Biology 59; 45-61.
- Khalaila I., Weil S., y Sagi A., 1999. Endocrine balance between male and female components of the reproductive system in intersex *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). Journal of experimental zoology 283; 286-294.
- Khalaila I., Katz T., y Abdu U., 2001. Effects of Implantation of Hypertrophied Androgenic Glands on Sexual Characters and Physiology of the Reproductive System in the Female Red Claw Crayfish, *Cherax quadricarinatus*. General and Comparative Endocrinology 121; 242-249.
- King C., 1993. Potential fecundity of redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* von Martens in culture. Aquaculture 114, no. 3-4, pp. 237-241.
- Kotha,-S.R.; Rouse,-D.B., 1997. Polyculture of red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) with Nile tilapia (*Sarotherodon niloticus*) Annual Meeting of the National Shellfisheries Association, Fort Walton Beach, FL (USA), 20-24 Apr 1997

- Kumlu M., Eroldogan O., y Aktas M., 2000. Effects of temperature and salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus*. Aquaculture 188; 177-173.
- Kurmaly K., Yule A. y Jones D., 1989. An energy budget for the larvae of *Penaeus monodon* (Fabricius). Aquaculture 81; 13-25.
- Kurokawa T. y Suzuki T., 1995. Structure of the exocrine pancreas of flounder *Paralichthys olivaceus*, immunological localization of zymogen granules in the digestive tract using anti-trypsinogen antibody. Journal of Fish Biology 46; 292-301.
- Kurokawa T. y Suzuki T. 1998. Development of intestinal brush border aminopeptidase in the larval japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 162; 113-124.
- Kurokawa T., Shiraishi M, y Suzuki T. 1998. Quantification of exogenous protease derived from zooplankton in the intestine of japanese sardine *Sardinops melanotictus* larvae. Aquaculture 161; 491-499.
- Laing I. y Earl N., 1998. The lipid content, spatfall and subsequent growth of early and late settling hatchery reared pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg larvae. Aquaculture International 29; 19-25.
- Lasker R., 1964. An experimental study of the effect of temperature on the incubation time, development and growth on pacific sardine embryos and larvae. Copeia. 2; 399-405.
- Lavens P. y Sorgellos P., 1991. Variation in egg and larvae quality in various fish and crustacean species. Gent Belgium, European aquaculture society, Fish and crustaceans larviculture symposium Larvi 91'
- Lavens P., Lebegue E., Jaunet H., Brunel A., y Sorgellos P., 1999. Effect of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot broodstocks. Aquaculture international 7; 225-240.
- Lawrence C. y Morrissy M., 2000. Genetic improvement of marron *Cherax tenuimanus* (Smith) and yabbies *Cherax* spp. in western Australia. Aquaculture research 31; 69-82.
- Lein I., Tveite S., Gjerde B., y Holmefjord I., 1997. Effects of salinity on yolk sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture 156; 291-303.
- Lein I., Holmefjord I., y Rye M., 1997. Effect of temperature on yolk sac larvae of atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. Aquaculture 157; 123-135.
- Lemos D y Rodríguez A., 1997. Nutritional effects on body composition, energy content and trypsin activity of *Penaeus japonicus* during early postlarval development. Aquaculture 160; 103-116.
- Lemos D. y Phan V., 2001. Energy partitioning into growth, respiration, excretion and exuvia during larval development of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. Aquaculture 199; 131-143.
- Levi T., Hulata G., y Barki A., 1999. Mother-offspring relationships in the red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Journal of Crustacean Biology 19; 477-484.

- Lovett D. y Felder D., 1990. Ontogenic changes in enzyme distribution and midgut function in developmental stages on *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). Biological Bulletin 178; 160-174.
- Lovrich G. y Ouellete P., 1994. Patterns of growth and tryacylglycerol content in snow crab *Chionoecetes opilio* (Brachiura: Majidae) zoeal stages reared in the laboratory. Marine Biology 120; 585-591.
- Loya-Javellana G. y Fielder D., 1997. Developmental trends in the mouthparts during growth from juvenile to adult of the tropical freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus* von Martens, 1868 (Decapoda: Parastacidae). Invertebrate Reproduction and Development 32; 167-175.
- Loya Javellana G., Fielder D. y Thorne M., 1993. Food choice by free living stages of the tropical freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). Aquaculture 118; 299-308.
- Loya Javellana G., Fielder D. y Thorne M., 1994. Ontogeny of foregut in the tropical freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus* von Martens, 1868 (Parastacidae: Decapoda). Invertebrate Reproduction and Development 25; 49-58.
- Mackevichiene G., 1978. Some biochemical differences between two species of freshwater crayfish *Astacus astacus* and *A. leptodactylus* in Lithuania Freshwater crayfish 4. 466-471.
- Mackevichiene G., 1992. Respiration during postembrionic development of the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus* (Dana). Freshwater crayfish IX. 183-188.
- Manomaitis L., Rouse D., y Webster C., 2001. Crude protein requirement for juvenile red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture 2001: Book of Abstracts, World Aquaculture Society. J. M. Parker Coliseum Louisiana. State University Baton Rouge LA 70803 USA. 404P.
- Mc Clain W., 1995. Growth of crayfish *Procambarus clarkii* as a function of density and food resources. Journal of the World Aquaculture Society 26; 24-28.
- Mc Evoy L., Naess T., Bell J., y Lie O., 1998. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* fed enriched *Artemia*. A comparision with fry fed wild copepods. Aquaculture 163; 237-250.
- Mc Evoy A., Navarro J., Amat F., y Sargent J., 1997. Application of soya phosphatidylcholine in tuna orbital oil enrichment emulsion for *Artemia*. Aquaculture International 5; 517-526.
- Meade E., Doeller E., Kraus W. y Watts A., 1994 Heat and oxygen flux as a function of environmental p sub(O₂) in juvenile Australian crayfish, *Cherax quadricarinatus*. Journal of Experimental Zoology 270, no. 5, pp. 461-466
- Meade M. y Watts S., 1997. Patterns of growth in juvenile Australian crayfish, *Cherax quadricarinatus*, during nutrient deprivation and recovery. Freshwater Crayfish 11. A Journal of Astacology., International Association of Astacology 403-416.
- Meade M. y Watts S., 2001. Physiological compensation in unilateral eyestalk ablated crayfish, *Cherax quadricarinatus*. Journal of Experimental Zoology 289; 184-189.

- Meadows L., Gell D., Broadie K., Gould A. y White R., 1994. The cell adhesion molecule, connectin, and the development of the *Drosophila* neuromuscular system. *Journal of Cell Science*. 107; 321-328.
- Medley P., Nelson G., Hatch U., Rouse B. y Pinto F., 1994. Economic feasibility and risk analysis of Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* aquaculture in the southeastern United States., *Journal of the World Aquaculture Society* 25-1 135-146
- Mills B., Morrissy M., Y Huner V., 1994. Culture of freshwater crayfishes in Australia. *Economics*. Huner V. ed. New York, NY-USA The Haworth Press, Inc. 271p.
- Mohanna A. y Nott A., 1985. M -midgut cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* de Haan, 1884 (Decapoda, Natantia). *Crustaceana* 48; 260-268.
- Mohanna A., Nott A., y Lane W., 1985. Mitotic E - and secretory F - cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). *Journal of Marine Biology of the United Kingdom* 65; 901-910.
- Mohanna A. y Nott A., 1986. B -cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). *Journal of Marine Biology of the United Kingdom* 66; 403-414.
- Mohanna A. y Nott A., 1987. R -cells in the digestive cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). *Marine Biology* 7; 126-137.
- Mookerji N. y Ramakrishna R., 1999. Rates of yolk utilization and effects of delayed initial feeding in the larvae of the freshwater fishes rohu and singhi. *Aquaculture international* 7; 45-46.
- Mourente G., Medina A., González S., y Rodríguez A., 1995. Variations in lipid content and nutritional status during the larval development of the marine shrimp *Penaeus keraturus*. *Aquaculture* 130; 187-199.
- Mourente G., Tocher D., Díaz E., Grau A., y Pastor E., 1999. Study of the n-3 highly unsaturated fatty acids requirements and antioxidant status of *Dentex dentex* larvae at the *Artemia* feeding stage. *Aquaculture* 179; 291-307.
- Murugadass S. y Pandian, T. J., 1991. Influence of dietary protein on maturation and egg production in *Macrobrachium nobilii*. Lavens, P, Sorgeloos, P., Jaspers, E., y Ollevier, E. Larvi '91 , 255-259. Ghent, Belgium.
- Naranjo J., 1999. Efecto de la densidad de siembra durante las fases de precría y la engorda monosexual de *Cherax quadricarinatus* en sistemas de producción comercial. Tesis de Maestría en Ciencias, Centro de Investigación de Graduados del Mar, Instituto Tecnológico del Mar, México 90p.
- Ocampo L., Villarreal H., Portillo G. y Magallón F., 2000. Effect of dissolved oxygen and temperature on growth, survival and body composition of juvenile *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes). *Aquaculture international* 31; 167-171.
- Owens L. y Mc Elnea C., 2000. Natural infection of the redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* with presumptive spawner-isolated mortality virus. *Diseases of Aquatic Organisms* 40, - 3, 219-223.

- Ojanguren A., Reyes-Gavilan F., y Rodríguez R., 1999. Effects of temperature on growth and efficiency of yolk utilization in eggs and pre-feeding larval stages of Atlantic salmon. *Aquaculture international* 7; 81-87.
- Ouellete P. y Taggart C., 1992. Lipid condition and survival in shrimp *Pandalus borealis* larvae. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 49; 368-378.
- Palacios E., Pérez-Rostro C., Ramírez J., Ibarra A., y Racotta I., 1998. Reproductive exhaustion in shrimp *Penaeus vannamei* reflected in larval biochemical composition, survival and growth. *Aquaculture*
- Palacios E, Ibarra A, Ramírez J, Portillo G, y Racotta I., 1998. Biochemical composition of eggs and nauplii on white pacific shrimp *Penaeus vannamei* (Boone) in relation to the physiological condition of spawners in the commercial hatchery. *Aquaculture Research* 29; 183-189.
- Palacios E. y Racotta I., 1999. Spawning frequencies analysis of wild and pond reared pacific white shrimp *Penaeus vannamei* brood stock under large scale hatchery conditions. *Journal of the World Aquaculture Society* 30; 180-191.
- Palacios E., Racotta I., Heras H., Marty Y., Moal J., y Samain J., 2002. Relation between lipid and fatty acid composition of eggs and larval survival in white pacific shrimp (*Penaeus vannamei*, Boone, 1931) *Aquaculture International* (en prensa).
- Pandian, T. J., 1970. Ecophysiological studies on the developing eggs and embryos of the european lobster *Homarus gammarus*. *Marine Biology*. 5; 154-167.
- Pavlov D. y Moksness E., 1995. Development of wolffish eggs at different temperature regimes. *Aquaculture International*. 3; 315-335.
- Pearce, M., 1990. Red-claw diseases. Seminar on Farming the Red-Claw Freshwater Crayfish in Australia. Shelley S., Pearce M., eds. Northern Territory Department of Ports and Fisheries, Darwin-Australia no. 21 29-31 pp.
- Petersen S. y Anger K., 1997. Chemical and physiological changes during the embryonic development of the spider crab *Hyas arenus* (Decapoda: Majidae). *Comparative Biochemistry and Physiology* 117b No 2; 299-306.
- Peterson R. y Robichaud M., 1995. Yolk utilization by Atlantic salmon *Salmo salar* alevins in response to temperature and substrate. *Aquaculture Engineering* 14; 85-99.
- Pinto F. y Rouse D., 1992. Growth and survival of the Australian red claw crayfish in earthen ponds at three densities. *Aquaculture' 92*, Orlando, FL (USA), 21-25 May 187p.
- Portelance B. y Dubé P., 1995. Temperature and photoperiod effects on ovarian maturation, ovarian growth and egg laying of crayfish *Orconectes virilis*. *Freshwater crayfish* 8. 321-330.
- Provenzano A., 1978. Larval development of the hermit crab *Paguristes spinipes* Milne Edwards, 1880 (Decapoda; Diogenidae) reared in the laboratory. *Bulletin of Marine Science* 28; 512-526.

- Provenzano A. y Handwerker T., 1995. Effects of photoperiod in spawning of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* at elevated temperature. *Freshwater crayfish* 8. 311-320.
- Racotta I. y Palacios E., 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 29; 351-356.
- Racotta I. S., Palacios E., e Ibarra A. M., 2003. Shrimp larval quality as a function of brood stock condition. (*Aquaculture*, en prensa)
- Rainuzzo J., Reitan K., y Olsen Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish, a review. *Aquaculture* 103-115.
- Reynolds J., 2002. Growth and reproduction, In: Holdich D. *Biology of Freshwater Crayfish* 1ed. Oxford, U. K., Blackwell Science. 152-184.
- Ribeiro L., Sarasquete C., y Dinis M., 1999. Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) larvae. *Aquaculture* 171; 293-308.
- Richardson A., Anderson J., Sara R., 1997. The effects of insulin/IGF-I on glucose and leucine metabolism in the redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). *General and Comparative Endocrinology* 105, 3, pp. 287-293.
- Rodríguez A., Le Vay L., Mourente G., y Jones D., 1994. Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and postlarvae of *Penaeus japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding. *Marine Biology* 118; 45-51.
- Rodríguez-Serna M., Carmona-Osalde C., Olvera-Novoa M. Y Arredondo Figuero J., 2000. fecundity, egg development and growth of juvenile crayfish *Procambarus austrocambarus* (Villalobos, 1955) under laboratory conditions. *Aquaculture Research* 31, 173-179.
- Romero X. 1997. Production of *redclaw* crayfish in Ecuador. *Journal of the World Aquaculture Society* 28; 5-10.
- Romero X. y Jimenez R., 1997. *Epistylis* sp. (Ciliata: Peritrichida) infestation on the eggs of berried red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* females in Ecuador. *Journal of the World Aquaculture Society* 28; 432-435.
- Romero X., Turnbull J., y Jimenez R., 2001. Ultrastructure and cytopathology of a *rickettsia*-like organism (RLO) causing systemic infection in the redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* in Ecuador. *Aquaculture 2001: Book of Abstracts*, World Aquaculture Society, 143 J.M Parker Coliseum Louisiana State University Baton Rouge LA 70803 USA.
- Rouse D., Kastner J. y Reddy K., 1995. Toxicity of ammonia and nitrite to hatchling redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Freshwater crayfish* 10; 298-303.
- Rouse D. y Kahn B., 1998. Production of Australian redclaw *Cherax quadricarinatus* in polyculture with nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 29 No 3; 340-344.

- Roustaian P., Kamarudin M., Omar H., Saad C. y Ahmad M. 1999. Changes in fatty acid profile during larval development of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture International* 30; 813-824.
- Roustaian P. y Kamarudin M., 2001. Biochemical changes in freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) during larval development. *Journal of the World Aquaculture Society* 31; 53-59.
- Rønnestad .I, Koven W., Tandler A., Harel M., y Fyhn H., 1998. Utilization of yolk fuel in developing eggs and larvae of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 162; 157-170.
- Rubino, C., 1992. Economics of red claw (*Cherax quadricarinatus*, von Martens, 1868) aquaculture. *Journal of Shellfish Research* 11-1, 157-162.
- Sagi A., Shoukrun R., Khalaila I., y Moshe R., 1996a. Gonad maturation, morphological and physiological changes during the first reproductive cycle of the crayfish *Cherax quadricarinatus* female. *Invertebrate Reproduction and Development* 29; 235-242.
- Sagi A., Khalaila I, Barki A., y Hulata G., 1996b. Intersex red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens): Functional males with pre-vitellogenic ovaries. *Biological Bulletin* 190(1), Marine Biological Laboratory, Woods Hole 16-23.
- Sagi A., Shoukrun R., y Levy T., 1997. Reproduction and molt in previously spawned and first time spawning red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* females following eyestalk ablation during the winter reproductive arrest period. *Aquaculture*. 156; 101-111.
- Sagi A., Milstein A., y Eran E., 1998. Culture of the Australian red-claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) in Israel: 2. Second growout season of overwintered populations. *Israeli Journal of Aquaculture* 49; 222-229.
- Sagi A., Khalaila I., Abdu U, Shoukrun R., y Weil S. 1999. A newly established ELISA showing the effect of the androgenic gly on secondary vitellogenic specific protein in the hemolymph of the crayfish *Cherax quadricarinatus*. *General and comparative endocrinology* 115; 37-45.
- Saker M. y Eagleshian G., 1999. The accumulation of cylindrospermopsin from the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in tissues of the redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Toxicon* 37; 1065-1067.
- Sammy N., 1988. Breeding biology of *Cherax quadricarinatus* in the Northern Territory. *Australian Shellfish Aquaculture Conference, Perth (Australia), 23 Oct 1988*
- Sandeman R. y Sandeman D. 1991. Stages in the development of the embryo of the fresh water crayfish *Cherax destructor*. *Roux Archives of Developmental Biology* 200; 27-37.
- Salame M. y Rouse D., 2000. Forage-Based Feeding in Commercial Red Claw Ponds in Ecuador *Journal of Applied Aquaculture* 10 -3, pp. 83-89.
- Sargent J., Mc Evoy L. y Bell M., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155; 127-

- Sargent J., Mc Evoy L., Estevez A., Bell M, Henderson J. y Tocher D., 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development. *Aquaculture* 179; 217-229.
- Saucedo P., 2001. Investigación aplicada al acondicionamiento gonadal y reproducción de la madreperla de Calafia, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) en el laboratorio. Tesis Doctoral del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Baja California Sur, México.
- Saucedo P., Ocampo L., Monsalvo P., Villarreal H. y Monteforte M., 2002. Effect of temperature on oxygen consumption and ammonia excretion in the Calafia mother of pearl oyster *Pinctada mazatlanica* (Bivalvia: Pteriidae). *Aquaculture* (en revisión).
- Shi Z., Huang C., Zhang J., Chen D. y Bonami J.R., 2000. White spot syndrome virus (WSSV) experimental infection of the freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus* *Journal of Fish Diseases* 23, no. 4, pp. 285-288.
- Schmidt-Nielsen K. 1997. Temperature effects. *Animal physiology*. Fifth ed., 217-238. Cambridge University Press.
- Schmidt-Nielsen K. 1997. Temperature regulation. *Animal physiology*. Fifth ed., 241-293. Cambridge University Press.
- Schmidt-Nielsen K. Respiration. *Animal physiology*. Fifth(1), 5-61. 1997. Cambridge University press.
- Serot T., Gandemer G., y Demaimay M., 1998. Lipid and fatty acid compositions of muscle from farmed and wild adult turbot. *Aquaculture International* 6; 331-343.
- Sevilla C., Linden E., Baccou J. y Sauvaire Y., 1993. Biochemical study on the growth of *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz) fed with plant diets by quantitative variations of muscular DNA and proteins. *Freshwater crayfish IX*. 226-234.
- Shao L., Wang S., y Zhu J., 1995. Preliminary study on the morphological features and behaviors of *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Zhejiang College of Fisheries* 15, 201-205.
- Sheehy, M.R.J.; Greenwood, J.G.; Fielder, D.R., 1994. More accurate chronological age determination of crustaceans from field situations using the physiological age marker, lipofuscin. *Marine Biology* 121, 2 237-245.
- Silkovsky S., Chayoth L. y Sagi A., 1998. Comparative study of effects of prostaglandin E sub(2) on cAMP levels in gonads of the prawn *Macrobrachium rosenbergii* and the crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Crustacean Biology* 18 - 4, 643-649.
- Small B. y Bates T., 2001. Effect of low temperature incubation of channel catfish *Ictalurus punctatus* eggs on development, survival and growth. *Journal of the World Aquaculture Society*. 32; 189-194.
- Smith G., 1911. The freshwater crayfish of Australia. New College, Oxford. 144-169.
- Sokal R. y Rohlf J., 1997. Biometry. W H Freeman & Co.

- Spivak J and Cuesta J. 2000. Larval development of *Cyrtograpsus affinis* (Dana) (Decapoda, Brachiura, Varunidae) from Rio de la Plata estuary, reared in the laboratory. *Scientia Marina*. 64; 29-47.
- Stryer L., 1995. *Bioquímica* 4, 1-900. Barcelona, Reverté.
- Sullivan J. y Macmillan D., 2001. Embryonic and post embryonic neurogenesis in the ventral nerve cord of the freshwater crayfish *Cherax destructor*. *Journal of Experimental Zoology*. 290; 49-60.
- Susanto G. y Charmantier G., 2001. Crayfish freshwater adaptations starts in eggs: Ontogeny of Osmoregulation in embryos of *Astacus leptodactylus*. *Journal of Experimental Zoology*. 289; 433-440.
- Taugbøl T. y Skurdal J., The significance of a cold water period for molting, maturation and fecundity in wild caught adult noble crayfish *Astacus astacus* in Norway. 148-156. 1995. *Freshwater Crayfish* 8.
- Thomas,-D.L.; Meade,-M.E.; Watts,-S.A., 1993. Polyculture of the pulmonate gastropod *Physella cubensis* and the Australian crayfish *Cherax quadricarinatus* in a closed, indoor recirculating system 70. *Annu. Meeting of the Alabama Academy of Science, Huntsville, AL (USA)*, 24-27.
- Tidwell H, Webster C, Coyle D, Daniels W, y D' Abrammo L. 1998. Fatty acid and aminoacid composition of eggs, muscle and midgut glands of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) raised in fertilized ponds, unfertilized ponds or fed prepared diets. *Aquaculture International* 29; 37-45.
- Vadstein O., 1997. The use of immunostimulation in marine larviculture; possibilities and challenges. *Aquaculture* 155; 401-417.
- Van Handel E., 1964. Estimation of glycogen in small amount of tissue. *Analytical Biochemistry* 65; 256-276.
- Verhoef G. y Austin C., 1999. Combined effects of temperature and density on the growth and survival of juveniles of the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor* (Clarck). *Aquaculture* 170; 37-47.
- Villarreal H., 1995. The potential of commercial culture of the Australian freshwater crayfish in Mexico.
- Villarreal H. y Pelaez A., 1999. *Biología y cultivo de la langosta de agua dulce Cherax quadricarinatus* (Decapoda Parastacidae). 1(Manual), 1-150. Publicación especial del CIBNOR y Acuacultivos Santo Domingo.
- Villarreal H. y Pelaez A., 2000. Commercial semiintensive production in clayponds of the freshwater redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* in Tamaulipas, Mexico.
- Wang S, Fu P, y Zheng Y. 1997. Experiment on culture of *Cherax quadricarinatus* introduced from Australia. *Shandong Fisheries* 15; 28-30.
- Wang X., Shao L., y Zhu J., 1997. Study on the growth characteristics of juvenile *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Zhejiang College of Fisheries* 16; 103-108.

- Watanabe T, Ohhashi S, Itoh A, Kitahima Ch, y Fujita S. 1984. Effects of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream brood stock and eggs produced. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 50; 503-515.
- Whittington P., Leach D., y Sandeman R., 1993. Evolutionary change in neural development within the arthropods: axon genesis in the embryos of two crustaceans. Development 118; 449-461.
- Whyte J., Bourne N., y Ginther N., 1990. Biochemical and energy changes during embryogenesis in the rook scallop *Crassodoma gigantea*. Marine Biology 106; 239-244.
- Williamson D., 1982. Embriology, Morphology and Genetics; Larval morphology and diversity. Bliss D y Abele L eds. The Biology of Crustacea (2), Academic Press, 43-100.
- Wong W., Desmarchelier P., 1995. Vibriosis due to *Vibrio mimicus* in Australian freshwater crayfish. Journal of Aquatic Animal Health, no. 4, pp. 284-291.
- Xu X., Ji W., Castell D. y O' Dor K. 1994. Influence on dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition on Chinese prawn *Penaeus chinensis* broodstock. Aquaculture 119; 359-370.
- Xue X., Anderson A., y Richardson N., 1999. Characterization of cellulase activity in the digestive system of the redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). Aquaculture 180; 373-386.
- Yeh H. y Rouse D., 1992. Effects of water temperature, density and sex ratio on the spawning rate of the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Von Martens). Journal of the World Aquaculture Society 26; 160-164.
- Yeh H. y Rouse D., 1994. Indoor spawning and egg development of the red claw cray fish *Cherax quadricarinatus*. Journal of the World Aquaculture Society 25; 297-301.
- Sheng Y., Rouse D., 1995. Effects of water temperature, density, and sex ratio on the spawning rate of red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Journal of the World Aquaculture Society 26, no. 2, pp. 160-164.
- Yehezkel G, Chayoth R, y Abdu U. 2001. High-density lipoprotein associated with secondary vitelogenesis in the hemolymph of the crayfish *Cherax quadricarinatus*. Comparative Biochemistry and Physiology B 127; 411-421.
- Yixiong C., Suzhi C., 1995. The prawns and crayfishes introduced to China. SinoZoologia 12, 170-179.
- Zar J. 1999. Biostatistical Analysis. 4 ed. New Jersey, USA, Prentice Hall.
- Zhao Y, Meng F, y Cheng L. 2001. Effects of Different Gradient Temperatures on Embryonic Development of the *Cherax quadricarinatus* (Crustacea, Decapoda). Journal of Lake Sciences 12; 29-62.
- Zimmermann, S., Fielder, D.R., 1994. Studies on androgenic gland ablation in the Australian red-claw (*Cherax quadricarinatus*), taking as a model the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Proceedings of the 4th Rio Grande meeting aquaculture experts. Zimmermann S., ed. 1994 pp. 1-5