

03065 1



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS  
PROFESIONALES Y DE POSGRADO

ESTUDIO SOBRE EL EFECTO DEL AMONIO EN  
POSTLARVAS Y JUVENILES DE Panacae vannamei

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS DEL MAR

*Oceanografía Costera*  
P R E S E N T A

ING. PESQ. MARTIN GABRIEL FRIAS ESPERICUETA

DIRECTOR: DR. FEDERICO PAEZ OSUNA

MAZATLAN SIN.

1997

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo se realizó bajo la dirección del Dr. Federico Páez Osuna y la M. en C. Martha R. Harfush Meléndez, en el laboratorio de Química Marina y en la sala de Acuarios de la Estación Mazatlán del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a través del proyecto 0625-N9110.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONALES  
Y DE POSGRADO**

**TESIS DE MAESTRIA EN CIENCIAS DEL MAR**

**"ESTUDIO SOBRE EL EFECTO DEL AMONIO EN POSTLARVAS  
Y JUVENILES DE *Penaeus vannamei*."**

**COMITE ASESOR:**

**Dr. Federico Páez Osuna  
Dr. J. Antonio Calderón Pérez  
M. en C. J. Isidro Osuna López  
M. en C. Martha R. Harfush Meléndez**

**JURADO:**

**Dr. Federico Páez Osuna  
Dr. J. Antonio Calderón Pérez  
M. en C. J. Isidro Osuna López  
M. en C. Martha R. Harfush Meléndez  
Dr. Michel E. Hendrickx Reners**

**A DIOS:  
A MI FAMILIA:  
A TODOS:**

**"...El principio de la sabiduría es el temor  
a Jehová".  
(Salmos, 111:10)**

**"...Y no es sabio aquel que sabe,  
sino aquel que se percató de su ignorancia  
y logró sobreponerse a la vanidad".  
(Anónimo)**

**"Hay que hacer lo que debemos,  
y lo que queramos, cuando podamos"  
(LGD, verano del '94)**

**"El verdadero valor significa decir «sí» a  
la vida en lugar de retroceder cuando  
afrontamos la adversidad".  
(Walter Anderson).**

**En la vida nos topamos con todo, gente  
buena y gente mala, buenos amigos y no  
tan buenos. Pero pocas personas tan  
excepcionales en calidad humana como la  
tuya (Harfish), quien enaltece la palabra  
«AMISTAD».**

## **AGRADECIMIENTOS**

Antes que nada, **GRACIAS A DIOS** por permitirme vivir y terminar esta tesis

A Martha R. Harfush Meléndez, por su invaluable ayuda durante los bioensayos y sus enseñanzas fuera del laboratorio

Al Dr. Federico Paez-Osuna por su dirección y apoyo brindado para la realización de esta tesis.

Al C. Dr. Isidro Osuna López, sus comentarios a la tesis, consejos y las facilidades que me dió para realizar los bioensayos.

Al Biol. Ramón Espinoza y al Biol. Acuacultor Joel Lizárraga Valdez por proporcionar los juveniles y las postlarvas para los experimentos.

Al Biol. Acuacultor Guillermo Lara Anguiano, Biol. María de los Angeles Herrera, Biol. Pesq. Alfonso Bernal Bañuelos su participación en los bioensayos.

Al M. en C. Sergio Rendón R. quien desinteresadamente colaboró en los bioensayos y Dr. Alberto Abreu por darnos un espacio en su laboratorio durante el experimento con las postlarvas.

Al M. en C. Yovani Montaña Ley y al Quím. Humberto Bojórquez Leyva, todo el apoyo académico a esta tesis

A mis asesores Dr. Michel Hendrickx y Dr. Antonio Calderón sus importantes observaciones al presente trabajo. Y al C. M. en C. Gildardo Izaguirre Fierro por revisar mi tesis

A María Clara Ramírez Jaugueri, por su amable colaboración al conseguirme el material bibliográfico necesario

Al Ing. Alberto Castro del Río, por su desinteresada ayuda durante toda la Maestría.

Al Mat. Germán Ramírez Resendiz su apoyo en el uso de paquetes de computación (Word y Excel) y al Biol. Acuacultor Gabriel López López por los análisis en la caracterización del agua.

A Lucy, Pepe, "Guero", Juanita, Lysis y Teo. Por picarme las costillas y darme siempre ánimo.

A mi familia, ese apoyo moral que prevaleció a cada momento.

A todos ustedes, y a los que me faltaron, **GRACIAS**, porque sin su ayuda no lo hubiera logrado.

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

- Tabla 1 - Resultados de la caracterización del agua utilizada en los experimentos.
- Tabla 2.- Porcentaje de mortalidad de postlarvas (PL12) expuestas a diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).
- Tabla 3.- Porcentaje de mortalidad de juveniles (1.0 g) expuestos a diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).
- Tabla 4.- Porcentaje de mortalidad de juveniles (3.8 g) expuestos a diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).
- Tabla 5 - Porcentaje de mortalidad de juveniles (3.8 g) recalculadas expuestos a diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l), considerando los resultados obtenidos en el bioensayo de los juveniles de 1.0 g.
- Tabla 6 - Valores de  $\text{N-NH}_3$  y  $\text{N-NH}_4^+$  en el agua utilizada durante el bioensayo de las postlarvas (PL12) en función del pH, para una temperatura de 28°C y una salinidad de 34 ‰.
- Tabla 7 - Valores de  $\text{N-NH}_3$  y  $\text{N-NH}_4^+$  en el agua utilizada durante el bioensayo de juveniles (1.0 g) en función del pH, para una temperatura de 26°C y una salinidad de 34 ‰.
- Tabla 8.- Valores de  $\text{N-NH}_3$  y  $\text{N-NH}_4^+$  en el agua utilizada durante el bioensayo de juveniles (3.8 g) en función del pH, para una temperatura de 23°C y una salinidad de 34 ‰.
- Tabla 9.- Número de artemias/ml en los matraces contenedores de postlarvas (PL12) de *Penaeus vannamei* durante el bioensayo.
- Tabla 10 - Media de los pesos iniciales y finales en *Penaeus vannamei* (1.0 g) durante el bioensayo.
- Tabla 11.- Pesos iniciales y finales en juveniles (3.8 g) de *Penaeus vannamei* durante el bioensayo.
- Tabla 12 - Comparación de los resultados de las pruebas de significancia estadística para LC50-96 h entre postlarvas (PL12) y juveniles de 1.0 y 3.8 g de *Penaeus vannamei*.
- Tabla 13 - Comparación de LC50 por N-Amonio (mg/l) de diferentes especies en diferentes estadios.

- Figura 1.- **Porcentajes de sobrevivencia de postlarvas (PL12) de *P. vannamei* obtenidos durante el experimento con diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).**
- Figura 2.- **Porcentajes de sobrevivencia de postlarvas (PL12) de *P. vannamei* obtenidos durante el experimento con diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).**
- Figura 3.- **Porcentajes de sobrevivencia de juveniles (1 g) de *P. vannamei* obtenidos durante el experimento con diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).**
- Figura 4.- **Porcentajes de sobrevivencia de juveniles (3.8 g) de *P. vannamei* obtenidos durante el experimento con diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).**
- Figura 5.- **Porcentajes de sobrevivencia recalculados en juveniles (3.8 g) de *P. vannamei* observados durante el experimento con diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).**
- Figura 6.- **Comparación de LC50 por N-Amonio y N-NH<sub>3</sub> en postlarvas (PL12) de *P. vannamei*.**
- Figura 7.- **Comparación de LC50 por N-Amonio y N-NH<sub>3</sub> en juveniles (1 g) de *P. vannamei*.**
- Figura 8.- **Comparación de LC50 por N-Amonio y N-NH<sub>3</sub> en juveniles (3.8 g) de *P. vannamei*.**
- Figura 9.- **Comparación de LC50 por N-Amonio (mg/l) en diferentes estadios de *P. vannamei*.**
- Figura 10.- **Comparación de LC50 por N-NH<sub>3</sub> (mg/l) en diferentes estadios de *P. vannamei*.**
- Figura 11.- **Relación de la concentración de N-Amonio (mg/l) con la mortalidad probit en postlarvas (PL12) de *P. vannamei*.**
- Figura 12.- **Relación de la concentración de N-Amonio (mg/l) con la mortalidad probit en juveniles (1 g) de *P. vannamei*.**
- Figura 13.- **Relación de la concentración de N-Amonio (mg/l) con la mortalidad probit en juveniles (3.8 g) de *P. vannamei*.**



## INDICE

	pag.
1.- INTRODUCCION	1
2.- OBJETIVOS	4
3.- ANTECEDENTES	5
4.- GENERALIDADES	9
4.1. CLASIFICACION TAXONOMICA DE <i>P. vannamei</i>	9
4.2. CRECIMIENTO	10
4.3. SISTEMA EXCRETOR	11
4.3.1. Metabolismo del nitrógeno	11
4.4. ALIMENTACION Y NUTRICION	13
4.5. CICLO DEL NITROGENO	15
4.6. TOXICIDAD POR AMONIO	17
5.- MATERIAL Y METODOS	18
5.1. JUVENILES	19
5.2. POSTLARVAS (PL12)	22
6.- AREA DE ESTUDIO	29
7.- RESULTADOS	31
8.- DISCUSION	37
9.- CONCLUSIONES	49
10.- LITERATURA CITADA	51
11.- TABLAS Y FIGURAS	64

## I.- INTRODUCCION

Hace 2.000 años, Aristóteles colocó animales dulceacuicolas en agua marina y observó sus reacciones, quizás para contestarse la pregunta ¿cómo afecta este material al organismo?, de tal manera el llevo a cabo una prueba de toxicidad acuática (Buikema *et al.*, 1982).

Una prueba de toxicidad acuática es un procedimiento por el cual las respuestas de los organismos acuáticos son usadas para detectar o medir la presencia o efecto de una o más sustancias, desechos, o factores ambientales, solos o en combinación (APHA-AWWA-WPCF, 1989). De acuerdo con APHA-AWWA-WPCF (1989), las pruebas de toxicidad son útiles para una variedad de propósitos que incluyen determinar:

- a) La adaptación de la vida acuática para las condiciones ambientales
- b) Cuales factores ambientales son favorables y/o desfavorables, (e.g. oxígeno disuelto, pH, temperatura, salinidad o turbidez).
- c) Los efectos de factores ambientales sobre el grado de toxicidad de sustancias de desecho.
- d) La toxicidad de las sustancias de desechos sobre organismos de prueba.
- e) La sensibilidad relativa de los organismos acuáticos a un efluente o tóxico en particular.
- f) El tipo, cantidad y duración del tratamiento para el control de la contaminación de las aguas
- g) La efectividad de los métodos para el tratamiento de aguas de desecho.

h) **Las tasas de descarga de efluentes permitidos.**

Los organismos expuestos a sustancias tóxicas se ponen en estrés, se debilitan y se vuelven mucho más sensibles a parásitos y enfermedades (APHA-AWWA-WPCF, 1989). Por lo tanto las pruebas de toxicidad son necesarias en la evaluación de la contaminación del agua debido a que las pruebas físicas y químicas por separado no son suficientes para evaluar los efectos potenciales sobre la biota acuática (Tarzwell, 1958, 1971).

Estas pruebas, además de establecer la concentración letal media (concentración de una sustancia tóxica que mata al 50% de una población expuesta a dicha sustancia en un tiempo dado) de ciertos contaminantes, permite también evaluar el efecto sobre el crecimiento, reproducción, desarrollo de productos sexuales, maduración, desove, éxito del desove, fijación de larvas, desarrollo larvario y sobrevivencia de los organismos durante su ciclo de vida, deformidades, comportamiento y bioacumulación (ASTM, 1987).

De acuerdo con Colt y Armstrong (1981), el manejo de la calidad del agua en los cultivos intensivos y semi-intensivos de organismos acuáticos ha sido objeto de numerosas investigaciones en los últimos diez años. De estos estudios, se puede concluir que, en estos sistemas artificiales, la toxicidad de los compuestos del nitrógeno excretados es el parámetro más limitante, una vez que los niveles de oxígeno disuelto son mantenidos adecuadamente.

En los sistemas de cultivo acuicola, el metabolismo de las proteínas contenidas en el alimento es la principal fuente de compuestos del nitrógeno (Colt y Armstrong, 1981). El amonio, que se origina de la excreción de los organismos en el cultivo (Campbell, 1973) y de la amonificación del alimento no consumido o detritus orgánico, es el tóxico más común (Chen *et al.*, 1990b). De aquí que tanto el amonio como el nitrito, sean las principales formas inorgánicas del nitrógeno en sistemas de cultivo que pueden deteriorar la calidad del agua, resultando en una alta mortandad y baja tasa de crecimiento de peneidos (Colt y Armstrong, 1981)

En el agua, el amonio se encuentra en forma no ionizada ( $\text{NH}_3$ ) y en su forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ). La primera forma ( $\text{NH}_3$ ) es más tóxica debido a su habilidad para movilizarse rápidamente por difusión a través de las membranas celulares (Froom y Gillette, 1968; Emerson *et al.*, 1975), mientras que la segunda forma ( $\text{NH}_4^+$ ) es considerada menos tóxica (Tabata, 1962). La proporción relativa de  $\text{NH}_3$  y  $\text{NH}_4^+$  en una solución dada, es principalmente dependiente del pH, de la temperatura y en menor proporción de la salinidad (Bower y Bidwell, 1978). Por lo tanto, su acumulación ( $\text{NH}_3$  y/o  $\text{NH}_4^+$ ) y el análisis de los efectos que tiene sobre los organismos es de gran trascendencia en el monitoreo de los sistemas de cultivo. Diversos investigadores (e.g. Smart, 1978; Colt y Armstrong, 1981) han demostrado que el amonio es muy tóxico para los animales acuáticos y puede tener efectos fisiológicos negativos considerables, tanto en peces como en crustáceos y moluscos. Esto puede limitar la producción en la acuicultura, repercutiendo en problemas económicos y sociales para la comunidad.

**2.- OBJETIVOS**

Mediante una serie de pruebas de toxicidad desarrolladas por métodos estándar y empleando especímenes juveniles y postlarvas de *Penaeus vannamei* Boone, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- A) Determinar la concentración letal media (LC50) por amonio en organismos juveniles de granja de *Penaeus vannamei* en diferentes tallas.
- B) Determinar la concentración letal media (LC50) por amonio en postlarvas de *Penaeus vannamei*.
- C) Establecer la posible relación entre el estadio de muda y el efecto del amonio.
- D) Comparar estos resultados con los obtenidos en otras especies de peneidos, y determinar así la resistencia fisiológica de *P. vannamei* a las altas concentraciones de amonio.
- E) Proporcionar los niveles de concentración máximos permisibles de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NH}_3$  para el cultivo de postlarvas y juveniles de *Penaeus vannamei*.
- F) Determinar algunos efectos subletales del amonio en el comportamiento de estos organismos en cuanto a su alimentación.

### 3.- ANTECEDENTES

En la literatura científica existen numerosos trabajos sobre la biología de peneidos. Entre estos podemos citar aquellos de Dall (1981) y Cheng y Liao (1986) quienes llevaron a cabo estudios sobre la capacidad osmótica en *Peneaeus plebejus* Hess y *P. monodon* Fabricius, encontrando que estas especies euryhalinas mantenían la concentración osmótica de los fluidos de su cuerpo más abajo que los del agua de mar (973 mOsm equivalente a 30 ‰<sub>os</sub>; y 750 mOsm equivalente a 25.8 ‰<sub>os</sub>, respectivamente), y esta concentración es mantenida aún en medios de diferente salinidad (de 20 a 40 ‰<sub>os</sub>), lo que les permite adaptarse a cuerpos de agua con diferentes valores de salinidad. Adiyodi (1985) estudió el control endocrinológico de la muda, concluyendo que la muda ocurre cuando dosis de la hormona que inhibe la muda (MIH) y de la hormona que estimula la gonada son bajas (GSH), al mismo tiempo que la hormona que inhibe la gonada (GIH) y las hormonas de la muda son altas. Ogle y Beaugez (1991) determinaron la preferencia al alimento de *Peneaeus vannamei*, encontrando, en orden de preferencia, los siguientes alimentos: *Artemia*, krill, poliquetos, ostras y finalmente el alimento artificial. Dall *et al.* (1990), resumieron el ciclo de vida de algunos camarones peneidos (e.g. *P. vannamei*). Las postlarvas migran al interior de estuarios, una vez que alcanzan el estadio juvenil y maduran sexualmente, abandonan el estuario para desovar en el mar. Otras especies de peneidos (e.g. *P. californiensis* Holmes) llevan a cabo todo su ciclo de vida en el mar.

Sin embargo, los estudios relacionados a pruebas de toxicidad y el efecto que tienen el  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_2^-$  en crustáceos y peces son pocos, no obstante el gran efecto que tienen estos parámetros sobre la productividad en los diversos cuerpos de agua. Entre otras investigaciones se pueden citar las siguientes: Wickins (1976), quien experimentó con 7 especies de peneidos (*Peneus aztecus* Ives, *P. indicus* Milne-Edwards, *P. japonicus* Bate, *P. merguensis* de Man, *P. monodon* Fabricius, *P. occidentalis* Streets y *P. orientalis* Kishinouye), encontró una LC50 a 48 h de 1.29 mg  $\text{NH}_3\text{-N/l}$ , además reportó que a 0.45 mg  $\text{NH}_3\text{-N/l}$  el crecimiento de los peneidos se redujo al 50% con respecto al de los controles. Colt y Armstrong (1981) estudiaron el efecto letal y subletal del amonio en crustáceos. Encontraron que la LC50 para 96 h de  $\text{NH}_3\text{-N}$  varía de 0.40 a 2.31 mg/l, y puede reducir el crecimiento y dañar las branquias y otros órganos. Chin y Chen (1987) experimentaron con nauplios, zoea, mysis y postlarvas (PL6) de *P. monodon*, encontrando una LC50, a las 24 h de 6.00, 8.48, 24.04 y 52.11 mg N-Amonio/l, respectivamente. Chen y Chin (1989) estudiaron el efecto del amonio a diferentes valores de pH en postlarvas de *P. monodon*. Concluyeron que en una solución de amonio dada, al aumentar el pH se incrementa la proporción de  $\text{NH}_3$ , con el consecuente aumento de toxicidad del medio experimental en postlarvas de *P. monodon*. Allan *et al.* (1990) observaron la influencia de la toxicidad del amonio a bajos niveles de oxígeno disuelto en juveniles de *P. monodon*, encontrando después de 96 h de experimento el 90% de los peneidos murieron a un nivel de oxígeno disuelto de 2.3 mg/l y una concentración de N-Amonio de 33.5 mg/l, mientras que a la misma concentración de N-Amonio pero un nivel de oxígeno disuelto de 5.7 mg/l la mortalidad fue solo del 33%. Chen *et al.* (1990a), quienes experimentaron con juveniles de *P. chinensis* Osbeck, encontraron una LC50 a

24, 48, 96 y 120 h para N-Amonio de 79.97, 51.14, 37.0 y 35.09 mg/l, respectivamente, mientras que en el estudio de Chen *et al.* (1990b), con el mismo tóxico y con juveniles de *P. monodon*, las LC50 fueron de 97.9, 88, 53.4 y 42.6 mg/l, a 24, 48, 96 y 120 h, respectivamente. Chen y Nan (1991) estudiaron la excreción del N-Amonio en juveniles de *P. chinensis* Osbeck, expuestos a diferentes concentraciones de N-Amonio en el agua. Estos autores concluyeron que la excreción incrementó cuando esta especie fue expuesta a concentraciones de N-Amonio entre 0.037 y 5.043 mg/l, pero decreció a partir de concentraciones de 5.043 y hasta 20.093 mg/l. Así mismo, la excreción fue inhibida cuando los organismos fueron expuestos a concentraciones de N-Amonio superiores a 10.106 mg/l. Zanders y Rojas (1992), quienes experimentaron con adultos del anfípodo *Elasmopus rapax* Costa (Crustacea: Gammaridea: Melitidae), obtuvieron una LC50 para cadmio de 4.0 y 1.6  $\mu\text{mol/l}$  a 48 y 96 h, respectivamente. Chen y Kou (1993) cuantificaron la acumulación de amonio en la hemolinfa de especímenes de *P. monodon* expuesto a 10, 50 y 100 mg/l de N-Amonio. Encontraron que a 50 y 100 mg/l, los organismos acumularon amonio en la hemolinfa, y una vez que la concentración de este tóxico alcanzaba un nivel superior a 20 mg/l en la hemolinfa, los organismos se debilitaron y murieron.

En México, hasta la fecha, no se tienen antecedentes de trabajos sobre la LC50 por amonio en penidos, pese a que el amonio ha sido reconocido como el tóxico más común en los sistemas de cultivo (Chen y Nan, 1991). Se sabe que su concentración aumenta conforme se prolonga el ciclo de cultivo (Chen y Chin, 1989), con la consecuente acumulación de amonio en el agua que



deteriora la calidad del agua e inhibe el crecimiento de los pecidos en cultivo (Chen y Lin, 1992). Mortandades masivas de camarones en los estanques acuícolas han sido atribuidas a este fenómeno de acumulación (Bower and Bidwell, 1978).

De aquí la trascendencia de realizar trabajos de esta naturaleza en la determinación del efecto letal (LC50) y subletal (efectos sobre el crecimiento, excreción, etc.) que tienen tanto el amonio como otros tóxicos en la acuicultura.

#### 4.- GENERALIDADES

##### 4.1.- CLASIFICACION TAXONOMICA DE *Penaeus vannamei*

De acuerdo con Barnes (1977), el phylum Arthropoda es un vasto conjunto de animales de los cuales se han descrito al menos 750,000 especies, lo que representa tres veces el número de todas las demás especies animales combinadas. Es tal la capacidad de adaptación de los artrópodos que esto les ha permitido sobrevivir en prácticamente todos los hábitat. Estos son seguramente los animales que con mayor éxito han invadido el hábitat terrestre.

Los organismos acuáticos de la clase Crustacea son los más importantes entre los artrópodos. La mayoría de los crustáceos son marinos pero también existen especies dulceacuicolas (Barnes, 1977).

La clasificación taxonómica de *Penaeus vannamei* de acuerdo con Bowman y Abele (1983) y Pérez-Farfante (1988), es como sigue.

Phylum	Arthropoda (von Siebold, 1848)
Super clase	Crustacea (Latreille, 1777)
Clase	Malacostraca (Latreille, 1806)
Subclase	Eumalacostraca (Grobber, 1892)
Super orden	Eucarida (Calman, 1904)

Orden	Decapoda (Latreille, 1803)
Suborden	Dendrobranchiata (Bate, 1888)
Super familia	Penaeoidea (Rafinesque, 1815)
Familia	Penaeidae (Rafinesque, 1815)
Género	<i>Penaeus</i> (Fabricius, 1789)
Subgénero	<i>Litopenaeus</i> (Méndez, 1981)
Especie	<i>vannamei</i> (Boone, 1931)

#### 4.2.- CRECIMIENTO

De acuerdo con Villée (1988), el crecimiento es el aumento de tejidos producido por el tamaño o cantidad de las células. El aumento de tamaño de la célula puede deberse a simple ingestión de agua, pero este incremento de volumen no suele considerarse como crecimiento. En los crustáceos, el crecimiento puede depender del sexo y de la talla del animal, así como de algunos factores ambientales, tales como la calidad y cantidad de alimento, la densidad de población, la intensidad de luz, temperatura y salinidad (Dall *et al.*, 1990).

Al igual que los demás crustáceos, los penéidos incrementan su talla en una serie de pasos: un rápido aumento en la ecdysis es seguido por un periodo sin crecimiento o bien con un pequeño incremento hasta la siguiente ecdysis (Dall *et al.*, 1990). Pocos aspectos de la fisiología de los crustáceos son tan importantes como la muda, básicamente una forma de crecimiento para un animal con exoesqueleto. Es de hecho un proceso que domina la vida del crustáceo: el

metabolismo, el comportamiento, la reproducción y aún la agudeza sensorial son afectados directa o indirectamente por este proceso (Passano, 1960).

Drach (1939) identificó 5 estados básicos que permiten completar un ciclo de muda completo

- A) **Estado de postecdysis**, en el cual el exoesqueleto está blando y flácido.
- B) **Estado subiguiente**, donde el exoesqueleto está todavía blando pero lo suficientemente rígido para soportar al animal
- C) **Estado intermuda**, en el cual el exoesqueleto está completamente calcificado
- D) **Estado premuda o proecdysis**, donde las preparaciones morfológicas y fisiológicas son llevadas a cabo para el estado final de la ecdysis
- E) **Estado ecdysis**, en el cual la vieja cutícula es abandonada.

### **4.3.- SISTEMA EXCRETOR**

Aunque una gran variedad de tejidos y órganos participan en la excreción de desechos metabólicos en los crustáceos, los órganos primarios de producción de orina son las glándulas antenales y maxilares (Parry, 1960; McLaughlin, 1983). La glándula maxilar es el órgano excretor más común en adultos de la clase Entomostraca, mientras que en los adultos de la clase Malacostraca, es la glándula antenal (Marchal, 1892; McLaughlin, 1983; Regnault, 1987).

#### **4.3.1.- Metabolismo del nitrógeno.**

De acuerdo con Claybrook (1983), un detallado conocimiento de los constituyentes nitrogenados, de las rutas metabólicas y de los mecanismos reguladores que controlan su cantidad y distribución es esencial para un mejor entendimiento de la biología de crustáceos. Los compuestos nitrogenados (ácidos nucleicos, aminoácidos, enzimas y otras proteínas, purinas y pirimidinas, coenzimas e innumerables intermediarios metabólicos) son algunos de los principales reguladores de la capacidad genética, control metabólico y transferencia de energía, lo que repercute en la nutrición, crecimiento, desarrollo energético y ajustes fisiológicos a diversas variables endógenas y exógenas de los crustáceos (Claybrook, 1983).

En los crustáceos, como en otros organismos, el amonio es el principal producto nitrogenado de desecho, pero la urea y el ácido úrico son detectables en la mayoría de los casos (Regnault, 1983; Dall *et al.*, 1990). Por esto, los crustáceos como grupo, pueden ser llamados amoniotélicos (Parry, 1960; Regnault, 1987).

En el cangrejo *Carcinus maenas* L. la cantidad de amonio excretado varía de acuerdo con un número de factores internos y externos, tales como la dieta, heridas, muda, entorno, salinidad, temperatura y proximidad de otros animales (Needham, 1957). De acuerdo con Parry (1960), la excreción del nitrógeno no parece ser una función importante de las glándulas excretoras en crustáceos (maxilar en la clase Entomostraca, antenal en Malacostraca), ya que la orina de la mayoría de las especies contiene solamente pequeñas cantidades de  $\text{NH}_3$ , urea y ácido úrico o aminos, insuficiente para explicar el balance metabólico del nitrógeno.

Boivin (1929) notó por primera vez la incapacidad de la glándula antenal para la excreción del nitrógeno. Este mismo autor, calculó que el cangrejo *Maja* sp., con un peso de 1,000-1,500 g., excretaba en la orina solamente de 1 a 2 g de nitrógeno en 24 h, lo cual era insuficiente para un animal de ese tamaño. Krogh (1939) y Parry (1960) concluyeron que todo el nitrógeno de desecho no era eliminado por la glándula antenal y que el epitelio permeable de las branquias debía ser el principal sitio de excreción.

Dall *et al.*(1990) expresaron que las glándulas antenales son órganos para la regulación iónica y que cantidades muy pequeñas de sustancias nitrogenadas son incluidas en su secreción. Raghavaiah *et al.*(1980) y Kormani y Cameron (1981) encontraron que el amonio es excretado vía las branquias, pero todavía no ha sido resuelto si es por simple difusión (normalmente, el gradiente de la sangre al agua externa es mayor) o por un mecanismo activo de intercambio de  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$  a través del epitelio permeable de las branquias (Regnault, 1987).

#### 4.4.- ALIMENTACION Y NUTRICION

De acuerdo con Dall y Moriarty (1983), en el medio acuático, particularmente en el mar, los crustáceos han explotado cada tipo de nicho. Esta diversidad ecológica es consecuencia de la diversidad del alimento que en cada nicho prevalece. Según sus hábitos alimenticios, los crustáceos pueden ser divididos en las siguientes clases: filtradores, carroñeros, depredadores y parásitos (Marshall y Orr, 1960).

Varios investigadores han demostrado la preferencia que tienen los penaeidos por el alimento vivo, y dentro de este al de origen animal (e.g. Hall, 1962; Moriarty y Barclay, 1981). Aún en estanques de cultivo, el bentos natural puede constituir parte importante e inclusive dominante de la dieta del camarón, a pesar de la presencia de alimento artificial (Reymond y Lagardère, 1990).

Todos los estudios sobre requerimientos de energía en penaeidos son para dietas artificiales en acuicultura, donde el objetivo primario es obtener el mejor crecimiento con el alimento más barato (New, 1987). Las especies de los géneros *Penaeus* y probablemente *Metapenaeus*, pueden ser considerados altamente carnívoros (Dall *et al.*, 1990). Esto significa que, como en otros carnívoros, hay un gran exceso de proteína (por encima de la requerida para biosíntesis), la cual es oxidada para la producción de energía (McGilvery, 1970); por lo tanto, los penaeidos oxidan aminoácidos para obtener energía de una manera rutinaria (Dall *et al.*, 1990). Esto fue comprobado por Dall y Smith (1986) quienes mantuvieron en ayuno a camarones por cinco días, observando que la proporción  $O_2:N_2$  en sus tejidos disminuye a casi 7:1. Esto sugiere que los aminoácidos fueron la única fuente de energía; siendo el músculo abdominal, el principal tejido metabolizado durante el ayuno (Barclay *et al.*, 1983), aunque en condiciones normales, en los penaeidos la mayoría de los requerimientos energéticos son obtenidos de las proteínas, de los carbohidratos y, en menor proporción, de los lípidos (Dall *et al.*, 1990).

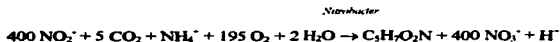
#### 4.5.- CICLO DEL NITRÓGENO

De acuerdo con Lalli y Parsons (1993) el ciclo del nitrógeno en el mar es complejo. Existen diversas formas que no son fácilmente convertidas de una a otra. Incluye el nitrógeno disuelto molecular ( $N_2$ ) y las formas iónicas de amonio ( $NH_4^+$  y  $NH_3$ ), nitrito ( $NO_2^-$ ) y nitrato ( $NO_3^-$ ), así como compuestos orgánicos tales como urea ( $CO(NH_2)_2$ ). La forma dominante de nitrógeno en el océano es el ión nitrato, y éste es a menudo la forma en que lo utiliza el fitoplancton, aunque algunas especies también pueden utilizar los iones nitrito o amonio. Unas pocas especies fitoplanctónicas, también son capaces de metabolizar pequeñas moléculas de nitrógeno orgánico, tales como los aminoácidos y la urea, y el nitrógeno molecular.

La regeneración del nitrógeno en la columna de agua resulta de la actividad bacteriana y de la excreción de animales marinos, especialmente el zooplancton. La oxidación de amonio a nitrito, y después a nitrato, es llamada nitrificación. Las bacterias que llevan a cabo esta oxidación son llamadas bacterias nitrificantes (*Nitrosomas* sp, *Nitrobacter* sp), llevan a cabo estas reacciones para la obtención de la energía para su metabolismo (organismos quimio-organotrofos). Las reacciones completas propuestas son (Wickins, 1976):



*Nitrosomas*



*Nitrobacter*



El proceso inverso (formar compuestos del nitrógeno reducidos a partir del nitrato), ocurre en ambientes anaerobios, principalmente en sedimentos anóxicos y es llamado **denitrificación**, aunque en algunos ambientes aeróbicos la denitrificación puede ocurrir en la presencia de partículas de detritos, probablemente debido a la formación de microzonas de actividad bacteriana dentro de las partículas (Jannasch, 1960). Estos cambios son llevados a cabo por bacterias denitrificantes (*Pseudomonas* sp y *Aeromonas* sp).

Como un constituyente de las proteínas, el nitrógeno es un elemento vital. Es asimilado por las plantas verdes principalmente en la forma de amonio o nitrato, de aquí que la producción de sustancias orgánicas depende de su concentración (Rheinheimer, 1991).

Básicamente hay tres fuentes de amonio relacionados con los sistemas de cultivos acuícolas: (1) el amonio contenido en el agua con que se abastecen, (2) el producido por los organismos a través de su metabolismo; y (3) el generado por la descomposición bacteriana de heces, alimento y materia orgánica en general. La distribución de sus formas inorgánicas y orgánicas depende de la actividad bacteriana, del tiempo de residencia y del nivel de oxígeno disuelto (Liao, 1974). Además, se sabe que su concentración se incrementa con el avance del ciclo de cultivo (Chen *et al.*, 1986; Chen y Chin, 1989; Guerrero-Galván, 1993).

Debido a la toxicidad del amonio, es necesario transformarlo a otros productos menos dañinos. Mevel y Chamroux (1981) sugirieron el uso de arena en el fondo, ya que esta ayuda al desarrollo de la microflora total, incluyendo las bacterias nitrificantes.

#### **4.6.- TOXICIDAD POR AMONIO**

El entendimiento de la acción fisiológica de un tóxico es la clave para predecir importantes efectos subletales. El conocimiento de su modo de acción podría ayudar a prevenir conclusiones incorrectas acerca de la toxicidad del compuesto (Sprague, 1971). Así mismo y de acuerdo con Bartholomew (1964), "hay un número de niveles de integración biológica y en cada nivel uno encuentra la explicación del mecanismo en los niveles de abajo, y su significancia en los niveles de arriba".

El mecanismo más directo de toxicidad letal producido por el amonio, parece ser el deterioro del metabolismo de la energía cerebral debido al gasto de altos compuestos de energía (ATP, ADP) (Smart, 1978). Sin embargo, diversos autores han observado efectos a nivel celular (Campbell, 1973), sobre la excreción de nitrógeno (Colt y Armstrong, 1981), de la osmorregulación (Lloyd y Orr, 1969; Magnum *et al.*, 1976), y sobre el transporte de oxígeno en la hemolinfa (Colt y Armstrong, 1981).

### 5.- MATERIAL Y METODOS

De acuerdo con APHA-AWWA-WPFC (1989), los métodos para pruebas de toxicidad conciernen todos los aspectos del experimento que afectan la calidad de los datos obtenidos. Esto comprende el muestreo y manejo de los organismos, así como el origen y condición de los mismos y los procedimientos de prueba. De aquí la importancia de realizar los experimentos con base en estrategias y metodologías previamente probadas.

Por esto, los experimentos se llevaron a cabo con base en trabajos encontrados en la literatura tales como los de Chen *et al.* (1990a) y Chen *et al.* (1990b) Dichos experimentos se efectuaron en dos etapas, de enero a julio de 1993.

Para una mejor comprensión, los términos usados son:

- Amonio: Amonio inorgánico total (forma ionizada + forma no ionizada).  
 $\text{NH}_3$ : Amonio en la forma no ionizada.  
 $\text{NH}_4^+$ : Amonio en la forma ionizada.  
N-Amonio: Amonio inorgánico total como nitrógeno.  
N- $\text{NH}_3$ : Amonio no ionizado como nitrógeno.  
N- $\text{NH}_4^+$ : Amonio ionizado como nitrógeno.  
LC50: Concentración de una sustancia tóxica que mata al 50% de una población expuesta a dicha sustancia en un tiempo dado.

### 5.1.- JUVENILES.

A) Los organismos fueron obtenidos en una granja camarónica (la salinidad al momento de la captura fue de 40-45 ‰), cuidando que éstos no sufrieran daños durante la captura y transportación a las instalaciones experimentales (acuario de la Estación Mazatlán del ICMyL-UNAM). Ahí, los organismos fueron colocados en tinas grandes de plástico y se procedió a aclimatarlos, reduciendo la salinidad a razón de 2 ‰ por hora (Boyd, 1989). Una vez obtenida la salinidad del agua de mar (35 ‰), se transfirieron a tanques de 1000 l, previamente lavados con agua potable y desinfectados con hipoclorito (cloro comercial). En dichos tanques, los organismos se mantuvieron durante 7 días para su aclimatación y recuperación del estrés ocasionado durante la captura y traslado. Para evitar la acumulación de productos metabólicos y la descomposición del alimento no consumido, se realizó un recambio de agua (90%, aproximadamente) diariamente. Los organismos fueron observados regularmente para determinar el nivel de estrés, comportamientos extraños y/o falta de apetito.

De acuerdo con Buikema *et al.* (1982), los organismos deben de cumplir con algunas especificaciones para este tipo de pruebas: (a) el organismo es representante de un importante grupo ecológico y ocupa una posición conocida dentro de la cadena alimentaria, (b) está ampliamente disponible, y; (c) existen suficientes datos sobre la biología del organismo. Rodríguez (1981), quien estudió la regulación osmótica de *P. vannamei*, encontró que esta especie se adapta bien a bajas salinidades, pero no se adapta

bien en condiciones hipersalinas. Lee y Lawrence (1982) y Lee *et al.* (1984), encontraron la presencia de varias enzimas digestivas (proteasas) en *P. vannamei* siendo estas la tripsina, carboxipeptidasa, aminopeptidasa, lipasa y amilasa. Smith *et al.* (1985) encontraron que dado los hábitos alimenticios de *P. vannamei* y como las proteínas es el componente principal de su dieta natural, el alimento debe de tener del 23 al 41% de proteína. Kitani (1986), encontró que los huevos de *P. vannamei* a 29.5 °C tardaban 0.52 días en desarrollarse completamente, mientras que los nauplios 1.03 días a la misma temperatura. Además, *P. vannamei* se distribuye ampliamente desde el Golfo de California hasta Sudamerica, y su distribución depende de la existencia de aguas salobres (Kitani, 1986).

B) Los organismos con talla y peso similar (medidos con una balanza digital, con precisión de 0.01 g) se colocaron, por triplicado, en los tanques de prueba y controles (30 l), previamente lavados y desinfectados con hipoclorito. Se colocó una densidad de organismos similar a la de la población de la granja "La Clementina" (20 organismos/m<sup>2</sup>) y allí se aclimataron por 3 días de acuerdo con las normas de APHA-AWWA-WPCF (1989). Esta actividad se llevó con el mínimo de manejo para no dañar a los organismos. A cada tanque de prueba y de control se les cambió el agua diariamente y se mantuvo una aeración constante.

Los controles forman una parte importante en cada bioensayo, ya que permiten determinar si la muerte de los organismos es a causa del tóxico o por algún otro parámetro. Por otro lado la sobrevivencia en los controles tiene que ser superior al 90% para que el experimento sea considerado aceptable (APHA-AWWA-WPCF, 1989).

C) A continuación se iniciaron los experimentos para establecer los límites de tolerancia. Las soluciones de amonio fueron renovadas diariamente de acuerdo con el método estático para pruebas de toxicidad (Builkema *et al.*, 1982). Las concentraciones de prueba que se utilizaron fueron similares a las usadas con otras especies de peneidos por Chen *et al.* (1990a, 1990b): 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 100 mg N-Amonio/l utilizando cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) para preparar las soluciones. Durante el periodo de prueba los organismos se alimentaron 2 veces al día de la misma forma que cuando se aclimataron. De acuerdo con Drummond y Dawson (1970), se implementaron fotoperiodos similares a las condiciones naturales.

D) Las observaciones se llevaron a cabo cada 12 h durante las 120 h que duró el experimento. Se asumió que un organismo había muerto cuando estuvo inmóvil y no reaccionaba al tocarle con una vara de vidrio. Cada 12 h se midieron los siguientes parámetros *in situ*: pH, temperatura del agua y concentración de  $\text{O}_2$  disuelto, utilizando un potenciómetro, termómetro y oxímetro respectivamente; asimismo, cada 12 h la

concentración de  $\text{NH}_4^+$  en cada tanque fue medido por el método descrito por Solórzano (1969).

Estos procedimientos se llevaron en las series de bioensayos utilizando organismos de 1.0 g y de 3.8 g.

#### 5.2.- POSTLARVAS (PL12).

A) Postlarvas del estadio 9 (PL9) se obtuvieron en el acuario de la Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Se trasladaron al acuario del ICML-UNAM con el manejo mínimo indispensable para que el estrés de los organismos fuera mínimo. En el laboratorio los especímenes se colocaron en una tina de 50 l y se aclimataron allí por 2 días. De acuerdo con Franson (1980), las postlarvas fueron alimentadas con nauplios de *Artemia* sp, los cuales no fueron alimentados.

B) De acuerdo con el método descrito por Chin y Chen (1987) y Chen y Chin (1989), las postlarvas se colocaron en recipientes pequeños (matraces erlenmeyer de 500 ml), colocando 10 postlarvas por matraz, y allí se aclimataron durante 1 día. Los matraces fueron aerados constantemente, con recambios de agua cada 24 h de acuerdo al método estático para pruebas de toxicidad de Buikema *et al.* (1982).

C) Posteriormente se inició el experimento tóxico, con duración de 96 h, para establecer los límites de tolerancia en postlarvas en estadio 12 (PL12) cuyo peso medio fue de

9.25± 4 mg, este experimento fue muy similar a los anteriores, sólo que en este caso, además de las concentraciones de amonio usadas en juveniles, se utilizaron también concentraciones menores de 5, 10 y 15 mg N-Amonio/l. Nuevamente se utilizó cloruro de amonio para la preparación de las soluciones de amonio. Durante el experimento los organismos se alimentaron con nauplios de *Artemia* sp.

D) Se midieron cada 12 h los mismos parámetros con los experimentos realizados con los juveniles. Se hicieron también observaciones directas, utilizando el criterio usado en los juveniles para determinar si la postlarva estaba muerta o no.

Dado que las postlarvas son más sensibles a enfermedades que los juveniles, el agua prefiltrada utilizada durante este experimento, fue tratada mediante un filtro de radiación ultravioleta (UV) para finalmente esterilizarla con un autoclave durante un periodo de 20-25 min.

El agua de mar utilizada en estos experimentos (postlarvas y juveniles) fue bombeada a través de un filtro de arena y grava. Para conocer su composición química, lo que a su vez permite concluir que la mortalidad que se presente en los bioensayos se debe exclusivamente al amonio y no a otras sustancias tóxicas en ella, se procedió a caracterizar el agua. La caracterización de la misma fue obtenida de la siguiente manera: salinidad mediante un refractómetro; pH mediante un potenciómetro; alcalinidad por medio del cambio de pH (Cullberson *et al.*, 1969); amonio por



colorimetría (Solórzano, 1969); demanda bioquímica de oxígeno por incubación de las muestras a 48 y 120 h (Strickland y Parsons, 1972); nitritos, nitratos y fosfatos por colorimetría (Strickland y Parsons, 1972); y los metales pesados Ag, Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn por espectrofotometría de absorción atómica. Los metales fueron determinados tanto en la fracción disuelta como en la particulada, las cuales fueron diferenciadas a partir de la filtración directa de 10 l de agua en membranas de nitrocelulosa Millipore tipo HA de 0.45  $\mu\text{m}$  de abertura de poro (Osuna-López *et al.*, 1989).

Para la determinación de los metales pesados en la fracción disuelta, estos fueron preconcentrados al hacer fluir la muestra (2-5 ml/min, regulada con una bomba peristáltica) por una columna de vidrio empacada con una resina que tiene la propiedad de intercambio catiónico (chelex-100), y una vez que toda la muestra fluyó por la resina, esta fue eluida con  $\text{HNO}_3$  2M (Bruland *et al.*, 1979). Posteriormente el eluato fue llevado a sequedad (110°C) y los metales puestos en dilución con  $\text{HNO}_3$  2M para su posterior cuantificación.

Con respecto a la fracción particulada, los filtros fueron digeridos con agua regia invertida ( $\text{HNO}_3:\text{HCl}$ , 3:1) en bombas de teflón a  $120 \pm 10^\circ\text{C}$ . Después de esto, fueron llevados a sequedad y aforados con  $\text{HNO}_3$  2M para su cuantificación (Osuna-López *et al.*, 1989).

La proporción de  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  fue calculada de acuerdo con las ecuaciones y constantes de equilibrio dadas por Bower y Bidwell (1978) considerando los valores de salinidad, temperatura y pH, en cada caso:

$$K_b = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_3\text{OH}]} = 4.47 \times 10^{-10}$$

a 25°C, 32-36 ‰ y una atmósfera de presión.

$$\alpha_{\text{NH}_3} = \frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_3\text{OH}] + [\text{NH}_4^+]} = \frac{K_b}{[\text{OH}^-] + K_b}$$

$$\alpha_{\text{NH}_3\text{OH}} = \frac{[\text{NH}_3\text{OH}]}{[\text{NH}_3\text{OH}] + [\text{NH}_4^+]} = \frac{[\text{OH}^-]}{[\text{OH}^-] + K_b}$$

El cálculo de la LC50 fue estimado por análisis Probit (Rand, 1980; APHA-AWWA-WPCF, 1989). De acuerdo con Rand (1980), este procedimiento incluye graficar los datos sobre un papel logarítmico-probabilidad. Para construir la gráfica, las concentraciones forman la escala horizontal logarítmica y el porcentaje de mortalidad la escala vertical de probabilidad o escala Probit. Una línea de ajuste óptima es obtenida a simple vista y la concentración que causa el 50% de mortalidad (LC50) para un tiempo de exposición específico es obtenido de dicha línea de ajuste. Dichos resultados fueron corroborados mediante un programa estadístico de computadora basado en las ecuaciones propuestas por Hubert (1980) para obtener la LC50, así como también los límites de confianza al 95%. La diferencia entre un método y otro no excedió al 11.61%.

Para convertir los datos de mortalidad (curva tipo sigmoideal) a mortalidad probit (representación de línea recta), es necesario tener en cuenta las siguientes consideraciones (Huber, 1980):

El área bajo la curva normal está representada por:

$$Z = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

Donde:

Z = variable de la curva normal estándar

X = Log (100 \* concentración).

$\mu$  = media poblacional.

$\sigma$  = desviación estándar.

La mortalidad probit (Y) es:  $Y = Z + 5$

Entonces, por ejemplo, si P (el porcentaje correspondiente del área bajo la curva) = 0.16, entonces Y = 4; o si P = 0.5, Y = 5.

Por lo tanto:

$$Y = \frac{X - \mu}{\sigma} + 5 = a + bX$$

El cálculo de la LC50, fue llevado a cabo de la siguiente manera (tabla anexa) (Hubert, 1980):

X	n	Y	w	nw	nwX	nwX <sup>2</sup>
1.00	47	4.05	.4552	21.39	21.39	21.39
1.18	53	4.37	.5503	29.17	34.41	40.61
1.30	55	4.84	.6307	34.69	45.09	58.62
1.48	52	5.29	.6174	32.04	47.41	70.17
1.70	46	5.94	.4585	21.09	35.85	60.95
1.85	54	6.45	.2854	15.41	28.51	52.74
1.98	52	6.78	.1853	9.635	19.07	37.77
				Σ 163.4	Σ 231.7	Σ 342.3

donde:

$$w = f^2/PQ; \quad \text{siendo } f = \left( \frac{1}{2\pi} \right) \left( e^{-\sqrt{Y-5}/2} \right)$$

n = número de organismos de prueba.

$$X_w = \frac{\sum nwX}{\sum nw}$$

$$SS_w(X) = \sum nwX^2 - [(\sum nwX)^2 / \sum nw]$$

$$Y_w = (\sum nwY) / (\sum nw)$$

$$SP_w(XY) = \sum nwXY - [(\sum nwX)(\sum nwY) / (\sum nw)]$$

Por lo tanto, para calcular la línea Probit ( $Y = a_w + b_w X$ ):

$$b_w = SP_w(XY) / SS_w(X)$$

$$a_w = Y_w - b_w X_w$$

Y para el cálculo de LC50 ( $m_w$ ):

$$m_w = (5 - a_w)/b_w$$

Los límites de confianza al 95% son:

$$m_w \pm 1.96 (sm_w)$$

Donde:

$$SE(m_w) = sm_w = (1/b_w) \sqrt{(1 / \sum n w) + [(m_w - \lambda_w)^2 / S^2 w(\lambda_w)]}$$

Para establecer si dos LC50 son diferentes estadísticamente, una prueba estadística (z-Test) fue llevada a cabo (Hubert, 1980). Dos LC50 son significativamente diferentes al nivel de significancia del 5% si:

$$|z| \geq 1.96$$

Donde la prueba estadística es:

$$z = \frac{m_1 - m_2}{\{[SE(m_1)]^2 + [SE(m_2)]^2\}^{1/2}}$$

Donde  $m_i = \log(\text{LC50})$ , y SE es el error estándar para cada LC50.

Para establecer la diferencia entre más de dos LC50, una prueba de  $\chi^2$  fue llevada a cabo. Hay una diferencia significativa entre n LC50 si:

$$\chi^2 \geq \chi_{\alpha}^2$$

Donde la prueba estadística es:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n w_i [m_i - (\sum w_i m_i / \sum w_i)]^2$$

Donde  $w_i = 1/(\text{SE}(m_i))^2$  para  $y = 1, 2, \dots, n$ , y el valor crítico, al nivel del 5% de significancia, es:

$$\chi_{\alpha}^2 = \chi_{1-12.05}^2$$

## 6.- AREA DE ESTUDIO

Tanto el trabajo experimental como el de gabinete se llevó a cabo en las instalaciones del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Estación Mazatlán, UNAM.

Los organismos juveniles que se usaron en esta investigación se capturaron en la granja camaronicola " La clementina ". Esta granja se localiza en la región sur de Mazatlán, Sinaloa, México, sobre la planicie costera al margen del estero de Urias, entre los meridianos 106° 20' 00" y 106° 25' 35" al oeste del meridiano de Greenwich y entre los paralelos 23° 10' 36" y 23° 13' 00" de latitud norte, en la entrada del golfo de California (Osuna-López *et al.*, 1989).

Para la obtención de las postlarvas, los reproductores fueron capturados en las costas del sur de Sinaloa y norte de Nayarit, con barcos camaroneros adaptados especialmente para esta actividad. La producción de nauplios se hizo en el laboratorio Biotac, S.C., que se localiza en la playa llamada "Las Cabras", municipio de Escuinapa, en el sur del estado de Sinaloa. La maduración de reproductores fue llevada a cabo en tanques de maduración, colocando 80 reproductores (hembras:machos, 1:1) en cada uno. Todas las hembras fueron ablacionadas del pedúnculo ocular y tenían un peso aproximado de 50 g, mientras que los machos pesaban 45 g aproximadamente

(Lizárraga-Valdez, 1995). Los nauplios de *P. vannamei* obtenidos fueron transportados al acuario de la Facultad de Ciencias del Mar, UAS.

El acuario de la Estación Mazatlán, ICML-UNAM, cuenta con un área de 49.3 m<sup>2</sup>, 2 tanques de maduración de 7,000 m<sup>3</sup> cada uno, así como dos tanques de crecimiento de 2,000 m<sup>3</sup> cada uno. Así mismo, posee suministro constante de agua dulce, agua de mar y de aire "soplado".

## 7.- RESULTADOS

La tabla 1 muestra los resultados de la caracterización del agua utilizada en los experimentos. En ésta llama la atención la relativamente alta concentración de Cd (7.1 µg/l) (con respecto a otros valores reportados por otros autores: e. g. Osuna-López *et al.*, 1989) encontrada en el material particulado. Otro elemento que también presentó concentraciones relativamente alta fue el Al, tanto disuelto como en el particulado, con valores de 4.1 y 3.0 µg/l, respectivamente. Las concentraciones determinadas del resto de los metales no presentaron concentraciones superiores a las recomendadas para pruebas de toxicidad (APHA-AWWA-WPCF, 1989)

La tabla 2 señala el porcentaje de sobrevivencia para postlarvas (PL12) durante la exposición al N-Amonio. En la figura 1 se observa que en la solución de 5 mg/l N-Amonio no se presentó mortalidad durante las 96 h que duró el experimento. En cambio, en la solución de 10 mg/l, a partir de las 5 h de exposición al tóxico se presentó una mortalidad del 3.3%, sin observarse un incremento de mortalidad durante todo el experimento. Para la solución de 15 mg/l, la mortalidad fue incrementándose a lo largo de las 96 h, presentando una mortalidad final de 97.0%. Estas tres concentraciones (5, 10 y 15 mg/l) fueron las únicas donde no ocurrió un 100% de mortalidad. Para las soluciones de 20 y 30 mg/l N-Amonio, el 100% de mortalidad ocurrió a las 37 y 23 h, respectivamente. En esta última concentración, a las 2 h de haber iniciado el experimento, ya la mortalidad era del 10%.



En la figura 2 se observa el porcentaje de mortalidad en las soluciones de 40, 50, 60, 80 y 100 mg/l N-Amonio en las postlarvas (PL12). Para 40 y 50 mg/l de N-Amonio, la mortalidad fue del 100% a las 21 y 16 h, respectivamente. En las soluciones de 60, 80 y 100 mg/l N-Amonio, la mortalidad en las postlarvas se presentó desde el inicio del experimento, siendo la mortalidad de 12.8, 33.0 y 73.3% respectivamente; mientras que el 100% de mortalidad ocurrió a las 10, 4 y 4 h, respectivamente.

En la figura 3 y tabla 3 se muestra el porcentaje de sobrevivencia para los juveniles de 1.0 g. En este experimento no se presentó mortalidad para las soluciones de 20, 30, 40 y 50 mg/l N-Amonio en las 120 h que duró el experimento. A concentraciones mayores, si se presentó mortalidad, y en todas llegó a ser del 100% excepto en las soluciones de 70 y 60 mg/l N-Amonio. En esta última concentración, hasta las 84 h el porcentaje de mortalidad fue de 4.2%, y al final del experimento la mortalidad fue del 50%. Para las soluciones de 80 y 100 mg/l, hasta las 24 h se presentó mortalidad y no fue hasta las 96 y 60 h, respectivamente, cuando la mortalidad llegó al 100%.

Por otro lado, la figura 4 y la tabla 4 muestran los resultados para el experimento de los juveniles de 3.8 g. Estas muestran claramente que sólo en la concentración de 100 mg/l se tuvo una mortalidad del 100%, siendo esta a las 84 h. Para las concentraciones de 80 y 60 mg/l las mortalidades fueron de 75 y 16.7% a las 96 h, respectivamente. Las concentraciones de 40, 30 y 20 mg/l, los resultados no fueron los esperados, ya que a 20 y 30 mg/l se tuvo un porcentaje de

mortalidad (8.3%) mayor que para el de 40 mg/l (4.2%) a las 96 h. Por lo tanto, se decidió omitir los valores considerados no lógicos (la mortalidad que ocurrió en los acuarios de 20 y 30 mg/l N-Amonio), tomando como base los resultados del experimento de los juveniles de 10 g. Así la figura 5 y la tabla 5 muestran estos nuevos valores de mortalidad, y con dichos valores se calculó las LC50 para estos organismos.

Las LC50 por N-Amonio y N-NH<sub>3</sub> para postlarvas (PL12), se muestra en la figura 6. Es muy notorio que las LC50 para N-Amonio son mucho mayores que los de N-NH<sub>3</sub>. Las LC50 para 24, 48, 72 y 96 h y sus respectivos límites de confianza al 95% (entre paréntesis) para N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> fueron de 18.3 (15.2, 22.1), 12.4 (11.1, 13.8), 12.1 (10.8, 13.6) y 12.1 (10.9, 13.6) mg/l, respectivamente; mientras que para las LC50 de N-NH<sub>3</sub> fueron de 0.74, 0.49, 0.48 y 0.48, respectivamente. Durante este experimento los valores medios de pH, salinidad y temperatura fueron de 7.92, 34 ‰ y 28°C, respectivamente, por lo que la proporción NH<sub>3</sub> con respecto al amonio total (tabla 6) fue de 4.02%.

En la figura 7 se presentan las LC50 para N-Amonio y N-NH<sub>3</sub> en juveniles de 10 g. Las LC50 para N-Amonio a 24, 48, 72 y 96 h con sus respectivos límites de confianza al 95%, fueron de 120.1 (67.5, 213.6), 92.4 (80.6, 105.8), 69.2 (62.3, 76.8) y 64.3 (60.7, 68.1) mg/l, respectivamente. Para N-NH<sub>3</sub>, fueron mucho menores: 5.54, 4.26, 3.19 y 2.96 mg/l, respectivamente. El pH, salinidad y temperatura medios para este experimento fueron de 8.08, 34 ‰ y 26°C, respectivamente, y la proporción NH<sub>3</sub> /NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (tabla 7) fue de 4.62%.

Para los juveniles de 3.8 g las LC50 de N-Amonio y N-NH<sub>3</sub> se muestran en la figura 8. En ésta, las LC50 para N-Amonio a 48, 72 y 96 h y sus correspondientes limites de confianza al 95%, fueron de 111.2 (82.7, 149.7), 84.5 (76.1, 93.9) y 70.2 (61.8, 79.8) mg/l, respectivamente, mientras que para N-NH<sub>3</sub> las LC50 fueron de 2.1, 1.6 y 1.3, respectivamente. Los valores medios de pH, salinidad y temperatura fueron de 7.7, 34 ‰ y 23°C, por lo que la proporción NH<sub>3</sub> /NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (tabla 8) fue de 1.89%.

La comparación de LC50 por N-Amonio en diferentes estadios se muestra en la figura 9. Las LC50 son mayores en los juveniles de 3.8 g que en los de 1.0 g, y en estos últimos las LC50 fueron mayores que las de las postlarvas (PL12).

Por otro lado, las comparaciones de las LC50 en relación al N-NH<sub>3</sub> para diferentes estadios, se presentan en la figura 10. En ésta las LC50 son mayores en los juveniles de 1.0 g que en los juveniles de 3.8 g, y a su vez, en estos últimos las LC50 fueron mayores que en las postlarvas (PL12).

Las figuras 11, 12 y 13 muestran el comportamiento de la relación entre la concentración de N-Amonio y la mortalidad probit para postlarvas (PL12), juveniles de 1.0 y 3.8 g, respectivamente. En éstas, la mortalidad probit muestra una clara tendencia a incrementarse conforme aumenta la concentración de amonio. Además, en las mismas figuras aparecen las ecuaciones que rigen la

relación mortalidad probit-concentración, apreciándose, por lo general, que a una misma concentración la mortalidad probit se incrementa conforme aumenta el tiempo de exposición.

Con respecto al efecto que tuvo el amonio sobre los organismos, es importante aclarar que desde el momento en que se les agregó la solución de amonio a las postlarvas, en las concentraciones de 40, 50, 60, 70, 80 y 100 mg/l, los organismos lo resintieron, notándose por su nado desordenado, no así en las bajas concentraciones (5, 10, 15 y 20 mg/l y control), donde los organismos se comportaron de una manera aparentemente normal.

Algo similar ocurrió con respecto al alimento (Tabla 9), ya que a bajas concentraciones se notó claramente un consumo considerable de *Artemia* a las 24 h de exposición, y conforme se incrementaba la concentración, el consumo de *Artemia* disminuía. Además, la misma tabla muestra que a 96 h de exposición al N-Amonio, las postlarvas, sobre todo las de 10 mg/l, consumieron todo el alimento que se les proporcionó (4 org/ml).

La tabla 10 muestra los pesos medios iniciales y finales así como el peso ganado por los juveniles de 1.0 g durante el experimento. En dicha tabla es bastante notable que a bajas y nulas concentraciones de N-Amonio (20 mg/l y control), el peso ganado (0.17 y 0.18 g, respectivamente) fue mayor que en las altas concentraciones (60, 70, 80 y 100 mg/l), donde el peso ganado llegó a ser nulo o casi nulo (<0.05 g).

Con respecto a los organismos de 3.8 g (tabla 11), estos presentaron un comportamiento muy similar al de los organismos de 1.0 g, solo que en los primeros, la diferencia entre el peso ganado por los organismos del control (0.33 g) y los de baja concentración (0.10 y 0.15 g) fue más notable. Además durante la exposición a altas concentraciones de N-Amónico (80 y 100 mg/l) los organismos presentaron una aparentemente disminución de peso corporal (hasta 3.4% de su peso inicial).

La tabla 12 muestra los resultados del análisis estadístico entre las LC50-96 h de cada experimento. En dicha tabla se puede apreciar que la LC50-96 h de las postlarvas (PL12) presentó una diferencia estadísticamente significativa al nivel del 5% ( $P = 0.05$ ) con respecto a las LC50-96 h obtenidas en los bioensayos de los juveniles de 1.0 y 3.8 g. Sin embargo, al comparar las LC50-96 h entre los juveniles de 1.0 y 3.8 g la diferencia no fue estadísticamente significativa ( $P = 0.05$ ).

## 8.- DISCUSION

En la tabla 1 resaltan las concentraciones relativamente altas de Al, Cd, Cu y Fe en la fracción particulada, siendo estos de 3, 7.1, 5.3 y 20.2  $\mu\text{g/l}$ , respectivamente. APHA-AWWA-WPCF (1989) sugiere que en el agua utilizada en bioensayos, las concentraciones de metales pesados no deben rebasar 0.1  $\mu\text{g/l}$  de Cd, Ag y Hg, mientras que para Fe recomiendan una concentración < 1  $\mu\text{g/l}$ . Chen *et al.*(1990a) caracterizaron el agua utilizada en sus bioensayos y determinaron un nivel de concentración de Fe de 3.2  $\mu\text{g/l}$ . Desafortunadamente ellos no especificaron si esta concentración pertenecía a la fracción particulada o disuelta; tampoco determinaron las concentraciones de Cd, Cu y Al. Osuna-López *et al.*(1989) determinaron la concentración de algunos metales pesados (fracción disuelta y particulada) en el agua del puerto de Mazatlán Sinaloa, México, donde los niveles de concentración del Cd, Cu y Fe en el material particulado fueron de 0.09, 1.46 y 1.02  $\mu\text{g/l}$ , respectivamente. Los altos valores en la concentración de metales en el agua utilizada en los bioensayos del presente estudio, con respecto a los niveles de concentración de metales en el agua del puerto de Mazatlán, se debe probablemente a que adjunto a la zona de donde se abastece el agua para el acuario se encuentra una planta de tratamiento de aguas residuales municipales, la cual descarga directamente a la zona costera aguas que generalmente contienen altas concentraciones de metales pesados. Bahner y Nimmo (1976), en un bioensayo con *Penaeus duorarum* Burkenroad, determinaron una LC50-96 h para Cd de 4.6  $\text{mg/l}$ . Burton y Fisher (1990) encontraron una LC50-48 h para Cd de 1-3  $\text{mg/l}$  en

*Palaemonetes pugio* Holthuis. Con base en lo anterior y en los resultados obtenidos a partir de los controles, se infiere que el Cd no provocó mortandad en los presentes bioensayos.

Con respecto a las postlarvas (PL12) en el presente estudio, las LC50 de N-Amónio para 24, 48, 72 y 96 h fueron 19, 17.2, 15 y 15 mg/l, respectivamente; mientras que para N-NH<sub>3</sub> las LC50 fueron de 0.76, 0.69, 0.6 y 0.6, respectivamente. Chin y Chen (1987) quienes trabajaron postlarvas (PL6) de *Penaeus monodon*, y empleando agua de mar con un pH y temperatura de 8.2 y 29.5°C, respectivamente, obtuvieron una LC50 de N-Amónio de 52.11, 27.73, 17.05 y 11.51 mg/l, respectivamente; mientras que para N-NH<sub>3</sub> fueron de 4.7, 2.5, 1.54 y 1.04 mg/l, respectivamente. Es bastante notorio que las postlarvas de *Penaeus vannamei* presentaron una menor tolerancia, tanto a la forma ionizada como a la forma no ionizada, que las postlarvas de *Penaeus monodon*.

Jayasankar y Muthu (1983) trabajaron con diferentes estadios larvarios de *Penaeus indicus* y obtuvieron unas LC50-24 h para nauplio, protozoa y mysis, siendo estas de 3.58, 17.86 y 46.01 mg N-Amónio/l, respectivamente. Aunque estos autores no trabajaron con postlarvas, es bastante claro que aún en el estadio mysis, *P. indicus* es más tolerante al N-Amónio que las postlarvas de *P. vannamei*.

Catedral *et al.* (1977) establecieron que las postlarvas de *P. monodon* podrian tolerar concentraciones de amonio arriba de 10 mg/l, pero no indicaron si el amonio usado fue en la

forma de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , amonio, N-Amonio o  $\text{NH}_3$ . En un experimento con larvas de *Macrobrachium rosenbergii* De Man, Armstrong *et al.* (1978) obtuvieron una LC50-24 h de 200, 115 y 37 mg de Amonio/l, a un pH de 6.83, 7.6 y 8.34, respectivamente, lo que en N-Amonio equivale a 155.5, 89.4 y 28.8 mg N-Amonio/l respectivamente, manteniendo constante la temperatura (28 °C) y la salinidad (12 ‰). En ese mismo trabajo, los autores presentaron una LC50-96 h para crustáceos expuestos a N- $\text{NH}_3$  de 0.40 a 2.31 mg/l, pero no especificaron las especies ni el estadio en que se encontraban.

Varias vías han sido descritas para estimar concentraciones de seguridad de un contaminante, las cuales generalmente son valores inferiores a la concentración letal (Sprague, 1971). Tarzwell (1962) comentó que el objetivo de la investigación sobre efectos letales y subletales podría ser para predecir niveles de concentración del contaminante que son seguros bajo condiciones continuas de exposición. Sprague (1971) estableció que el nivel de seguridad, es la concentración del contaminante a la cual no se tiene un efecto adverso subletal o crónico sobre los organismos.

Este nivel de seguridad puede ser obtenido multiplicando un factor de aplicación por el valor de la LC50-96 h (Sprague, 1971). En este estudio, el nivel de seguridad de N-Amonio para las postlarvas fue calculado del valor de la LC50-96 h y utilizando un factor de aplicación de 0.1 (Sprague, 1971). De aquí, se obtuvo un nivel de seguridad de 1.21 mg/l de N-Amonio para valores de pH, salinidad y temperatura de 7.92, 34 ‰ y 28°C, respectivamente, para el cultivo de postlarvas de *Penaeus vannamei*. En base al mismo factor de aplicación, Chen y Chin (1987) y



Jayasankar y Muthu (1983), calcularon un nivel de seguridad de 1.15 (*P. monodon*) y 1.20 (*P. indicus*) mg/l de N-Amonio, respectivamente.

En el presente estudio, la tabla 6 muestra la proporción de  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  durante el tiempo en que las postlarvas estuvieron sometidas al experimento. En la tabla 2, se muestra que a 100 y 80 mg/l de N-Amonio hay una mortalidad total a las 4 h de haber iniciado el experimento; aparentemente, el N- $\text{NH}_3$  podría influir en la mortalidad de postlarvas, ya que las mayores concentraciones de este ( $\text{NH}_3$ ) se registraron en las pruebas de 80 y 100 mg/l, lo que podría explicar la rapidez en que se alcanzó el 100% de mortalidad en tales casos. Fromm y Guillette (1968) concluyeron que el  $\text{NH}_3$  es más tóxico que el  $\text{NH}_4^+$ , debido a la facilidad de transferirse por difusión rápidamente a través de la membrana celular. Chen y Chin (1989), en un experimento con postlarvas, encontraron que a una misma concentración de N-Amonio, el  $\text{LT}_{50}$  (tiempo en que muere el 50% de la población expuesta a un tóxico)(N-Amonio) disminuye notablemente al incrementarse el pH de la solución. Armstrong *et al.*(1978), trabajando con postlarvas de *Macrobrachium rosenbergii*, encontraron que la  $\text{LC}_{50}$ -24 h de amonio disminuyó con el incremento del pH, concluyendo que la toxicidad del amonio incrementa conforme aumenta la proporción de  $\text{NH}_3$  en cualquier solución.

Chen y Chin (1989), en un experimento con postlarvas de *Penaeus monodon*, determinaron que en un medio con 22 ‰ de salinidad y pH de 9.1, la mitad de la población puede morir en menos de 13 h a una concentración de 0.07 mg/l amonio-N, (0.069 mg/l N- $\text{NH}_3$ ) lo que implica que a

mayor concentración de amonio aumenta la toxicidad por  $\text{NH}_3$ . Guerrero-Galván (1993) encontró que, en el sur de Sinaloa, la concentración máxima de amonio en los estanques de tipo semi-intensivo ocurre en la madrugada; sin embargo, la fracción de  $\text{NH}_3$  es muy pequeña, ya que el pH del medio favorece, afortunadamente, la presencia de  $\text{NH}_4^+$ .

Bjerregaard (1990) sugirió que posiblemente el estado fisiológico de los organismos influye considerablemente sobre las tasas de asimilación o acumulación de diferentes metales y de otros componentes del medio. Es muy importante considerar el efecto que puede tener la muda sobre la mortalidad de postlarvas expuestas a bajas concentraciones de amonio. En la tabla 2 se nota como en la concentración de 5 mg/l de N-Amonio no ocurrió mortalidad durante las 96 h, no así en la de 10 mg/l de N-Amonio, donde las únicas postlarvas que murieron fueron a las 5 h y estas estaban en la fase ecdysis. En las concentraciones de 15 y 20 mg/l, los organismos que murieron durante las primeras horas de exposición al tóxico (19 y 15 h, respectivamente) fueron solamente los que se encontraban en la fase ecdysis. Este fenómeno no ocurrió en las concentraciones superiores. Dall *et al.* (1990) encontraron que inmediatamente después de que el camarón se ha desprendido de su exoesqueleto, empieza a absorber agua de su entorno para incrementar el volumen de su cuerpo, ya que la cantidad de agua absorbida va a incrementar el tamaño del cuerpo hasta la próxima muda, por lo tanto, es muy probable que en las postlarvas se incrementó la concentración de N-Amonio en su cuerpo hasta niveles que les provocó la muerte. Chen y Kou (1993) en un experimento con *Penaeus monodon* encontraron que la acumulación de amonio en la hemolinfa de los camarones depende de las concentraciones de  $\text{NH}_3$  y  $\text{NH}_4^+$ . Chen y Lin

Amonio del ambiente excedió 10 mg/l; esto sugiere que cuando el camarón fue expuesto a más de 10 mg/l de N-Amonio la difusión de  $\text{NH}_3$  de la hemolinfa al agua fue reemplazada por la difusión de  $\text{NH}_3$  del agua a la hemolinfa y una vez que el organismo acumuló arriba de 20 mg/l de N-Amonio en la hemolinfa, murió (Chen y Kou, 1993). La toxicidad podría incluir una elevación del pH sanguíneo y un decremento en el sustrato para el ciclo del ácido tricarbólico, ya que el exceso de amonio invierte la oxidación normal de glutamato (Campbell, 1973)

Zanders y Rojas (1992), en un experimento con *Elasmopus rapax*, un pequeño crustáceo anfípodo de la costa de Venezuela, encontraron que la captura de Cd mejoraba durante la ecdysis, a tal grado que alcanzaba niveles dañinos en menor tiempo que los organismos en el estado intermuda, debido a que el  $\text{Cd}^{++}$  compete con el  $\text{Ca}^{++}$  para asociarse a diversos sitios de unión, dañándose la pared celular de tejidos de órganos importantes como el hepatopáncreas (Viarengo, 1990).

Por otro lado, la interacción entre el amonio y el nitrito, dos de los tóxicos más comunes en acuicultura, ha sido investigada por Chen y Chin (1988) quienes en un experimento con postlarvas de *P. monodon* concluyeron que una combinación de amonio y nitrito resulta más tóxica, ya que las  $\text{LC}_{50}$  fueron menores cuando se combinaron estas sustancias, que cuando se experimentó con ellos por separado. La tabla 1 muestra los valores de N-Amonio y N-Nitrito del agua utilizada en los bioensayos, los cuales son más bajos que los considerados como tóxicos para postlarvas (PL6) de *P. monodon* (Chen *et al.*, 1986).

agua utilizada en los bioensayos, los cuales son más bajos que los considerados como tóxicos para postlarvas (PL6) de *P. monodon* (Chen *et al.*, 1986).

En lo referente a juveniles de 1.0 g de peso, las LC50 por N-Amonio determinados en este estudio a 24, 48, 72 y 96 h fueron 125, 95, 65 y 58 mg/l de N-Amonio, respectivamente; mientras que para los juveniles de 3.8 g las LC50 a 48, 72 y 96 h fueron 102, 73 y 61 mg/l de N-Amonio, respectivamente. Chen *et al.* (1990a) en un experimento con juveniles de *Penaeus chinensis* (3.96 ± 0.18 cm; 0.36 ± 0.06 g) encontraron LC50 para 24, 48, 96 y 120 h de 79.97, 51.14, 37.0 y 35.09 mg/l de N-Amonio, respectivamente. Huang (1979) encontró que la LC50-96 h de amonio para juveniles de *Penaeus monodon* (0.17 g) fue 100 mg/l de NH<sub>4</sub>Cl, el cual es equivalente a 26.67 mg/l de N-Amonio. Lai y Ting (1984) establecieron que las LC50 para 24, 48 y 72 h de amonio para juveniles de *Penaeus monodon* (0.07 a 0.19 g) fueron 61.05, 48.08 y 37.69 mg/l (15.99, 11.81 y 9.88 mg/l de N-Amonio), respectivamente. Chen *et al.* (1990b), por su parte encontraron que las LC50 a 24, 48 y 72 h para juveniles (4.9 ± 1.4 g) de *P. monodon* fueron 97.9, 88.0 y 66.6 mg/l de N-Amonio, respectivamente.

En lo que se refiere a N-NH<sub>3</sub> las LC50 para *P. vannamei* de 1.0 g a 24, 48, 72 y 96 h fueron de 5.77, 4.4, 3 y 2.68 mg/l, respectivamente; mientras que para los organismos de 3.8 g a 48, 72 y 96 h fueron de 1.92, 1.37 y 1.15 mg/l, respectivamente. Claramente, esto denota que las LC50 para NH<sub>3</sub> son mayores en los organismos de 1.0 g que en los de 3.8 g; esto se debe seguramente a que el pH durante los experimentos fue mayor en el de 1.0 g que en el de 3.8 g, lo que provocó que la proporción NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NH<sub>3</sub> fuera menor en el primer experimento que en el segundo.

Chen *et al.*(1990a) con juveniles de *P. chinensis* ( $0.36 \pm 0.06$  g) encontraron una LC50 para  $\text{NH}_3\text{-N}$  de 3.29, 2.1, 1.53 y 1.44 mg/l para 24, 48, 96 y 120 h, respectivamente. Lai y Ting (1984) con juveniles ( $0.07 - 0.19$  g) de *P. monodon* determinaron la LC50 para N-Amonio a 24, 48 y 72 h de 15.99, 11.81 y 9.88 mg/l N-Amonio; pero desafortunadamente no lo hicieron para N- $\text{NH}_3$ , ni señalaron el pH del agua que utilizaron en su estudio. Posteriormente Chen *et al.*(1990b) con juveniles ( $4.87 \pm 1.4$  g) de la especie anterior, determinaron una LC50 de  $\text{NH}_3\text{-N}$  para 24, 48 y 72 h siendo de 1.76, 1.59 y 1.2 mg/l, respectivamente, con un pH, salinidad y temperatura de 7.6, 20 ‰ y 24.5°C, respectivamente. Todos estos valores de la LC50 son similares a los encontrados en este estudio para *P. vannamei*.

Con respecto al nivel de seguridad, de acuerdo con Sprague (1971), para los organismos de 1.0 g fue de 5.8 y 0.26 mg/l para N-Amonio y N- $\text{NH}_3$ , respectivamente; mientras que para los organismos de 3.8 g fue de 6.1 y 0.11 mg/l para N-Amonio y N- $\text{NH}_3$ , respectivamente. A su vez, el nivel de seguridad para *P. chinensis* (Chen *et al.*, 1990a) es de 3.51 mg/l de N-Amonio y de 0.14 mg/l de N- $\text{NH}_3$ .

Por otro lado, en la figura 9 se muestra la comparación entre las LC50 de N-Amonio, donde a mayor edad la LC50 se incrementa, demostrando que los animales más jóvenes son a menudo más sensibles a tóxicos que los adultos, como ha sido previamente notado por diversos autores (e.g. Buikema *et al.* 1982). Chin y Chen (1987) en un experimento con los primeros estadios larvarios de *Penaeus monodon* encontraron que conforme la larva se desarrolla, esta va

presentando un incremento progresivo a tolerar niveles más elevados de N-Amónico y N-NH<sub>3</sub>. Posteriormente Chen y Lin (1992) con juveniles de *Penaeus chinensis* concluyeron que la tolerancia al amonio de camarones peneidos se incrementa con la edad.

En la figura 10 se muestran los valores de LC50 de N-NH<sub>3</sub> para los tres estadios examinados en *P. vannamei* en el presente estudio, en contraste con lo observado previamente por otros autores en otras especies de peneidos: las LC50 resultaron mayores para los juveniles de 1.0 g que para los de 3.8 g. Diversos autores han expresado que la forma no ionizada del amonio (NH<sub>3</sub>) es más tóxica (Armstrong *et al.*, 1978; Thurston *et al.*, 1981) debido a los factores previamente descritos. Sin embargo, Armstrong *et al.*(1978) trabajando con *Macrobrachium rosenbergii*, concluyeron que la toxicidad del amonio no corresponde sólo a la presencia de forma no-ionizada (NH<sub>3</sub>), ya que en soluciones a diferentes pH e iguales concentraciones de NH<sub>3</sub> la sobrevivencia fue reducida drásticamente conforme los niveles de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> se incrementaban.

En estanques de cultivo las concentraciones de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NH<sub>3</sub> y N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> tienden a incrementarse conforme aumenta el ciclo de cultivo, y la acumulación de estos constituye un peligro potencial para los organismos acuáticos en cultivo (Wickins, 1976). Chen *et al.* (1989) determinaron que dichas especies químicas (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NH<sub>3</sub> y N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) alcanzaron 6.5, 0.15 y 4.61 mg/l, respectivamente, durante los últimos 2 meses en un cultivo intensivo de *Penaeus monodon* con un reemplazo semanal de agua del 30%. Aunque estos valores son menores que las LC50 para juveniles de *P. monodon* (Chen *et al.*, 1990b), tanto el amonio como el nitrito

afectan el crecimiento de los peneidos (Wickins, 1976; Mevel y Chamroux, 1981). Guerrero-Galván (1993) quien determinó la calidad de agua de una granja camarónica del sur de Sinaloa, México, con recambios de agua bajos (3-8 % diario), determinó que la concentración de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NH}_3$  aumentaban a lo largo del ciclo de cultivo, determinando concentraciones hasta 1.1 mg/l de amonio equivalente a 0.85 mg/l de N-Amonio. Dicho valor es menor al nivel de seguridad obtenido para *P. vannamei* (5.8 y 6.1 mg/l de N-Amonio para juveniles de 1.0 y 3.8 g, respectivamente)

Es bien conocido que la toxicidad del amonio puede aumentar a bajas concentraciones de  $\text{O}_2$  disuelto (e.g. Maltby, 1995). En este estudio los valores medios de concentración de oxígeno disuelto para los experimentos de los juveniles de 3.8 y 1.0 g, y las postlarvas PL12 fueron de 5.2, 7.5 y 6.7 mg/l, respectivamente. Allan *et al.* (1990) encontraron que a una concentración de  $\text{N-NH}_3$  de 1.6 mg/l y valores de  $\text{O}_2$  disuelto de 2.3 mg/l *Penaeus monodon* tuvo una mortalidad del 90% en 96 h, mientras que en ese mismo tiempo y misma concentración de  $\text{N-NH}_3$ , pero con un nivel de  $\text{O}_2$  de 5.7 mg/l la mortalidad fue del 33%. Thurston *et al.* (1981) encontraron que bajas concentraciones de  $\text{O}_2$  disuelto incrementan la toxicidad de amonio en peces, y Lloyd (1961) atribuyó esto a un incremento en la captura de amonio como consecuencia de un incremento en la tasa de ventilación de las branquias para prevenir la hipoxia. Seidman y Lawrence (1985) encontraron que a un nivel de  $\text{O}_2$  disuelto de 2.2 mg/l o más, ni el crecimiento ni la sobrevivencia se ven afectados en *Penaeus monodon*, corroborando lo anterior. Sin embargo, Chen *et al.* (1991), trabajando con *Penaeus chinensis* encontraron que tanto el

embargo, Chen *et al.* (1991), trabajando con *Penaeus chinensis* encontraron que tanto el consumo de oxígeno como la excreción de amonio fue incrementada conforme el nivel de N-Amonio en el ambiente aumentaba en el intervalo de 0.015-5.529 mg/l. Ellos indicaron que un nivel de N-Amonio de 0.678 mg/l podría incrementar significativamente el consumo de oxígeno y la excreción de amonio en 20 h. Por lo tanto, en un sistema de cultivo intensivo, un pequeño incremento de amonio podría afectar la función fisiológica de los peneidos en el cultivo (Chen *et al.*, 1991). Maltby (1995) ha expresado que el amonio interfiere con la captura y transporte de oxígeno y por lo tanto coloca al organismo bajo estrés "óxico"

Por lo tanto, como bajos niveles de O<sub>2</sub> disuelto pueden ocurrir (a consecuencia de la descomposición orgánica), una interacción entre amonio y oxígeno disuelto podría ser importante para los acuacultores (Allan *et al.*, 1990).

Con respecto al efecto del amonio sobre la alimentación en las postlarvas de *P. vannamei* aquí estudiadas (tabla 9), se nota una clara tendencia por parte de los organismos a consumir menos alimento conforme aumenta la concentración de N-Amonio a la que están expuestos. En los crustáceos, el amonio es el principal producto nitrogenado de desecho (Regnault, 1983; Dall *et al.*, 1990). Conforme se incrementa el nivel de amonio en el agua, la excreción de amonio de la mayoría de los animales acuáticos decrece. Consecuentemente el nivel de amonio en sus tejidos aumenta. Este aumento puede tener serios efectos fisiológicos a nivel celular, de órganos y de sus sistemas (Colt y Armstrong, 1981). Al volverse difícil la excreción, la primera reacción del



organismo puede ser la de abstenerse de comer (reduciendo la formación de amonio metabólico) lo que repercute de forma negativa en la tasa de crecimiento (Colt y Armstrong, 1981).

También en la tabla 9, se puede observar que conforme aumenta el tiempo de exposición al tóxico, las postlarvas en 10 mg/l N-Amonio se van aclimatando y empiezan a consumir alimento. Chen y Nan (1993), en un experimento con juveniles de *Penaeus chinensis*, observaron que tanto el consumo de O<sub>2</sub> como la excreción de N-Amonio de los camarones previamente expuestos a 5 y 10 mg/l de N-Amonio durante el período de aclimatación, y posteriormente a diferentes concentraciones de N-Amonio, fueron significativamente más bajos que aquellos que no fueron previamente expuestos al N-Amonio. Redner y Stickney (1979) establecieron una LC50-48 h de N-NH<sub>3</sub> para *Tilapia aurea* de 2.40 mg/l, la cual no fue previamente expuesta al N-Amonio. Sin embargo, peces expuestos por 48 h a concentraciones de 3.4 mg/l de N-NH<sub>3</sub> no les causó mortalidad, después de que fueron previamente expuestos a 0.43 - 0.53 N-NH<sub>3</sub> por 35 días. Esto indica que la susceptibilidad al amonio decrece conforme el organismo es previamente expuesto a niveles subletales de amonio por tiempo prolongado (Chen y Nan, 1992). Lloyd y Orr (1969) concluyeron que *Salmo gairdneri* Richardson fue capaz de aclimatarse a niveles subletales de amonio cuando previamente la trucha fue expuesta al amonio por un período de 48 h.

### CONCLUSIONES

- 1.- Para las postlarvas (PL12) de *Penaeus vannamei*, las LC50 a 24, 48, 72 y 96 h para N-Amonio fueron de 18.3, 12.4, 12.1 y 12.1 mg/l, respectivamente.
- 2.- Para los juveniles de 1.0 g de *Penaeus vannamei*, las LC50 a 24, 48, 72 y 96 h para N-Amonio fueron de 120.1, 92.4, 69.2 y 64.2 mg/l, respectivamente.
- 3.- En lo que respecta a los juveniles de 3.8 g de *P. vannamei*, las LC50 a 48, 72 y 96 h para N-Amonio fueron de 111.2, 84.5 y 70.2 mg/l, respectivamente.
- 4.- Con respecto a las LC50 por N-NH<sub>3</sub> para las postlarvas de *P. vannamei* a 24, 48, 72 y 96 h, fueron de 0.74, 0.49, 0.48 y 0.48 mg/l, respectivamente.
- 5.- Las LC50 a 24, 48, 72 y 96 h para los juveniles de 1.0 g de *P. vannamei* fueron de 5.5, 4.3, 3.2 y 3.0 mg NH<sub>3</sub>/l, respectivamente.
- 6.- Para los juveniles de 3.8 g de *P. vannamei* las LC50 por N-NH<sub>3</sub> a 48, 72 y 96 h fueron de 2.1, 1.6 y 1.3 mg/l, respectivamente.
- 7.- Las LC50 por N-Amonio resultaron mayores en los juveniles de 3.8 g que en los de 1.0 g, y en estos últimos las LC50 fueron mayores que las de las postlarvas (PL12).
- 8.- Con respecto a la comparación de LC50 por N-NH<sub>3</sub> en las diferentes edades, las LC50 son mayores en los juveniles de 1.0 g que las de 3.8 g, y a su vez, en estos últimos las LC50 fueron mayores que en las postlarvas (PL12).
- 9.- Las LC50 obtenidas en este estudio, tanto para N-Amonio como para N-NH<sub>3</sub> en las diferentes edades de *P. vannamei*, fueron similares a las encontradas por otros autores en otras especies de penéidos.

- 10.- Los niveles de seguridad calculados para amonio en el cultivo de *P. caudatum* fueron de 1.21, 6.4 y 7.0 mg N-Amonio/l para postlarvas (PL12), y juveniles de 1.0 y 3.8 g, respectivamente.
- 11.- En las postlarvas (PL12) se pudo observar el efecto que tiene el estadio de la muda sobre la mortalidad de postlarvas expuestas a bajas concentraciones de amonio; fenómeno que no ocurrió en los juveniles de 1.0 y 3.8 g.
- 12.- Con respecto a la alimentación, fue bastante notorio que los organismos expuestos a altas concentraciones del tóxico consumieron menos alimento que los expuestas a bajas concentraciones, lo que repercutió consecuentemente en el peso ganado durante los bioensayos.

**10.- LITERATURA CITADA**

- Adiyodi, R.G. (1985). Reproduction and its control. En: "The Biology of Crustacea" (Bliss y Mantel, eds.), Vol. 9, Academic Press, New York: 147-215.
- Allan, G.F., Maguire, G.B. y Hopkins S.J. (1990) Acute and chronic of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. *Aquaculture* 91: 263-280.
- APHA-AWWA-WPCF (1989). American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th ed. Washington, DC.
- Armstrong, D.A., Chippendall D., Knight A.W. y Colt J.E. (1978). Interaction of ionized and unionized ammonia on short-term survival and growth of Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Cit. pos. Chen y Chin (1989). Effect of ammonia at different pH levels on *Penaeus monodon* postlarvae. *Asian Fisheries Science*, 2: 233-238.
- ASTM (1987). American Society for Testing and Materials. Standard practice for conducting bioconcentration test with fishes and saltwater bivalve molluscs. E-1022-84, *Annual Book of ASTM standard*, Vol 11.
- Bahner, L.H. y Nimmo D.R. (1976). Methods to assess effects of combinations of toxicants, salinity and temperature on estuarine animals. Presented at the 9th Annual conference on trace substances in environmental health. 10-12 June. Columbia, Mo.
- Barclay, M.C., Dall W. y Smith D.M. (1983). Changes in lipid and protein during starvation and the moulting cycle in the tiger prawn, *Penaeus esculentus* Haswell. Cit. pos. Dall et al.,

- (1990) "The Biology of the Penaeidae" (Blaxter y Southward eds.), Vol 27, Academic Press, London: 159-211.
- Barnes, R.D. (1977). Zoología de los invertebrados. Ed. Interamericana, México: 363-397.
- Bartholomew, G.A. (1964). The roles of physiology and behavior in the maintenance of homeostasis in the desert environment. Cit. pos. Sprague (1971). Measurement of pollutant toxicity to fish III. Water Research Press, Vol. 5: 245-266.
- Bjerregaard, P. (1990) Influence of physiological condition on cadmium transport from haemolymph to hepatopancreas in *Carcinus maenas*. Marine Biology, 106: 199-209.
- Boivin, A. (1929). Contribution à l'étude des corps puriques du "sang" des Crustacés Décapodes. Cit. pos. Pary (1960) Excretion. "The Physiology of Crustacea" (Waterman, ed ). Vol. 1, Academic Press, New York: 341-366.
- Bower, C.E. y Bidwell J.P. (1978). Ionization of Ammonia in Seawater: Effects of Temperature, pH and Salinity. Journal Fisheries Research Board of Canada, Vol. 35: 1012-1016.
- Bowman, T. E. y Abele L. G. (1983). Classification of the Recent Crustacea. En "The Biology of Crustacea" (Bliss y Mantel, eds.) Vol. 1, Academic Press, New York: 1-27.
- Boyd, C.E. (1989). Water quality management and aeration in shrimp farming. Fisheries and allied aquacultures departamental series. No. 2. University of Alabama: 83 pp.
- Bruland, K.W., Franks R.P., Knauer G.A. y Martin J.H. (1979) Sampling and analytical methods for the determination of copper, cadmium, zinc and nickel at the nanogram per liter level in sea water. Analytica Chimica Acta, 105: 233-245.

- Baukema, A.L., Niederlehner B.R. y Cairns J. Jr. (1982). Biological Monitoring. Part IV - Toxicity testing. *Water Research*, Vol. 16: 239-262.
- Burton, D.I. y Fisher D.J. (1990). Acute toxicity of Cd, Cu, Zn, Ammonia, 3,3'-Dichlorobenzidine, 2,6-Dichloro-4-nitroamine, Methylene chloro, and 2,4,6-trichlorophenol to juvenile Grass Shrimp and Killfish. *Bulletin Environmental Contamination & Toxicology*, 44: 776-783.
- Campbell, J. W. (1973). Nitrogen excretion. Cit. pos. Colt y Armstrong (1981). Nitrogen Toxicity to Crustaceans, Fish and Molluscs. *Bio-Engineering Symposium for Fish Culture*: 34-47.
- Catedral, F.F., Gerachi D.D., Quibuyen A.T. y Casalmir C.M. (1977). Effects of nitrite, ammonia and temperature on *P. monodon* larvae. *Quarterly Research Report*. 3er. Quarter, Southeast Asian Fisheries Development Center, Vol. 1, (3): 9-12.
- Chen, J.C., Chin T.S. y Lee C.K. (1986). Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp (*Penaeus monodon*). Cit. pos. Chen y Chin (1989). Effect of ammonia at different pH levels on *Penaeus monodon* postlarvae. *Asian Fisheries Science*, 2: 233-238.
- Chen, J.C. y Chin T.S. (1988). Acute toxicity of nitrite to tiger prawn *Penaeus monodon* larvae. *Aquaculture*, 69: 253-262.
- Chen, J.C. y Chin T.S. (1989). Effect of Ammonia at different pH levels on *Penaeus monodon* Postlarvae. *Asian Fisheries Science*, 2: 233-238.

- Chen, J.C., Liu P.C., Lin Y.T. y Lee C.K. (1989). Highly-intensive culture study of tiger prawn *Penaeus monodon* in Taiwan. Cit. pos. Chen y Chin (1989). Effect of ammonia at different pH levels on *Penaeus monodon* postlarvae. *Asian Fisheries Science*, 2: 233-238.
- Chen, J.C., Liu P.C. y Lei S.C. (1990a). Toxicities of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. *Aquaculture*, 89: 127-137.
- Chen, J.C., Ting Y.Y. y Lin M.N. (1990b). Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus chinensis* juveniles. *Marine Biology*, 107: 427-431.
- Chen, J.C. y Nan F.H. (1991). Lethal effect of nitrite on *Metapenaeus ensis* larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol 22, (1) 51-56.
- Chen, J.C. Nan F.H. y Kou C.M. (1991). Oxygen consumption and ammonia-N excretion of prawns (*Penaeus chinensis*) exposed to ambient ammonia. *Archives of Environmental Contamination & Toxicology*, 21: 377-382.
- Chen, J.C. y Nan F.H. (1992). Effect of ambient ammonia on ammonia-N excretion and ATPase activity of *Penaeus chinensis*. *Aquatic Toxicology*, 23: 1-10.
- Chen, J.C. y Lin C.Y. (1992). Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity levels. Cit. pos. Chen y Kou (1993). Accumulation of ammonia in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquaculture*, 109: 177-185.
- Chen, J.C. y Kou Y.Z. (1993). Accumulation of ammonia in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquaculture*, 109: 177-185.

- Cheng, J. y Liao Y. (1986). The effect of salinity on the osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Penaeus monodon* and *P. penicillatus*. En: "The Biology of Penaeidae" (Blaxter y Southward, eds.) Vol 27, Academic Press, London: 159-211.
- Chin, T. S. y Chen J. C. (1987). Acute toxicity of ammonia to larvae of the tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 66: 247-253.
- Claybrook, D.L. (1983). Nitrogen metabolism. En "The Biology of Crustacea" (Bliss y Mantel, eds.), Vol 5, Academic Press, New York: 163-213.
- Colt, J.E. y Armstrong D.A. (1981). Nitrogen toxicity to Crustaceans, Fish and Molluscs. Bio-Engineering Symposium for Fish Culture: 34-47.
- Culbertson, C., Pytkowicz R.M. y Hawley J.E. (1969). Seawater alkalinity determination by the pH method. *Journal Marine Research*. Vol. 3: 156-161.
- Dall, W. y Moriarty D.J.W. (1983). Functional aspects of nutrition and digestion. En: "The Biology of Crustacea" (Bliss y Mantel, eds.), Vol. 5, Academic Press, New York: 215-261.
- Dall, W. y Smith D.M. (1986). Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns *Penaeus esculentus* Haswell. Cit. pos. Dall et al., (1990) "The Biology of the Penaeidae" (Blaxter y Southward eds.), Vol. 27, Academic Press, London: 489 pp.
- Dall, W., Hill B.J., Rothlisberg P.C. y Sharples D.J. (1990). Moulting and Growth. "The Biology of the Penaeidae" (Blaxter and Southward eds.), *Advances in Marine Biology*, Vol. 27: 213-250.



- Drach, P. (1939) Mue et cycle d'intermue chez Crustacés décapodes. Cit. pos. Dall et al. (1990) "The Biology of the Penaeidae" (Blaxter y Southward, eds), Vol. 27. Academic Press, London: 489 pp.
- Drummond, R.A. y Dawson W.F. (1970). An inexpensive method for simulating a diel pattern of lighting in the laboratory. Transactions of the American Fisheries Society. 99: 434 p
- Emerson, K. Russo R.C., Lund R.E. y Thurton R.V. (1975). Aqueous ammonia equilibrium calculations: effects of pH and temperature. Journal Fisheries Research Board of Canada, 32: 2379-2383.
- Franson, M.A.H. (Editor)(1980). Standard methods for the examination of water and wastewater, 15 edn. American Public Health Association, Washington DC: 1134 pp.
- Froom, P.O. y Gillette, J.R. (1968). Effect of ambient ammonia on blood ammonia and nitrogen excretion of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Comparative Biochemistry and Physiology, 26: 887-896.
- Guerrero-Galván S. (1993). Estudio de la calidad del agua en una granja camarónica semi-intensiva: flujo de materiales y nutrientes, producción de oxígeno por fotosíntesis y consumo por respiración. Tesis de Maestría. UACPyP-CCH-UNAM: 160 pp.
- Hall, D.N.F. (1962). Observations on taxonomy and biology of some Indowest-Pacific Penaeidae (Crustacea, Decapoda). Columbia Office, Fisheries Publication, No. 17: 1-229.
- Huang, B. (1979). Ecological studies on the rearing ponds of grass shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius. Cit. pos. Chen, et al.(1990) Toxicities of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. Aquaculture, 89: 127-137.

- Hubert, J.J. (1980). *Bioassay*. Kendall/Hunt Publishing Company: 198 pp.
- Jannasch, H.W. (1960). Versuche Über denitrifikation und die Verfügbarkeit des Sauerstoffes in Wasser und Schlamm. Cit. pos. Parsons *et al.*, (1977) "Biological Oceanographic Processes", Pergamon Press: 170-173.
- Jayaankar, P. y Muthu M.S. (1983). Toxicity of ammonia to the larvae *Penaeus indicus* H Milne Edwards. *Indian Journal Fisheries*, 30: 1-12.
- Kitani, H. (1986). Larval development of the white shrimp *Penaeus vannamei* Boone reared in the laboratory and the statistical observation of its naupliar stages. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, Vol. 57, (7): 1131-1139.
- Kormanik G.A. y Cameron J.N. (1981). Ammonia excretion in animals that breathe water: a review. *Marine Biology Letters*, 2: 11-23.
- Krogh, A. (1939). Osmotic regulation in aquatic animals. Cit. pos. En Parry (1960) *Excretion, "The Physiology of Crustacea"* (Waterman, ed.) Vol. 1, Academic Press, New York: 341- 366.
- Lai, C.M. y Ting Y.Y.(1984). Effects of toxicant on grass shrimp, *Penaeus monodon*. Cit. pos. Chen *et al.*(1990) Toxicities of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. *Aquaculture*, 89: 127-137.
- Lalli, C.M. y Parson T.R. (1993). *Biological Oceanography*. Pergamon Press (ed): 297 pp.
- Lee, P.G. y Lawrence A.L. (1982). A quantitative analysis of digestive enzymes in penaeid shrimp; influences of diet, age and species. *Physiologist*, 25: 241-246.

- Lee, P.G., Smith L.L. y Lawrence A.L. (1984). Digestive proteasas of *Penaeus vannamei* Boone: relationship between enzyme activity and diet. *Aquaculture*, 42: 225-239.
- Liao, P.B. (1974). Ammonia production rate and its application to fish culture system planning and desing. 25th Northwest fish culture conferance. Technical Reprint No. 35.
- Lizárraga-Valdez, J. (1995) Reproducción de camarón (*Penaeus vannamei*) en un sistema controlado de laboratorio y crecimiento en una granja de cultivo semi-intensivo. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa: 85 pp.
- Lloyd, R. (1961). Effect of dissolved oxygen concentrations on the toxicity of several poisons to rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). Cit. pos. Allan *et al.* (1990) Acute and cronic of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. *Aquaculture*, 91: 263-280
- Lloyd, R. y Orr L.D. (1969). The diuretic response by rainbow trout to sublethal concentrations of ammonia. *Water Research*, Vol. 3: 335-344.
- Magnum, C.P., Silverthorn S.U., Harris J.L., Towle D.W. y Krall A.R. (1976). The relation between blood pH, ammonia excretion and adaptation to low salinity in the blue crab *Callinectes sapidus*. *Journal of Experimental Zoology*, 195: 129-136.
- Maltby, L. (1995). Sensitivity of the crustaceans *Gammarus pulex* (L.) and *Asellus aquaticus* (L.) to short-term exposure to hipoxia and unionized ammonia: observations and possible mechanisms. *Water Research*, 29, (3): 781-787.

- Marchal, P. (1892). Recherches anatomiques et physiologiques sur l'appareil excréteur des Crustacés Décapodes. Cit. pos. Regnault (1987) "Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, 62: 1-24.
- Marshall, S.M. y Orr A.P. (1960) Feeding and Nutrition. En: "The Physiology of Crustacea" (Waterman, ed.), Vol. 1: 227-258.
- McGilvery, R.W. (1970). Biochemistry, a functional approach. Cit. pos. Dall et al. (1990) "The Biology of the Penaeidae" (Blaxter y Southward eds.), Vol. 27, Academic Press, London: 489 pp.
- McLaughlin, P.A. (1983). Internal Anatomy. En: "The Biology of Crustacea" (Bliss y Mantel, eds.), Vol. 5, Academic Press., New York: 1-53.
- Mevel, G. y Chamroux S. (1981). A study on nitrification in the presence of prawns (*Penaeus japonicus*) in marine closed systems. Aquaculture, 23: 29-43
- Moriarty, D. J. W. y Barclay M. C. (1981). Carbon and nitrogen content of food and the assimilation efficiencies of penaeid prawns in the Gulf of Carpentaria. Cit. pos. Dall et al. (1990) "The Biology of the Penaeidae" (Blaxter y Southward, eds ), Vol. 27, Academic Press, London: 489 pp.
- New, M. B. (1987). Feed and feeding of fish and shrimp -A manual on the preparation and presentation of compound feeds for shrimp and fish in aquaculture. Cit. pos. Dall et al. (1990) "The Biology of the Penaeidae" (Blaxter y Southward eds.), Vol. 27, Academic Press, London: 489 pp.

- Ogle, J.T. y Beauguez K. (1991). Food preference of *Penaeus vannamei*. Gulf Research Reports. Vol. 8, (3): 291-294.
- Osuna-López J.I., Páez-Osuna F., Izaguirre-Fierro G., Zazueta-Padilla H.M. y Rodríguez-Higuera A. (1989) Estudio de niveles de metales pesados en organismos indicadores de contaminación y de importancia comercial del puerto y antepuerto de Mazatlán Sinaloa. Universidad Autónoma Sinaloa, Escuela de Ciencias del Mar. Informe parcial: 97 pp.
- Parry, G. (1960). Excretion. En: "The Physiology of Crustacea" (Waterman, ed.), Vol. 1: 341-366.
- Passano, L. M. (1960). Moulting and its control. En: "The Physiology of Crustacea" (Waterman, ed.), Vol. 1: 473-536.
- Perez-Farfante (1988). Illustrated Key to Penaeoid Shrimps of Commerce in the Americas. NOAA Technical Report NMFS 64. U.S. Department of Commerce: 1-32.
- Raghavaiah, K., Ramamurthi R., Chandrasekharan V., Scheers T. (1980). Neuroendocrine control of nitrogen metabolism in the indian field crab *Oziotelphusa s. senex* Fabricius- I. End-products and elimination. Comparative Biochemical Physiology. 67B: 437-445.
- Rand, M.G. (1980). Detection: Bioassay. Introduction to Environmental Toxicology (Guthrie y Perry, eds.) 390-403.
- Regnault, M. (1983). Influence à long terme du taux protéique du régime sur l'excretion d'azote et le métabolisme de la crevette *Crangon crangon* L. Cit. pos. Regnault (1987) "Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea". Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, 62: 1-24.

- Regnault, M. (1987). Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 62: 1-24.
- Reymond, H. y Lagardère J.P. (1990). Feeding rhythms and food of *Penaeus japonicus* Bate (Crustacea:Penaeidae). Cit. pos. Ogle y Beauguez "Food preference of *Penaeus vannamei*" Gulf Research Reports, Vol. 8, (3): 291-294.
- Rheinheimer, G. (1991). *Aquatic Microbiology*. Ed. John Wiley & Sons: 211-242.
- Seidman, E.R. y Lawrence A.L. (1985). Growth, feed digestibility and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels. Cit. pos. Allan *et.al.* (1990) Acute and cronic of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. *Aquaculture*, 91: 263-280.
- Smart, G.R. (1978). Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish - gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations. *Journal Fisheries Biology*, 12: 93-104.
- Solorzano, L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by phenol-hypochlorite method. *Limnology and Oceanography*, 14: 799-801.
- Sprague, J.B. (1971). Measurement of pollutant toxicity to fish - III. Sublethal effects and "safe" concentrations. *Water Research Press*, Vol. 5: 245-266.
- Strickland, J.D.H. y Parsons T.R. (1972). A manual for seawater analysis. *Bulletin of Fisheries Research Bulletin, Canada* :167 pp.

- Tabata, K. (1962) Toxicity of ammonia to aquatic animals with reference to the effect of pH and carbon dioxide. Cit. Pos Chen y Chin (1989), Effect of ammonia at different pH levels on *Penaeus monodon* postlarvae. *Asian Fisheries Science*, 2: 233-238
- Tarzwel, C.M (1958). The use of bioassays in the safe disposal of electroplating wastes. *American Electroplaters Society, 44th Annual Technical Proceedings*: 60 pp
- Tarzwel, C.M. (1962). The need and value of water quality criteria with special reference to aquatic life. *Canadian Fisheries Culture*, 31: 35-41.
- Tarzwel, C.M. (1971). Bioassays to determine allowable waste concentrations in the aquatic environment. I. Measurement of pollution effects on living organisms. *Proceedings Royal Society, London*: 177-279.
- Thurston, R. V., Phillips G. R. y Russo R. C. (1981). Increased toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) from reduced concentrations of dissolved oxygen. Cit. pos Allan *et al.* (1990) Acute and chronic of ammonia to juvenile *Metapercaena maculosa* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. *Aquaculture*, 91: 263-280.
- Viarengo, (1990). Biochemical effects of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 19, (4): 153-158.
- Villée C. A. (1988) *Biología. Base molecular de la vida*. 4ª ed. Mc Graw-Hill interamericana ed.:19-32.
- Wickins, J.F. (1976). The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture*, 9: 19-37.

- Zanders, I.P. y Rojas W.E. (1992). Cadmium accumulation,  $LC_{50}$  and oxygen consumption in the tropical marine amphipod *Elasmopus rapax*. Marine Biology 113, 409-413.



## 11.- TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1.- Resultados de la caracterización del agua utilizada en los experimentos.

	Metales disueltos ( $\mu\text{g/l}$ )	Metales particulados ( $\mu\text{g/l}$ )
Salinidad: 34 ‰ <sub>cm</sub>	Ag: n.d.	Ag: n.d.
Alcalinidad total: 2.1 meq/l	Al: 4.1	Al: 3
pH: 8.5	Cd: 0.32	Cd: 7.1
N-Amonio: 10 $\mu\text{g/l}$	Co: 0.09	Co: 0.06
N- $\text{NO}_2^-$ : 4.5 $\mu\text{g/l}$	Cr: 0.1	Cr: n.d.
N- $\text{NO}_3^-$ : 250 $\mu\text{g/l}$	Cu: 5.5	Cu: 5.3
P- $\text{PO}_4$ : 85.27 $\mu\text{g/l}$	Fe: 0.7	Fe: 20.2
BOD <sub>48</sub> : 0.7 mg/l	Mn: 1.05	Mn: 1.6
BOD <sub>120</sub> : 1.35 mg/l	Ni: 0.77	Ni: 0.05
Sól. Susp. Tot.: 42.5 mg/l	Pb: n.d.	Pb: 1.06
	Zn: 68.7	Zn: 1.05

Tabla 2.- Porcentaje de mortalidad de postlarvas (PL12) expuestas a diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).

Tiempo (h)	100	80	60	50	40	30	20	15	10	5
	N-Amonio (mg/l)									
1	73.33	32.96	12.73	0	0	0	0	0	0	0
2	96.67	32.96	12.73	13.33	20	10	0	0	0	0
3	96.67	89.26	51.82	56.67	43.33	16.67	0	0	0	0
4	100	100	61.82	56.67	56.67	16.67	10.00	0	0	0
5			74.55	56.67	56.67	40.00	36.67	7.50	3.33	0
6			74.55	70.00	66.67	46.67	36.67	16.89	3.33	0
7			90.30	76.67	70.00	60.00	40.00	16.89	3.33	0
8			90.30	76.67	70.00	60.00	40.00	16.89	3.33	0
9			96.67	86.67	76.67	73.33	40.00	16.89	3.33	0
10			100	93.33	76.67	73.33	40.00	16.89	3.33	0
11				93.33	76.67	73.33	40.00	16.89	3.33	0
12				96.67	86.67	76.67	40.00	16.89	3.33	0
13				96.67	86.67	76.67	40.00	16.89	3.33	0
14				96.67	86.67	76.67	40.00	16.89	3.33	0
15				96.67	86.67	76.67	40.00	16.89	3.33	0
16				100	96.67	80.00	50.00	16.89	3.33	0

17					96.67	80.00	50.00	16.89	3.33	0
18					96.67	80.00	50.00	16.89	3.33	0
19					96.67	93.33	50.00	16.89	3.33	0
20					96.67	93.33	50.00	19.92	3.33	0
21					100	96.67	53.33	19.92	3.33	0
22						96.67	53.33	19.92	3.33	0
23						100	63.33	19.92	3.33	0
24							63.33	19.92	3.33	0
25							93.33	34.32	3.33	0
33							93.33	34.32	3.33	0
37							100	65.08	3.33	0
38								65.08	3.33	0
39								73.41	3.33	0
42								73.41	3.33	0
46								79.47	3.33	0
47								89.47	3.33	0
48								93.64	3.33	0
60								93.64	3.33	0
64								96.97	3.33	0
70								96.97	3.33	0
96								96.97	3.33	0

Tabla 3.- Porcentaje de mortalidad de juveniles (1.0 g) expuestos a diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).

Tiempo (h)	20	30	40	50	60	70	80	100
	N-Amonio (mg/l)							
12	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	4.17	16.67	29.17
36	0	0	0	0	0	4.17	16.67	29.17
48	0	0	0	0	0	4.17	29.17	62.50
60	0	0	0	0	0	20.83	45.83	100
72	0	0	0	0	0	50.00	87.50	100
84	0	0	0	0	4.17	62.50	95.83	100
96	0	0	0	0	12.5	83.33	100	100
108	0	0	0	0	45.83	95.83	100	100
120	0	0	0	0	50.00	95.83	100	100

Tabla 4.- Porcentaje de mortalidad de juveniles (3.8 g) expuestos a diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l).

Tiempo (h)	20	30	40	60	80	100
	N-Amonio (mg/l)					
12	0	4.17	0	4.17	0.0	0.0
24	4.17	4.17	0	4.17	0.0	4.17
36	8.33	4.17	0	4.17	0.0	16.67
48	8.33	4.17	0	4.17	4.17	29.17
60	8.33	4.17	4.17	4.17	16.67	58.33
72	8.33	4.17	4.17	8.33	33.33	87.50
84	8.33	4.17	4.17	12.50	58.33	100
96	8.33	4.17	4.17	16.67	75.0	100
108	8.33	4.17	4.17	16.67	83.33	100
120	8.33	8.33	4.17	29.17	91.67	100

**TABLA 5.-** Porcentaje de mortalidad de juveniles (3.8 g) recalculadas expuestos a diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l), considerando los resultados obtenidos en el bioensayo de los juveniles de 1.0 g.

Tiempo (h)	20	30	40	60	80	100
	N-Amonio (mg/l)					
12	0	0	0	0	0.0	0.0
24	0	0	0	0	0.0	4.17
36	0	0	0	0	0.0	16.67
48	0	0	0	0	4.17	29.17
60	0	0	0	0	16.67	58.33
72	0	0	0	0	33.33	87.50
84	0	0	0	12.50	58.33	100
96	0	0	0	16.67	75.0	100
108	0	0	0	16.67	83.33	100
120	0	0	0	29.17	91.67	100

Tabla 6 - Valores de  $N-NH_3$  y  $N-NH_4^+$  en el agua utilizada durante el bioensayo de las postlarvas (PL 12) en función del pH, para una temperatura de 28°C y una salinidad de 34‰.

Conc (mg/l)	pH	N-Amonio (mg/l)	$N-NH_4^+$ (mg/l)	$N-NH_3$ (mg/l)
Control	7.91±0.19	0.12±0.02	0.115	0.0048
5	7.78±0.17	3.53±1.09	3.42	0.11
10	7.76±0.15	7.65±1.14	7.40	0.24
15	8.04±0.10	10.63±0.47	10.10	0.53
20	8.04±0.07	15.05±1.42	14.29	0.75
30	8.00±0.06	20.94±1.58	19.89	1.05
40	8.00±0.08	31.31±2.81	29.74	1.57
50	7.90±0.00	42.76±4.12	41.04	1.72
60	7.90±0.00	49.43±5.02	47.44	1.98
80	7.92±0.04	73.45±4.91	70.49	2.95
100	7.88±0.08	89.51±5.11	86.62	2.88

Tabla 7.- Valores de  $\text{N-NH}_3$  y  $\text{N-NH}_4^+$  en el agua utilizada durante el bioensayo de juveniles (1.0 g) en función del pH, para una temperatura de  $26^\circ\text{C}$  y una salinidad de  $34\text{‰}$ .

Conc. (mg/l)	pH	N-Amonio (mg/l)	$\text{N-NH}_4^+$ (mg/l)	$\text{N-NH}_3$ (mg/l)
Control	$8.10 \pm 0.13$	$0.36 \pm 0.14$	0.341	0.02
20	$8.16 \pm 0.07$	$17.97 \pm 2.22$	16.72	1.25
30	$8.18 \pm 0.08$	$26.81 \pm 2.90$	24.94	1.86
40	$8.15 \pm 0.07$	$35.01 \pm 2.69$	32.57	2.44
50	$8.13 \pm 0.06$	$43.51 \pm 2.84$	41.07	2.44
60	$7.97 \pm 0.09$	$52.79 \pm 2.51$	50.40	2.38
70	$7.99 \pm 0.10$	$61.53 \pm 2.38$	58.75	2.78
80	$8.03 \pm 0.06$	$72.39 \pm 2.74$	69.12	3.26
100	$8.00 \pm 0.05$	$86.88 \pm 2.52$	82.96	3.92



Tabla 8 - Valores de  $\text{N-NH}_3$  y  $\text{N-NH}_4^+$  en el agua utilizada durante el bioensayo de juveniles (3.8 g) en función del pH, para una temperatura de 23°C y una salinidad de 34‰/ao.

Conc. (mg/l)	pH	N-Amonio (mg/l)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	N-NH <sub>3</sub> (mg/l)
Control	7.60±0.22	0.54±0.16	0.53	0.01
20	7.50±0.12	17.37±2.46	17.16	0.21
30	7.56±0.15	26.37±2.89	25.97	0.40
40	7.48±0.15	34.84±2.84	34.31	0.53
60	7.93±0.11	52.20±2.75	50.65	1.55
80	8.05±0.15	70.32±2.59	67.71	2.61
100	7.95±0.15	87.00±2.49	83.77	3.22

Tabla 9.- Número de artemias/ml en los matraces contenedores de postlarvas (PL12) de *Petromyzon* durante el bioensayo.

N-Amonio (mg/l)	12 h	24 h	48 h	72 h	96 h
30	4.0	4.0	--	--	--
20	4.0	3.0	--	--	--
15	3.0	2.5	4.80	--	--
10	2.5	2	2.88	2.2	0
5	0.5	0.5	0.55	0	0
control	0	0.5	0.44	0	0

Tabla 10.- Media de los pesos iniciales y finales en *Penaeus vannamei* (1.0 g) durante el bioensayo.

N-Amonio (mg/l)	Peso medio inicial (g)	Peso medio final (g)	Peso ganado(g)
20	1.05±0.02	1.23±0.02	0.17
30	1.03±0.03	1.12±0.07	0.08
40	1.04±0.02	1.15±0.06	0.11
50	1.03±0.01	1.16±0.01	0.12
60	1.03±0.03	1.04±0.04	0.01
70	1.05±0.02	1.05±0.02	0.00
80	1.05±0.02	1.07±0.03	0.02
100	1.05±0.02	1.06±0.02	0.01
Control	0.99±0.01	1.17±0.01	0.18

Tabla 11.- Pesos iniciales y finales en juveniles (3.8 g) de *Percaeus varvamei* durante el bioensayo.

N-Amonio (mg/l)	Peso medio inicial (g)	Peso medio final (g)	peso ganado (g)
20	3.76±0.22	3.91±0.19	0.15
30	3.72±0.06	3.74±0.05	0.02
40	3.70±0.34	3.78±0.15	0.08
60	3.78±0.50	3.65±0.36	-0.13
80	3.80±0.16	3.70±0.15	-0.10
100	3.76±0.24	3.75±0.17	-0.01
Control	3.80±0.38	4.13±0.20	0.33

Tabla 12.- Comparación de los resultados de las pruebas de significancia estadística para LC50-96 h entre postlarvas (PL12), y juveniles de 1.0 y 3.8 g de *Percuss varvamei*.

	Postlarvas (PL12)	Juveniles 1.0 g	Juveniles 3.8 g
Postlarvas (PL12)	—	20.21*	12.93*
Juveniles 1.0 g	20.21*	—	0.6735
Juveniles 3.8 g	12.93*	0.6735	—

\* Significativas al nivel de  $P = 0.05$

Tabla 13.- Comparación de LC50 por N-Amonio (mg/l) de diferentes especies en diferentes estadios.

Especie	estadio	24 h	48 h	72 h	96 h	Referencia
<i>P. monodon</i>	Nauplio	6.0	—	—	—	Chin y Chen (1987)
<i>P. monodon</i>	Zoea	8.48	—	—	—	Chin y Chen (1987)
<i>P. monodon</i>	Mysis	14.39	—	—	—	Chin y Chen (1987)
<i>P. monodon</i>	Postlarva (PL6)	52.11	27.73	17.05	11.51	Chin y Chen (1987)
<i>P. vannamei</i>	Postlarva (PL12)	18.3	12.4	12.1	12.1	Este estudio
<i>P. monodon</i>	Juvenil	—	—	—	26.67	Huang (1979)
<i>P. monodon</i>	Juvenil (.07-.19 g)	15.99	11.81	9.88	—	Lai y Ting (1984)
<i>P. chinensis</i>	Juvenil (4.9 g)	79.97	51.14	41.44	37	Chen et al. (1990b)
<i>P. vannamei</i>	Juvenil (1.0 g)	120.1	92.4	69.2	64.2	Este estudio
<i>P. vannamei</i>	Juvenil (3.8 g)	—	111.2	84.5	70.2	Este estudio
<i>P. monodon</i>	Adolesc.	97.9	88	66.6	53.4	Chen et al. (1990a)

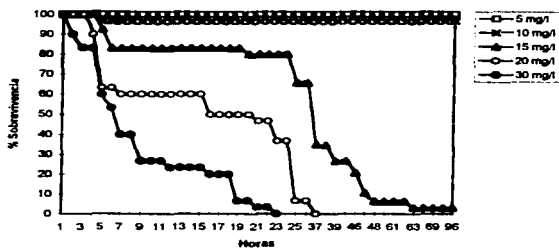


Fig. 1.- Porcentajes de sobrevivencia de postlarvas (PL12) de *P. vannamei* obtenidos durante el experimento con diferentes concentraciones de N-AmONIO (mg/l)

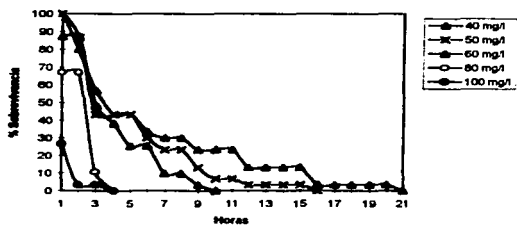


Fig. 2.- Porcentajes de sobrevivencia de postlarvas (PL12) de *P. vannamei* obtenidos durante el experimento con diferentes concentraciones de N-AmONIO (mg/l).

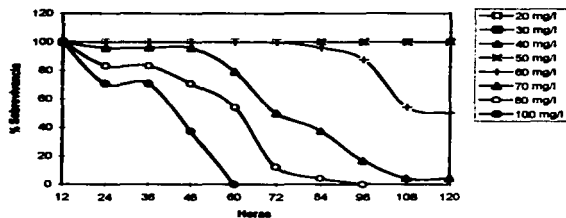


Fig. 3.- Porcentajes de sobrevivencia de juveniles (1 g) de *P. vannamei* obtenidos durante el experimento con diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l)

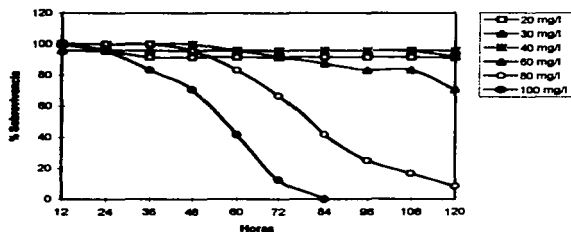


Fig. 4.- Porcentajes de sobrevivencia de juveniles (3.8 g) de *P. vannamei* obtenidos durante el experimento con diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l)



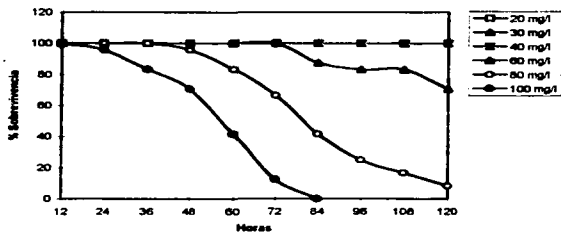


Fig. 5.- Porcentajes de sobrevivencia recalculados en juveniles (3.8 g) de *P. vannamei* observados durante el experimento con diferentes concentraciones de N-Amonio (mg/l)

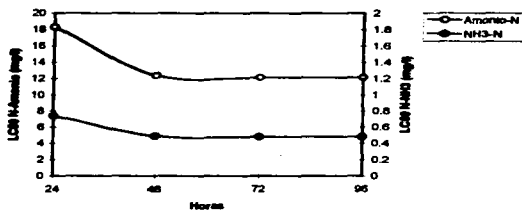


Fig. 6.- Comparación de LC50 por N-Amonio y N-NH<sub>3</sub> en postlarvas (PL12) de *P. vannamei*

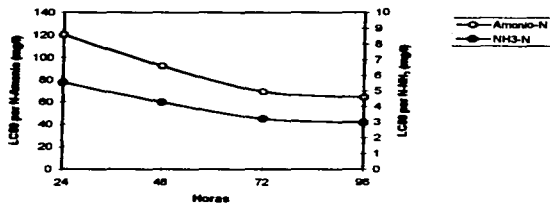
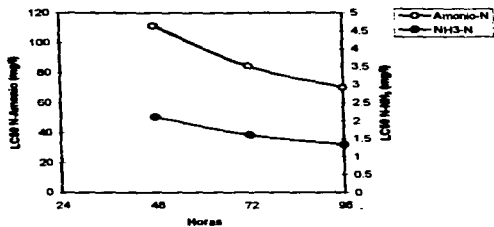
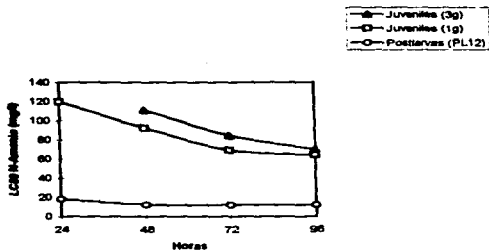


Fig. 7.- Comparación de LC50 por N-Amonio y N-NH<sub>3</sub> en juveniles (1 g) de *P. vannamei*

Fig. 8.- Comparación de LC50 por N-Ammonio y N-NH<sub>3</sub> en juveniles (3.8 g) de *P. vannamei*Fig. 9.- Comparación de LC50 por N- Ammonio (mg/l) en diferentes estados de *P. vannamei*

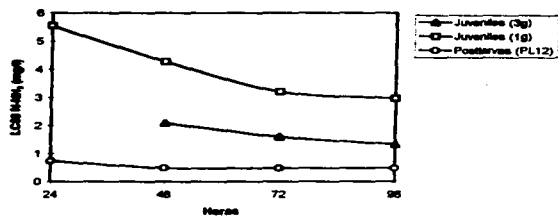


Fig. 10.- Comparación de LC50 por N-NH<sub>3</sub> (mg/l) en diferentes estadios de *P. vannamei*.

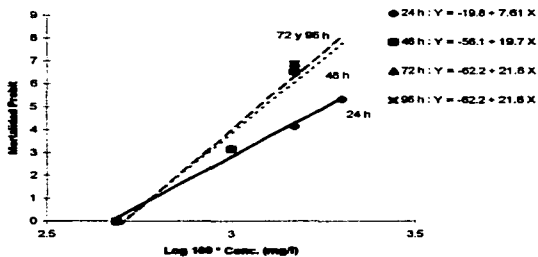


Fig. 11.- Relación de la concentración de N-Amónio (mg/l) con la mortalidad probit en postlarvas (PL12) de *P. vannamei*.

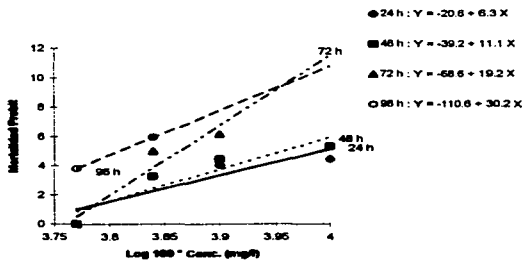


Fig. 12.- Relación de la concentración de N-Amónio (mg/l) con la mortalidad probit en juveniles (1 g) de *P. vannamei*.

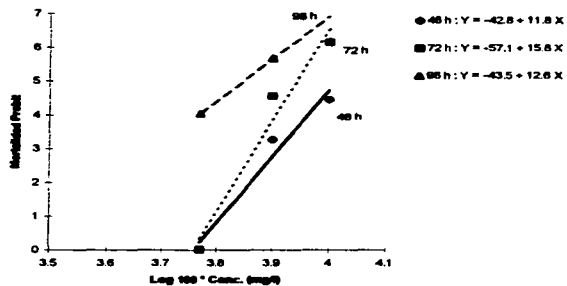


Fig. 13.- Relación de la concentración de N-Amouso (mg/l) con la mortalidad probit en juveniles (3.8 g) de *P. varianae*.