

146
201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**"ALTERACIONES FISIOLÓGICAS DE POSTLARVAS
Y JUVENILES DEL CAMARÓN BLANCO *Panaeus
setiferus* (CRUSTACEA: DECAPODA) POR EFECTO
DEL AMONIACO."**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
CECILIA ROBLES MENDOZA

DIRECTOR DE TESIS: Dra. GUILLERMINA ALCARAZ ZUBELDIA
CO-DIRECTOR: Dra. CECILIA VANEGAS PEREZ

MEXICO, D. F.

1997



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

FACULTAD DE CIENCIAS
BIBLIOTECA ESCOLAR



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
ALTERACIONES FISIOLÓGICAS DE POSTLARVAS Y JUVENILES DEL CAMARÓN
BLANCO Penaeus setiferus (CRUSTACEA: DECAPODA) POR EFECTO DEL AMONIACO.

realizado por CECILIA ROBLES MENDOZA
con número de cuenta 8925707-0 . pasante de la carrera de BIOLOGIA
Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario
Co-Director
Propietario
Suplente
Suplente

DRA. GUILLERMINA ALCARAZ ZUBELDIA

DRA. RUTH CECILIA VANEGAS PEREZ

DR. FRANCISCO XAVIER CHIAPPA CARRARA

DR. RENE DE JESUS CARDENAS VAZQUEZ

BIOL. HUGO RODOLFO MOLINA ARROYO

Handwritten signatures and stamps:
- Signature: *[Handwritten]*
- Stamp: *UNAM*
- Stamp: *DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA*
- Stamp: *RECIBIDO*
- Stamp: *13 de Julio*
- Stamp: *1982*
- Stamp: *UNAM*
- Stamp: *DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA*

Consejo Departamental de Biología
M. en C. Alejandro Martínez Mena

Handwritten signature of Alejandro Martínez Mena

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias de la UNAM, bajo la Dirección de la Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldía y de la Dra. Cecilia Vanegas Pérez.

DEDICATORIAS

A esas cinco personas maravillosas que la vida me ha dado:

a mis padres por su confianza, apoyo y cariño infinito y por lo que significan en mi vida

a Lety por el apoyo que siempre me ha brindado y por los ánimos que me dado siempre que los he necesitado. Gracias por ser una magnífica hermana!

a Fredy por el apoyo y cariño con los que siempre he contado

a Ale por su cariño y alegría contagiosa

A Cecy por su confianza y apoyo a todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A las Directoras de esta Tesis:

Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldia y Dra. Cecilia Vanegas Pérez por su apoyo confianza y disponibilidad durante la realización del presente trabajo, por el enorme interés que siempre han demostrado en mi desarrollo académico, pero sobre todo por su amistad y por haberme dado la oportunidad de iniciar mi trabajo científico junto a ellas.

A los miembros del sinodo el Dr. Xavier Chiappa Carrara, el Dr. René Cárdenas Vázquez y al Biol. Hugo Molina Arroyo por sus comentarios y valiosas sugerencias al presente trabajo.

A la Dirección General de Apoyo al Personal Académico (DGAPA) de la UNAM por la beca otorgada para realizar la tesis de licenciatura, así como por la beca de apoyo del Proyecto de Investigación (IN 204295, PAPIIT) en el cual se inserta la presente tesis.

Al Grupo Camarón-UNAM del Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias, en especial al Dr. Carlos Rosas, a la Dra. Gabriela Gaxiola y al M. en C. Adolfo Sánchez por la donación de los camarones utilizados para la realización del presente trabajo, así como por la formulación y suministro del alimento empleado.

Al Dr. Xavier Chiappa por su colaboración en el análisis estadístico.

Al M. en C. Fabián Contreras por su valioso apoyo en la parte gráfica.

A los miembros del equipo de trabajo: Cecy, Guille, Hugo, Luz y Vero por el apoyo en la parte experimental.

A los compañeros del Laboratorio de Ecofisiología: Gaby, Fabián, Katy y Angel por su amistad y disponibilidad en todo momento.

A Sonia, Mike y Elna por ser unas magníficas personas, por lo momentos que hemos pasado juntos, pero especialmente por su amistad y cariño a toda prueba. Gracias !!

Al Sr. Saúl Ortega, Jefe del Taller Mecánico de la Facultad de Ciencias y a sus colaboradores por el apoyo en el diseño y elaboración del sistema respirométero empleado.

INDICE

RESUMEN	<i>i</i>
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	5
MATERIALES Y METODOS	6
1. Mantenimiento	6
2. Pruebas de Toxicidad Crónica	7
3. Respuestas Fisiológicas	9
a. Consumo de Oxígeno	9
b. Excreción Nitrogenad	12
c. Crecimiento	13
4. Análisis Estadístico	14
RESULTADOS	15
1. Consumo de Oxígeno	15
2. Excreción Nitrogenada	17
3. Crecimiento	19
DISCUSION	24
CONCLUSIONES	33
LITERATURA CITADA	34

RESUMEN

En el presente estudio, se evaluó el efecto subletal del amoniaco en postlarvas y juveniles de *P. setiferus*, especie con gran potencial de cultivo en el Golfo de México. Con este propósito se realizaron bioensayos crónicos, con recambio, de 5 días para postlarvas (PL22; 12.0 ± 1 mg PH) y de 10 días para juveniles (115 ± 11 mg PH). Las concentraciones subletales evaluadas fueron 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH₃/L, determinadas a partir de pruebas de toxicidad aguda; se consideró un grupo testigo sin exposición al amoniaco. Los bioensayos experimentales se realizaron a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, $25 \pm 1\%$ de salinidad, pH 8.2 ± 0.5 y 5.1 ± 1 mg O₂/L. Durante el período experimental, no se observó mortalidad en las postlarvas y juveniles expuestos de manera crónica al amoniaco. La exposición de 1 h al amoniaco no modificó el consumo de oxígeno de las postlarvas; en contraste, la tasa respiratoria de los juveniles se redujo en la mayor concentración de nitrógeno amoniacal. Sin embargo, al aumentar el tiempo de exposición al amoniaco, a 10 d, el consumo de oxígeno de los juveniles no fue alterado. La excreción nitrogenada de los juveniles se inhibió al incrementarse el amoniaco externo, lo cual sugiere la acumulación interna del amonio, independientemente del tiempo de exposición. Tanto en postlarvas como en juveniles, el efecto tóxico de la exposición crónica al amoniaco se reflejó en la reducción del crecimiento de los camarones. La concentración a la cual el crecimiento de los organismos se redujo en un 50 % con respecto al grupo testigo (CE₅₀) fue de 0.16 mg N-NH₃/L para postlarvas y de 0.70 mg N-NH₃/L para juveniles. La concentración máxima aceptable del amoniaco para postlarvas y juveniles en la cual la reducción del crecimiento fue del 5% en relación al grupo testigo (CE₅) se estimó en 0.014 y 0.20 mg N-NH₃/L, para postlarvas y juveniles respectivamente. Los resultados obtenidos indican que las postlarvas de *P. setiferus* son más sensibles a la acción tóxica del amoniaco que los juveniles de la especie.

INTRODUCCION

La camaricultura es una de las prácticas económicas que actualmente es desarrollada de manera exitosa en varios países entre los que destacan China, Indonesia, Tailandia y Filipinas (Gámez y De la Lanza, 1992). Sin embargo, el éxito de este proceso productivo ha requerido de la aplicación de conocimientos científicos y la implementación de una tecnología adecuada que garantice la producción rentable del recurso.

En México, el cultivo del camarón se ha desarrollado fundamentalmente en las costas de los estados de Sonora y Sinaloa y se sustenta en mayor grado en el camarón blanco *Penaeus vannamei* así como en el camarón azul *Penaeus stylirostris* y en el camarón café *Penaeus californiensis* (Arredondo, 1990). El Golfo de México posee 1910.02 kilómetros de litoral (INEGI, 1991) con una superficie factible de ser utilizada para el cultivo de camarón; sin embargo, a pesar de contar con un gran potencial para la producción de camarones peneidos, la costa mexicana de esta zona presenta un menor desarrollo en comparación con el Pacífico mexicano, debido a la falta de una tecnología propia para las especies de esta área, entre las cuales destacan el camarón rosado *Penaeus duorarum*, el camarón café *P. aztecus* y el camarón blanco *P. setiferus* (Gracia y Soto, 1990).

P. setiferus, es considerada una especie adecuada para la camaricultura, debido a su tasa de crecimiento y a la talla comercial que alcanza, a su tolerancia a las condiciones de cultivo y resistencia a enfermedades, aunado a un suministro constante de reproductores y a la disponibilidad de "semilla" para los sistemas de cultivo (Sandifer *et al.*, 1993). Diversos estudios conducentes a la implementación de una tecnología de cultivo adecuada para la especie han sido desarrollados, abordando aspectos reproductivos, bioquímicos, genéticos, nutricionales, ecológicos y toxicológicos. (León *et al.*, 1992; Rosas *et al.*, 1992; Sandifer *et al.*, 1993; Arena, 1995; Gaxiola, 1994; Rosas *et al.*, 1995; Alcaraz *et al.*, 1997a y b; Sánchez y Soto, 1987).

La producción en los sistemas de cultivo de *P. setiferus* y en general de todos los peneidos, puede ser garantizada por el aporte y el manejo adecuado de los estadios de postlarvas y de

juvenil. Las postlarvas son un medio de abasto de la "semilla" para las granjas camaronícolas en tanto que los juveniles son elementos primordiales en los estanques de engorda para la obtención de organismos con las características adecuadas que lo hagan un recurso altamente comercial (Arredondo, 1990). Sin embargo, en los sistemas de cultivo intensivo y semi-intensivo pueden presentarse condiciones adversas de algunos parámetros fisicoquímicos del medio, entre los que destacan la acumulación de compuestos nitrogenados y la disminución del oxígeno disuelto del medio (Allan *et al.*, 1990; Allan y Maguire, 1991). Tales condiciones afectan en gran medida la integridad fisiológica de los organismos y por ende el desarrollo y la eficiencia de la producción camaronera.

El amonio es el principal producto nitrogenado excretado por los crustáceos acuáticos y representa entre el 60 y 70 % de los compuestos nitrogenados de excreción (Regnault, 1987). En los sistemas acuáticos, el amonio es un producto del proceso de degradación microbiana de la materia orgánica (Rivera-Monroy *et al.*, 1995). Sin embargo, en los ambientes de cultivo es el tóxico más común debido a su acumulación originada por la alta densidad de los organismos empleada, a las tasas de recambio de agua inadecuadas, así como al tipo y tasas de alimentación suministradas (Allan *et al.*, 1990; Chen y Lin, 1992a). De igual manera, tal acumulación es frecuente después de la degradación del exceso de material inorgánico y del aporte de fertilizantes en los estanques de cultivo (Allan *et al.*, 1990).

En los ambientes acuáticos, el amonio se encuentra presente en dos formas químicas, una ionizada (NH_4^+) y otra no ionizada (NH_3) donde la proporción del NH_3 disminuye con el incremento de la salinidad y aumenta con el incremento de la temperatura y del pH del medio (Whitfield, 1974; Bower y Bidwel, 1978). Diversos autores señalan que la forma no ionizada es más tóxica para los organismos acuáticos debido a su naturaleza lipofílica que le facilita difundir a través de la membrana celular de la branquia (Wright, 1995); en contraste, el NH_4^+ es lipofóbico y penetra en menor grado las membranas celulares (Kormanik y Cameron, 1981; Jobling, 1994).

En los sistemas de cultivo intensivo de *Penaeus monodon* el amonio alcanza concentraciones de 0.08 mg N-NH₃/L (0.808 mg N-NH₄⁺/L) aún con 30 % de recambio diario de agua (Chen *et al.*, 1986). Chen *et al.* (1988) reporta el incremento considerable del amoniaco en los sistemas de cultivo de postlarvas de *P. penicillatus*, de 0.16 mg N-NH₃/L a los 101 días de cultivo y de 0.87 mg N-NH₃/L a los 115 días de cultivo de la especie; tal incremento redujo el crecimiento de los organismos en un 10%.

Si bien estas concentraciones ambientales son aparentemente bajas su acumulación en los ambientes de cultivo deteriora la integridad fisiológica de los camarones peneidos y en casos extremos ocasiona la muerte. Al respecto, elevadas concentraciones de amonio causan en *P. japonicus* el deterioro de los procesos involucrados en la osmorregulación ocasionando una disminución significativa en los electrolitos de la hemolinfa (Chen y Cheng, 1993a; Chen y Chen, 1996); de manera similar, en las postlarvas y los juveniles de la misma especie se reporta la alteración en la regulación de Na⁺ y Cl⁻ por la exposición al amonio (Lin *et al.*, 1993). En concentraciones mayores de 10 mg N-AT/L (N-amoniaco total) la excreción nitrogenada de *P. chinensis* fue alterada, debido a la inhibición en el funcionamiento de las ATP-etas branquiales con la consecuente acumulación de amonio en la hemolinfa (Chen y Nan, 1992a). En *P. monodon* la excreción del amonio se inhibió en 5 mg N-AT/L, pero a partir de 1 mg N-AT/L se inició la excreción de urea y nitrito como mecanismos de desintoxicación (Chen y Cheng, 1993b). Sousa y Meade (1977) reportan que la exposición crónica al amonio del salmon coho *Oncorhynchus kisutch* ocasiona una acidemia progresiva, la cual reduce la capacidad de saturación del oxígeno por parte de la hemoglobina y altera su transporte a los tejidos. En los decápodos *Notostomus gibbosus* y *Cancer magister* la exposición a 20 mmol/L de amonio disminuye la afinidad de la hemocianina por el oxígeno alterando de esta manera el metabolismo aerobio (Sanders *et al.*, 1992).

Respecto al efecto del amonio sobre el crecimiento y la sobrevivencia de peneidos, Chen y Lin (1992a) reportan una ganancia relativa de peso del 94, 72, 42, y 43% respecto al grupo testigo, en juveniles de *P. penicillatus* expuestos 42 días a 0.2, 0.4, 0.6 y 0.9 mg N-NH₃/L, respectivamente. En juveniles de *P. japonicus* el porcentaje de peso ganado disminuyó al

incrementar la concentración de amonio externo y fue del 125, 90, 70, 43 y 39 % en 0, 0.35, 0.7, 1.4 y 2.1 mg N-NH₃/L, respectivamente (Chen y Kou, 1992). Mientras que en postlarvas de *P. monodon* la reducción del crecimiento fue del 4.4 y 6.5% en 3 y 6 ppm de amonio, la sobrevivencia fue del 72 y 52%, respectivamente (Noor-Hamid *et al.*, 1994).

Los estudios referentes al efecto crónico de los factores fisicoquímicos limitantes y adversos en los sistemas de cultivo y en particular del amonio adquieren particular importancia, ya que permiten determinar las respuestas y estrategias de los peneidos ante estas condiciones y establecer los límites ambientales que garanticen la buena salud de los organismos y por consiguiente la rentabilidad del recurso.

OBJETIVOS

De acuerdo a la información anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto subletal del amoniaco (NH_3) sobre las postlarvas y los juveniles de *Penaeus setiferus* bajo condiciones controladas de laboratorio.

Objetivos particulares:

1. Evaluar el efecto de concentraciones subletales de amoniaco, sobre el consumo de oxigeno, la excreción nitrogenada y la tasa de crecimiento de las postlarvas y los juveniles de *P. setiferus*.

2. Establecer la concentración del amoniaco en la cual el crecimiento de los organismos se reduce al 50% respecto al control (EC_{50}), así como la concentración máxima aceptable del amoniaco en donde el crecimiento no es modificado (EC_5).

MATERIALES Y METODOS

I. MANTENIMIENTO.

Las postlarvas de *P. setiferus* fueron producidas por el grupo Camarón-UNAM del laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias en el CRIP (Centro Regional de Investigación Pesquera) de la Cd. de Campeche. Los camarones, de 9 días de edad (PL 9), fueron transportados al laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias en bolsas de polietileno con agua del medio de cultivo, a 35 ‰ de salinidad y atmósfera saturada de oxígeno. Durante el transporte la temperatura se mantuvo en 20 °C con el fin de disminuir el metabolismo de los organismos y asegurar su sobrevivencia. Una vez en el laboratorio, las postlarvas se colocaron en acuarios de 200 L de capacidad, acondicionados con filtro biológico. La temperatura del agua se mantuvo en 28 ± 1 °C, el pH en 8.2-8.7, la salinidad en 25 ± 1 ‰ y el oxígeno disuelto en 5.45 ± 0.05 mg/L. El fotoperiodo se fijó en 12:12 h luz:oscuridad. Los camarones se mantuvieron en estas condiciones durante siete días, antes de la exposición crónica al amoníaco. Cabe señalar que la temperatura y la salinidad empleadas, se reportan adecuados para el buen desarrollo de las postlarvas de *P. setiferus* (Gaxiola, 1994).

Las postlarvas se alimentaron dos veces al día (8:00 h y 14:00 h) con alimento balanceado peletizado y particulado, (50% de proteína; Tabla 1); a las 20:00 h se les suministraron nauplios de *Artemia franciscana* como complemento alimenticio. Los juveniles se alimentaron tres veces al día (8:00 h, 14:00 h y 20:00 h) con alimento balanceado peletizado y particulado, (40% de proteína; Tabla 1). En ambos estadios el alimento se suministró al 100% de su peso corporal por día (Gaxiola, 1994).

Los registros diarios de salinidad, pH, oxígeno disuelto y temperatura se efectuaron con un refractómetro (ATAGO; ± 0.5 ‰), un potenciómetro (TRANS INSTRUMENT; ± 0.05), un oxímetro con sensor polarográfico (YSI 54A; ± 0.05 mg O₂ /L) y un termómetro de mercurio (BRANNAN; ± 0.5 °C), respectivamente.

Tabla I. Composición en base seca (% PS) del alimento balanceado y suministrado a las postlarvas (A) y juveniles (B) de *Penaeus setiferus*. (Gaxiola, 1994).

Ingredientes % PS	Proteína Cruda % PS	
	B 40	A 50
Caseína	43.3	54.1
L-arginina HCl	1.1	1.4
Dextrina	37.9	26.8
Aceite de hígado de bacalao	2.3	2.3
Aceite de semillas de girasol	2.3	2.3
Lecitina de soya	1.0	1.0
Colesterol	0.5	0.5
Mezcla de vitaminas y minerales	2.5	2.5
Carboxymetil celulosa	5.0	5.0

2. PRUEBAS DE TOXICIDAD CRÓNICA.

A partir de estudios previos sobre la toxicidad aguda del amoníaco en postlarvas de *P. setiferus* (Alcaraz *et al.*, 1997a), así como de las concentraciones de amoníaco reportadas en los sistemas de cultivo de camarones peneidos (Chen *et al.*, 1986; 1988), se seleccionaron las concentraciones subletales de amoníaco a ser empleadas en las pruebas de toxicidad crónica.

Previo a la exposición crónica al amoníaco, los organismos permanecieron en el acuario de mantenimiento 24 horas sin alimentación (Molina *et al.*, 1997). Posteriormente, se obtuvo el peso húmedo de los organismos (mg PH) en una balanza analítica (SAUTER; ± 0.05 mg) y se colocaron al azar en los acuarios experimentales donde permanecieron 4 h antes de la adición del amoníaco. En cada condición experimental, los organismos se colocaron en acuarios de vidrio de 40 L, acondicionados con 12 divisiones de malla de polietileno. En el caso de las postlarvas se colocaron tres organismos por división y un organismo en el caso de juveniles.

Las postlarvas (PL22; 12.0 ± 1 mg PH) y los juveniles (115.0 ± 11 mg PH) de *P. setiferus* fueron expuestos a las concentraciones de 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH₃/L (2.3, 4.7, 8.2 mg N-amonio total/L; N-AT/L); así mismo, para cada estadio se consideró un grupo de organismos control sin exposición al contaminante. Todos los ensayos se efectuaron por duplicado. Cabe señalar que en pruebas de toxicidad aguda (72h) la mortalidad esperada en las postlarvas, en estas concentraciones es de 0, 0.1 y 3%, respectivamente.

Las concentraciones experimentales del amonio no ionizado (NH₃) se obtuvieron a partir de una solución madre de cloruro de amonio (NH₄Cl; Baker, 99.7 % pureza), que fue adicionada considerando la salinidad (25 ‰), la temperatura (28 °C) y el pH del agua de cada acuario experimental (Bower y Bidwell, 1978):

$$\% \text{ N-NH}_3 = \frac{100}{1 + \text{antilog} [\text{pK} (T) - \text{pH}]}$$

Para determinar el efecto de la exposición crónica al amoniaco en *P. setiferus*, se efectuaron bioensayos semiestáticos, con recambio diario del 50% del volumen de agua de los acuarios manteniendo las respectivas concentraciones. El tiempo de exposición al amoniaco fue de 5 días en postlarvas y de 10 días en juveniles.

Durante los bioensayos los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron similares a los de la etapa de mantenimiento. Los organismos se alimentaron diariamente, considerando el mismo patrón de alimentación empleado durante el periodo de mantenimiento. El alimento remanente y las heces producidas por los camarones se retiraron cada día al momento de efectuar los recambios de agua en los acuarios experimentales.

Las concentraciones reales del nitrógeno del amonio total (N-AT; mg/L) en las diferentes condiciones experimentales, se determinaron a partir del análisis de muestras de agua, antes y después de los recambios, con la técnica azul de indofenol (Rodier, 1981)

Las concentraciones de $N-NH_3$ se obtuvieron a partir de las ecuaciones señaladas por Bower y Bidwell (1978) considerando la salinidad (25 ± 1 ‰) la temperatura ($28 \pm 1^\circ C$) y el pH (8.2 ± 0.5) del medio experimental.

Para determinar en cada estadio el efecto tóxico de la exposición crónica al amonio se evaluaron las respuestas fisiológicas del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada. Así mismo, al finalizar el periodo de exposición al amoníaco, se cuantificó el crecimiento de los organismos expuestos a cada condición experimental.

3. RESPUESTAS FISIOLÓGICAS.

El consumo de oxígeno ($mg O_2 h^{-1} g^{-1} PH$) y la excreción nitrogenada ($\mu g N-NH_3 h^{-1} g^{-1} PH$) de las postlarvas y de los juveniles, se evaluaron al inicio y al final de la exposición crónica al amoníaco. En tales mediciones se utilizaron organismos en estado de intermuda.

a. Consumo de Oxígeno.

La tasa respiratoria ($mg O_2 h^{-1} g^{-1} PH$) se evaluó considerando el metabolismo de rutina de los organismos a través de mediciones del consumo de oxígeno. Para determinar esta tasa fisiológica se empleó un sistema respirométrico de acrílico de flujo semicontinuo y termostregulado (Fig. 1). Dicho sistema consta de 11 cámaras respirométricas con sistema regulado del flujo de agua. Para cada condición experimental (0, 0.2, 0.4 y 0.7 $mg N-NH_3/L$) se utilizó un sistema respirométrico. En el caso de las postlarvas se emplearon cámaras de 16 ml y para juveniles de 40 y 68 ml.

Para evaluar el efecto del amoníaco sobre los organismos después de 1 h de exposición inicial al amoníaco, en cada condición experimental se emplearon 10 camarones provenientes del acuario de mantenimiento y con 24 h de ayuno previo, cada uno se colocó en una cámara respirométrica con agua de características similares a las del acuario de mantenimiento; una cámara sin organismo se consideró como testigo.

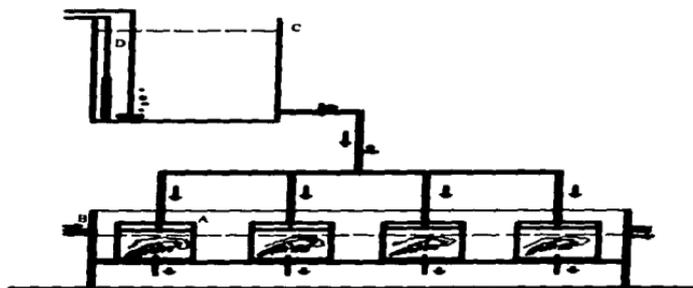


Fig. 1. Sistema respirométrico de flujo semicontinuo. A: Cámara respirométrica; B: Baño termoregulado; C: Reservorio; D: Termostato.

Los organismos permanecieron en dichas cámaras 3 horas antes de la adición de las soluciones experimentales a fin de aminorar los efectos del estrés causados por la manipulación (Molina *et al.*, 1997). Posteriormente, se adicionó a los reservorios el volumen requerido de la solución madre de cloruro de amonio para obtener las concentraciones experimentales deseadas y se efectuó el recambio de agua en las cámaras experimentales.

Previo a las mediciones, los organismos permanecieron bajo estas condiciones 2 horas, considerando en este periodo 1 h de exposición constante a cada concentración experimental de amoniaco. Durante este tiempo, se mantuvo un flujo de agua continuo de tal manera que la concentración de oxígeno de cada cámara no disminuyera más de 0.5 mg O₂/L del registrado en cada reservorio.

Para evaluar el efecto de la exposición crónica al amoniaco, una vez transcurrida la exposición de 5 días en postlarvas y de 10 días en juveniles, se evaluó la tasa respiratoria de los camarones. Para este fin y de la manera ya descrita, se utilizaron 10 organismos de

cada condición experimental, con ayuno previo de 24 h, los cuales se colocaron de manera individual en cada cámara respirométrica; una cámara sin organismo se utilizó como testigo. Las características del agua en las cámaras experimentales fueron similares a los de cada grupo experimental, incluyendo las concentraciones experimentales de amoníaco.

Tanto en los organismos con exposición inicial (1 h), como en los expuestos de manera crónica al amoníaco, una vez transcurrido el periodo de aclimatación a las cámaras respirométricas se midió la concentración de oxígeno en muestras de agua de cada cámara (O_2i) e inmediatamente se suspendió el flujo de agua. El tiempo de cerrado de las cámaras fue de 1.0 a 1.5 horas; transcurrido este periodo se midió la concentración de oxígeno en muestras de agua de cada cámara (O_2f) y se restableció el flujo de agua durante una hora. Inmediatamente después se repitió el procedimiento descrito.

Las concentraciones del oxígeno disuelto en las muestras de agua se midieron con un oxímetro con sensor polarográfico (ISY 54A; ± 0.05 mg O_2 /L). Una vez finalizadas las mediciones se eliminó el agua excedente de los organismos mediante papel secante y se determinó su peso húmedo (mg PH) en una balanza analítica (SAUTER; ± 0.05 mg).

La tasa respiratoria individual (mg O_2 h⁻¹) se determinó a partir de la diferencia entre las concentraciones del oxígeno disuelto inicial [O_2 i] y final [O_2 f], considerando el volumen de las cámaras (V, L) y el tiempo de cerrado (t, h) de las mismas (Cech, 1990):

$$VO_2 = \frac{([O_2]i - [O_2]f) V}{t}$$

Los resultados se corrigieron por los valores obtenidos en la cámara testigo, sin organismo. El consumo de oxígeno tanto de las postlarvas como de los juveniles se relacionó con el peso de los organismos (mg PH) y se expresó en mg O_2 h⁻¹ g⁻¹ PH.

b. Excreción Nitrogenada.

La tasa de excreción nitrogenada de los juveniles de *P. setiferus* se evaluó en los mismos organismos y en el mismo sistema descrito previamente para la evaluación de la tasa respiratoria, pero empleando muestras independientes de agua, para lo cual se utilizaron muestras de agua de 100 μ l en las concentraciones experimentales de 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH₃/L; el factor de dilución utilizado en estos casos fue de 0.04. En el grupo testigo, la evaluación de esta tasa fisiológica no requirió de diluciones. La concentración del nitrógeno de amonio (mg N-NH₄⁺/L) de las muestras inicial y final de agua se determinaron por la técnica azul de indofenol (Rodier, 1981).

El nitrógeno de amonio (μ g N-NH₄⁺ h⁻¹) excretado por cada camarón se determinó a partir de la diferencia entre la concentración de las muestras de agua final [N-NH₄]_f e inicial [N-NH₄]_i considerando el tiempo de cerrado de las cámaras (t, h) y el volumen (V, L) de las mismas:

$$\text{N-NH}_4^+ = \frac{([N-NH_4^+]_f - [N-NH_4^+]_i) V}{t}$$

Los valores de la excreción nitrogenada fueron corregidos por los valores obtenidos en la cámara control sin organismo. La excreción nitrogenada se relacionó con el peso de los organismos (mg, PH) y se expresó en mg N-NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ PH.

Cabe señalar que todas las mediciones del consumo de oxígeno y de la excreción nitrogenada en las postlarvas y juveniles de *P. setiferus* de cada condición experimental se efectuaron entre las 12:00 y las 16:00 horas.

c. Crecimiento.

La tasa de crecimiento de las postlarvas y de los juveniles de *P. setiferus* (C; mg PH d⁻¹) se estimó a partir del incremento de biomasa los organismos (mg PH) durante el periodo de exposición al amoniaco (Busacher *et al.*, 1990):

$$C = (Pf - Pi) / t = \Delta P / t$$

donde ΔP es la diferencia en el peso de los camarones (mg PH) al inicio (P_i) y al término (P_f) de la exposición crónica y t es el periodo de dicha exposición, de 5 días para postlarvas y de 10 días para juveniles.

De igual manera para cada condición experimental se calculó el crecimiento relativo (CR; %) de los organismos considerando el incremento de biomasa (ΔP) respecto al P_i en los camarones (Busacher *et al.*, 1990):

$$CR = (\Delta P / P_i) 100$$

Asi mismo, se determinó la concentración del amoniaco a la cual el crecimiento de los organismos se reduce al 50% (CE_{50}) y al 5% (CE_5) respecto al grupo control, éste último considerado como el nivel máximo aceptable del amoniaco para el adecuado crecimiento de los organismos en sistemas de cultivo (Allan *et al.*, 1990). Con este propósito se estableció la relación entre la concentración externa de amoniaco (mg N-NH₃/L) y la ganancia relativa de peso (GR, %) de los grupos experimentales con respecto al grupo control. La CE_{50} y la CE_5 se determinó a partir del modelo exponencial $GR = a e^{-b [mg N-NH_3/L]}$ para el caso de postlarvas y del modelo cuadrático $GR = b [mg N-NH_3/L]^2 + a$, para juveniles. Estos modelos fueron los que más se ajustaron a los datos obtenidos

4. ANALISIS ESTADISTICO.

Para determinar en cada estadio la significancia de la exposición crónica al amonio sobre las respuestas fisiológicas evaluadas, se utilizó el análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis; las diferencias significativas ($P < 0.05$) se determinaron a través de las pruebas de comparación múltiple no paramétrica de Newman-Keuls (Zar, 1984). Las diferencias por efecto del tiempo de exposición en cada respuesta evaluada se establecieron a partir de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (Zar, 1984). Para las pruebas estadísticas se utilizó el programa de cómputo Statgraphics (ver. 5.1).

RESULTADOS

En el presente estudio, no se observó mortalidad en las postlarvas y los juveniles de *P. setiferus* durante el periodo de exposición a las diferentes concentraciones ambientales de amoniaco.

1. CONSUMO DE OXIGENO.

En las **postlarvas** expuestas durante 1 hora a las diferentes concentraciones experimentales de amoniaco, la tasa respiratoria ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$) no fue modificada, si bien se observó en la mayor concentración ($0.7 \text{ mg N-NH}_3/\text{L}$) un incremento del 54% en el consumo de oxigeno de los camarones, con respecto al control ($P>0.05$; Tabla 2; Fig.2).

En contraste con las postlarvas, la tasa respiratoria de los **juveniles** expuestos durante 1 hora al amoniaco mostró una clara tendencia a disminuir a medida que se incrementó la concentración externa del nitrógeno amoniaco. En los camarones expuestos a 0.2 y $0.4 \text{ mg N-NH}_3/\text{L}$ no se observaron diferencias significativas con respecto al grupo control ($P>0.05$); sin embargo, la exposición a $0.7 \text{ mg N-NH}_3/\text{L}$ redujo en un 33% el consumo de oxigeno de los organismos ($P<0.05$; Tabla 3; Fig 2).

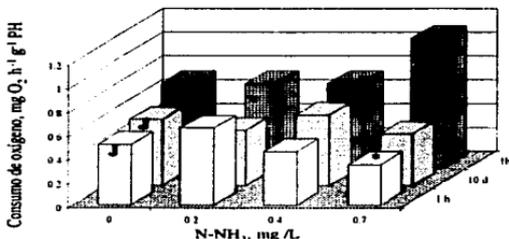


Fig. 2. Consumo de oxigeno de juveniles ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$) de postlarvas y juveniles de *P. setiferus* expuestos a concentraciones subletales de amoniaco.
* Señala diferencias significativas respecto al grupo testigo.

Tabla 2. Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; $\bar{X} \pm \text{ES}$) de postlarvas (PL 22) de *P. setiferus* con exposición previa a 1 h a concentraciones subletales de amoníaco ($\text{mg N-NH}_3/\text{L}$). Se señala entre paréntesis el número de organismos. Se incluyen las concentraciones respectivas de N-amonio total (N-AT, mg/L)

N-AT mg/L	N-NH ₃ mg/L	Tiempo de exposición
		1h
0	0	$0.70 \pm 0.12^*$ (9)
2.3	0.2	$0.70 \pm 0.11^*$ (6)
4.7	0.4	$0.70 \pm 0.12^*$ (7)
8.2	0.7	$1.08 \pm 0.10^*$ (5)

Letras diferentes en una misma columna denotan diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tabla 3. Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; $\bar{X} \pm \text{ES}$) de juveniles de *P. setiferus* expuestos en concentraciones subletales de amoníaco ($\text{mg N-NH}_3/\text{L}$), durante 1h y 10 días. n = número de organismos. N-AT= N de amonio total.

N-AT mg/L	N-NH ₃ mg/L	Tiempo de exposición			
		1h	n	10 d	n
0	0	0.51 ± 0.03^{ab}	13	$0.56 \pm 0.05^*$	18
2.3	0.2	$0.65 \pm 0.05^*$	10	$0.47 \pm 0.03^*$	17
4.7	0.4	0.45 ± 0.04^{bc}	20	$0.60 \pm 0.09^*$	9
8.2	0.7	0.34 ± 0.01^c	17	$0.44 \pm 0.05^*$	16

Letras diferentes en una misma columna denotan diferencias significativas ($P < 0.05$)

Cabe señalar que debido a problemas fuera del control experimental no fue posible evaluar en las postlarvas de *P. setiferus* el efecto de la exposición crónica al amoníaco sobre el consumo de oxígeno.

En los juveniles expuestos de manera crónica al amoníaco durante 10 d, la tasa respiratoria fue similar a la determinada en el grupo testigo ($P > 0.05$; Tabla 3; Fig. 2); las variaciones observadas fueron independientes del incremento de los niveles externos del amoníaco. Al evaluar el efecto del tiempo de exposición al amoníaco, sólo el grupo expuesto en la menor concentración (0.2 mg N-NH₃/L) se observó un efecto significativo; en dicho grupo la tasa respiratoria disminuyó 28 % al aumentar el período de exposición de 1 h a 10 días ($P < 0.05$; Tabla 2, Fig. 2).

De manera global, el consumo de oxígeno de las postlarvas de *P. setiferus* fue mayor que el de juveniles tanto en los organismos del grupo testigo como de los diferentes grupos experimentales ($P < 0.05$; Tabla 2 y 3). En este sentido, la tasa respiratoria de las postlarvas del grupo testigo fue 27% mayor que de los juveniles de la misma condición experimental. Asimismo, en 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH₃/L la tasa metabólica de las postlarvas fue respectivamente 8 %, 56 % y 218 % mayor que los juveniles de la especie.

2. EXCRECION NITROGENADA.

El efecto a corto (1 h) y largo plazo (5 d) del amoníaco sobre la excreción nitrogenada de las postlarvas de *P. setiferus*, no fue posible de ser evaluado.

La tasa de excreción nitrogenada ($\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$) de los juveniles con exposición inicial de 1h al amoníaco mostró una clara tendencia a disminuir ($P < 0.05$) a medida que se incrementó la concentración externa del amoníaco hasta 0.4 mg N-NH₃/L; donde, fue evidente la inhibición de la tasa de excreción. Sin embargo, en la concentración mayor (0.7 mg N-NH₃/L) se observó un incremento no significativo en la excreción nitrogenada, la cual fue 5.5 veces mayor que la del grupo testigo (Tabla 4, Fig. 3).

Tabla 4. Excreción nitrogenada ($\mu\text{g N-NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; $\bar{X} \pm \text{ES}$) de juveniles de *P. setiferus* expuestos en concentraciones subletales de amoníaco ($\text{mg N-NH}_3/\text{L}$), durante 1h y 10 días. n = número de organismos. N-AT= N de amonio total.

N-AT mg/L	N-NH ₃ mg/L	Tiempo de exposición		n	10 d	n
		1 h	n			
0	0	45.30 \pm 11.37 *	7	40.16 \pm 7.82 *	10	
2.3	0.2	-22.09 \pm 5.29 ^{ab}	8	35.36 \pm 3.20 *	8	
4.7	0.4	-561.17 \pm 182.30 ^b	6	-252.72 \pm 74.30 ^b	5	
8.2	0.7	249.12 \pm 74.18 *	7	-157.65 \pm 91.13 ^b	5	

Letras diferentes en una misma columna denotan diferencias significativas ($P < 0.05$).

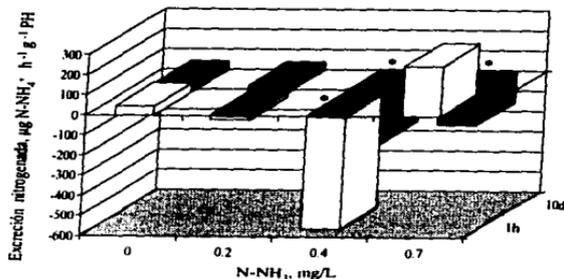


Fig. 3. Excreción nitrogenada ($\mu\text{g N-NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$) de juveniles de *P. setiferus* expuestos a diferentes concentraciones subletales de amoníaco. * Señala diferencias significativas respecto al grupo testigo.

En los juveniles de *P. setiferus*, la exposición crónica (10 d) a la menor concentración de amoníaco (0.2 mg N-NH₃/L) no modificó la tasa de excreción nitrogenada (P>0.05); sin embargo en los camarones expuestos a 0.4 y 0.7 mg N-NH₃/L la excreción amoniacal fue inhibida (P<0.05). Entre estos grupos experimentales no se observaron diferencias significativas (P>0.05; Tabla 4, Fig. 3). En estas concentraciones (0.4 y 0.7 mg N-NH₃/L) la disminución significativa (P<0.05) respecto al grupo control fue de 6.5 y 4 veces, respectivamente.

Al evaluar el efecto del tiempo de exposición sobre la excreción nitrogenada de los juveniles en cada concentración experimental, la tasa fue similar tanto en los organismos del grupo testigo (0 mg N-NH₃/L) como en los expuestos en 0.4 mg N-NH₃/L; en esta última condición experimental se observó la mayor inhibición de la excreción nitrogenada independientemente del tiempo de exposición al amoníaco. Sin embargo, en los camarones expuestos en 0.2 mg N-NH₃/L la excreción nitrogenada se incrementó significativamente (P<0.05) al aumentar el tiempo de exposición a 10 d; en contraste, en la mayor concentración de amoníaco (0.7 mg N-NH₃/L) dicha tasa se inhibió significativamente (P<0.05) al término de la exposición crónica (Tabla 4; Fig. 3).

3. CRECIMIENTO.

El peso inicial (mg PH) de las postlarvas utilizadas en este estudio fue similar en todas las condiciones experimentales (P>0.05) y cuyo intervalo varió de 9.3 ± 0.4 a 11.9 ± 0.8 mg PH ($X \pm ES$) (P>0.05; Tabla 5). En las postlarvas, al transcurrir el periodo de exposición crónica al amoníaco (5d) se observaron alteraciones en el crecimiento de los organismos; mientras que en el grupo testigo sin exposición al nitrógeno amoniacal las postlarvas presentaron un crecimiento de 2.14 mg PH d⁻¹, en los grupos expuestos se observó una mayor reducción en la tasa de crecimiento, al aumentar los niveles externos de amoníaco. Respecto al grupo testigo, la disminución en la tasa de crecimiento (mg PH d⁻¹) fue del 63, 69 y 97 % en los organismos expuestos a 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH₃/L, respectivamente. Sin embargo, la reducción fue significativa (P<0.05) solamente en el grupo expuesto a la mayor concentración de amoníaco (Tabla 5; Fig. 4A).

Tabla 5. Tasa de crecimiento (C; mg PH d⁻¹) y crecimiento relativo (CR; %) de postlarvas (PL 22) de *P. setiferus* expuestos en concentraciones subletales de amoníaco (mg N-NH₃/L). Se incluye el peso inicial (Pi, mg PH) y final (Pf, mg PH) de los camarones. Se señalan valores de $\bar{X} \pm ES$. N-AT= N de amonio total.

N-AT mg/L	N-NH ₃ mg/L	Pi mg PH	Pf mg PH	C mg PH d ⁻¹	CR %
0	0	11.42 ± 0.66 *	22.14 ± 0.53 *	2.14 ± 0.36 *	100.0 ± 20.50*
2.3	0.2	16.0 ± 2.5 *	19.94 ± 2.69 ^{abc}	0.79 ± 0.09 ^{ab}	27.43 ± 4.79 ^{ab}
4.7	0.4	9.29 ± 0.43 *	12.61 ± 0.69 ^{bc}	0.66 ± 0.16 ^{ab}	37.77 ± 10.47 ^{ab}
8.2	0.7	11.26 ± 1.15 *	11.62 ± 1.35 ^c	0.07 ± 0.15 ^b	3.50 ± 7.42 ^b

Letras diferentes en una misma columna denotan diferencias significativas (P<0.05).

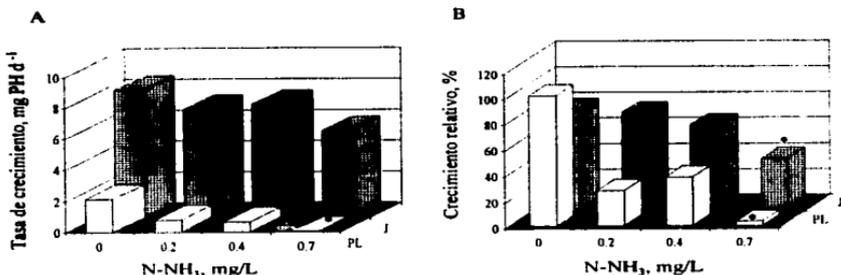


Fig. 4. Tasa de Crecimiento (A; mg PH d⁻¹) y Crecimiento Relativo (B; %) de postlarvas y juveniles de *Penaeus setiferus* expuestos a amoníaco. * Señala diferencias significativas respecto al grupo testigo.

El peso inicial (mg PH) de los juveniles de *P. setiferus* fue similar en los diferentes grupos experimentales ($P>0.05$); los intervalos de peso fueron de 101.14 ± 16.96 a 137.25 ± 29.60 mg PH (Tabla 6). La tasa de crecimiento (mg PH d^{-1}) de este estadio no fue modificado por la exposición crónica al amoniaco ($P>0.05$), si bien se registró una tendencia a disminuir a medida que la concentración del amoniaco se incrementó (Tabla 6; Fig. 4A). El crecimiento de los camarones fue 16, 12 y 32 % menor respecto al grupo testigo en 0.2, 0.4 y 0.7 mg $N-NH_3/L$, respectivamente. De manera evidente, el crecimiento de los juveniles de *P. setiferus* tanto del grupo testigo como de los experimentales fue mayor ($P<0.05$) que el de las postlarvas de la especie (Tabla 5 y 6).

Tabla 6. Tasa de crecimiento (C; mg PH d^{-1}) y crecimiento relativo (CR; %) de juveniles de *P. setiferus* expuestos en concentraciones subletales de amoniaco (mg $N-NH_3/L$). Se incluye el peso inicial (P_i , mg PH) y final (P_f , mg PH) de los camarones. Se señalan valores de $\bar{X} \pm ES$. N-AT= N de amonio total.

N-AT mg/L	N-NH ₃ mg/L	P _i mg PH	P _f mg PH	C mg PH d^{-1}	CR %
0	0	101.14±16.96 ^a	183.35 ± 25.79 ^a	8.22 ± 1.21 ^a	77.28 ± 9.45 ^a
2.3	0.2	105.18 ± 23.50 ^a	174.51 ± 22.80 ^a	6.93 ± 0.34 ^a	74.45 ± 11.64 ^{ab}
4.7	0.4	117.99 ± 19.44 ^a	190.69 ± 30.66 ^a	7.27 ± 1.49 ^a	64.95 ± 3.33 ^{ab}
8.2	0.7	137.25 ± 29.60 ^a	192.60 ± 38.70 ^a	5.55 ± 0.96 ^a	38.90 ± 2.52 ^b

Letras diferentes en una misma columna denotan diferencias significativas ($P<0.05$).

Al evaluar el crecimiento relativo (%) de las postlarvas, se observó una tendencia a disminuir éste a medida que la concentración del nitrógeno amoniacal se incrementó. La reducción observada, respecto al crecimiento relativo de las postlarvas sin exposición al contaminante, fue del 73, del 63 y del 97 % en los grupos expuestos a 0.2, 0.4 y 0.7 mg $N-NH_3/L$, respectivamente. Sin embargo, la disminución en el crecimiento relativo solo fue significativo ($P<0.05$) en las postlarvas expuestas a la mayor concentración de nitrógeno amoniacal (Tabla 5; Fig. 4B).

De manera similar a las postlarvas, el crecimiento relativo (%) de los juveniles presentó una tendencia a disminuir a medida que se incrementó las concentraciones externas del amoníaco; de igual forma, solo la reducción obtenida en los organismos expuestos en 0.7 mg N-NH₃/L fue significativa (P<0.05), la cual fue del 50 % con respecto al grupo testigo (P<0.05). En 0.2 y 0.4 mg N-NH₃/L la disminución observada, respecto al grupo testigo fue del 4 y del 16 % respectivamente (Tabla 6; Fig. 4B).

A partir del modelo de regresión exponencial $GR \% = 101.12e^{-4.38 (mg\ N-NH_3/L)}$ ($r^2 = 0.86$) se calculó la concentración del nitrógeno amoniacal a la cual se reducirá el crecimiento de las postlarvas en un 50% (CE₅₀) y en un 5% (CE₅). La CE₅₀ y CE₅ así calculadas se estimaron en 0.16 y en 0.014 mg N-NH₃/L, respectivamente (Fig. 5A).

En los juveniles, la CE₅ y la CE₅₀ se calcularon a partir del modelo de tipo cuadrático $GR \% = -101.72 (mg\ N-NH_3/L)^2 + 100.23$ ($r^2 = 0.99$). De tal manera la reducción en el crecimiento de los organismos en un 50 % y 5% respecto al grupo control, se estimó en 0.70 y en 0.20 mg N-NH₃/L. De acuerdo a los resultados obtenidos las postlarvas de *P. setiferus* son más sensibles al efecto crónico del amoníaco que los juveniles de la especie (Fig. 5B).

Cabe señalar que en ambos casos, los modelos utilizados fueron significativos (P<0.05) con coeficientes de determinación (r^2) elevados, mayores de 0.85 (Fig. 5).

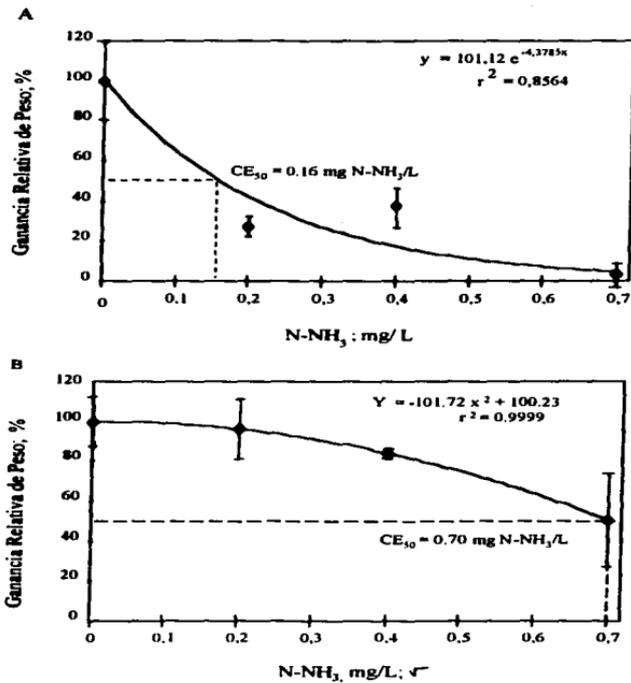


Fig. 5. Ganancia relativa de peso de postlarvas (A) y juveniles (B) de *P. setiferus* expuestos a amoníaco.

DISCUSION

En los organismos acuáticos, el metabolismo respiratorio ha sido frecuentemente considerado un buen indicador de la energía requerida para la actividad fisiológica general (Klekousky y Duncan, 1975). De tal manera, también en postlarvas y juveniles de los camarones peneidos el consumo de oxígeno refleja las demandas energéticas de los organismos por efecto de variaciones en los factores ambientales tales como la temperatura y la salinidad (Venkataramiah *et al.*, 1974; Vanegas, 1992; Chen y Nan 1993; Villarreal y Ocampo, 1993; Villarreal y Rivera, 1993; Villarreal *et al.*, 1994), el oxígeno disuelto (Alcaraz, *et al.*, 1997b; Chen y Nan, 1992b), aspectos nutricionales (Regnault, 1981; Dall y Smith, 1986; Rosas *et al.*, 1995, 1996) al igual que por la presencia de contaminantes en el medio (Chen y Lai, 1992; Chen y Lin, 1992b; Vanegas, 1996 Alcaraz *et al.*, 1997a).

En el presente estudio, la tasa respiratoria ($0.70 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$) de las postlarvas de *Penaeus setiferus* del grupo testigo sin exposición al amonio, fue similar a la reportada para postlarvas de *P. californiensis* ($0.57\text{-}0.81 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Villarreal y Ocampo, 1993), *P. duorarum* y *P. notialis* (0.68 y $0.75 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Rosas *et al.*, 1995) y *P. vannamei* ($0.55\text{-}0.73 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Villarreal, *et al.*, 1994). En contraste, el consumo de oxígeno fue mayor que en postlarvas de *P. setiferus* y *P. schmitti* (0.21 y $0.54 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Rosas *et al.*, 1995) y de *P. californiensis* ($0.50\text{-}0.63 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Villarreal y Rivera, 1993).

En relación a los juveniles de *P. setiferus* sin exposición al amonio, la tasa respiratoria obtenida ($0.51\text{-}0.56 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$) se encuentra dentro de los intervalos reportado para los juveniles de *P. indicus* ($0.39\text{-}0.86 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Kutty *et al.*, 1974), de *P. japonicus* ($0.55\text{-}0.65 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Chen y Nan, 1994) y de *Metapenaeus ensis* ($0.48\text{-}0.52 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Chen y Nan, 1993). En contraste, la tasa respiratoria fue mayor a la obtenida en juveniles de *P. californiensis* ($0.19\text{-}0.45 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Villarreal y Ocampo, 1993) y de *P. chinensis* ($0.46\text{-}0.48 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Chen y Lin, 1992b). Sin embargo, el consumo de oxígeno fue menor al reportado para juveniles de *Penaeus aztecus* ($1.33\text{-}1.83 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$; Venkataramiah *et al.*, 1974), *P. chinensis* ($0.65\text{-}1.48$

mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ PH; Chen *et al.*, 1991; Chen y Nan, 1993), *P. monodon* (0.65-0.75 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ PH; Chen y Nan, 1994) y *P. penicillatus* (0.71 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ PH; Chen y Nan, 1994), y *P. setiferus* (1.1-1.26 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ PH; Martinez, 1996).

En particular, las diferencias observadas entre el consumo de oxígeno obtenido en este estudio en los juveniles de *P. setiferus* y los reportados para el mismo estadio de la especie por Martinez (1996) puede ser debidas a las diferentes condiciones experimentales empleadas en cuanto a la salinidad (35 ‰), al estado nutricional de los ejemplares, dado que el periodo de ayuno fue menor (18 h), así como al peso de los organismos utilizados, el cual fue mayor (200-880 mg PH). Tales variables modifican la tasa respiratoria de una especie, como ha sido frecuentemente señalado en la literatura.

El consumo de oxígeno de los juveniles expuestos 1 h al amoníaco, se redujo en la mayor concentración (0.7 mg N-NH₃/L); sin embargo, la exposición crónica al amoníaco (10d) no modificó la tasa respiratoria. Nuestros resultados difieren al obtenido en juveniles de *P. chinensis* (0.05 g PH) en donde en concentraciones similares de amoníaco (0.08-0.654 mg mg N-NH₃/L) la tasa respiratoria no se vio alterada, en las primeras 6 horas de exposición; sin embargo, al aumentar el periodo de exposición a 20 h, el consumo de oxígeno se incrementó significativamente (Chen *et al.*, 1991). El aumento en el metabolismo aerobio por efecto de la exposición a niveles similares de amonio a las empleadas en el presente estudio, se reporta a partir de 24 h de exposición en juveniles de *P. japonicus* (Chen y Lai, 1992) y de *P. chinensis* (Chen y Nan, 1993). En estas especies el incremento en la tasa respiratoria se relacionó con alteraciones en la excreción nitrogenada y con la acumulación del amonio en la hemolinfa de los camarones.

La alteración en el metabolismo respiratorio, frecuentemente esta asociada al deterioro estructural y funcional de las branquias, responsables del intercambio gaseoso y/o iónico (Pequéux, 1995). En peces se han observado alteraciones histológicas a nivel branquial por la exposición crónica al amonio (Russo, 1984). En camarones pencidos, se sugiere que una vez que el amonio en la hemolinfa excede los niveles tolerables en el medio interno, puede consolidar las lamelas branquiales alterando el intercambio iónico normal (Chen y

Cheng, 1993a). Al respecto Chen y Nan (1992a) señalan el incremento en la actividad enzimática de la ATPasa total y la $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPasa del epitelio branquial al igual que un gasto energético adicional para prevenir la acumulación interna del amonio en *P. chinensis* expuesto en 0.34 mg N-NH₃/L (5.04 mg N-AT/L); sin embargo, a partir de 0.69 mg N-NH₃/L (10.1 mg N-AT/L) la actividad enzimática se inhibe y se incrementa la difusión del amonio al medio interno al igual que el intercambio $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$, ocasionando la acumulación de amonio en hemolinfa por un lado y la pérdida de Na^+ por el otro. Como consecuencia de esta acumulación se han reportado diversas alteraciones en el medio interno de camarones peneidos expuestos 24 h a 0.54-0.59 mg N-NH₃/L (4.6-5.0 mg N-AT/L), concentraciones similares a las utilizadas en el presente estudio. Al respecto, en *P. japonicus* (Chen y Cheng, 1993a) en *P. chinensis* (Chen et al., 1993) y en *P. monodon* (Chen y Cheng, 1993b) se señala la alteración del balance ácido-base de la hemolinfa, la reducción en la concentración de hemocianina y de proteínas en el medio interno, el incremento de aminoácidos libres, así como el incremento de urea en hemolinfa. En peces teleósteos, la exposición prolongada a niveles elevados de amonio causa acidemia progresiva y la disminución en la capacidad de transporte de oxígeno por la hemoglobina (Sousa y Meade, 1977; Jobling, 1994). De tal manera las alteraciones en la tasa respiratoria se relacionan con modificaciones a nivel bioquímico y enzimático.

Contrario a lo esperado, la tasa metabólica de los juveniles de *P. setiferus* por la exposición crónica al amoniacado no fue modificada, aún cuando en las mayores concentraciones, de 0.4 y 0.7 mg N-NH₃/L, se observó la inhibición de la excreción nitrogenada. De tal manera, el probable efecto tóxico del amonio acumulado en el medio interno de los organismos no se ve reflejado en la tasa respiratoria de los camarones. Lo anterior permite sugerir que bajo las condiciones experimentales de este estudio, el consumo de oxígeno en *P. setiferus* no es un buen indicador del efecto adverso del amoniacado, considerando además que el crecimiento si fue alterado por este contaminante. La reducción en la tasa de crecimiento tanto en las postlarvas como en los juveniles de *P. setiferus* puede atribuirse a la disminución de la tasa de ingestión de alimento, comportamiento más evidente en los niveles más elevados del amoniacado ambiental. Si bien no se evaluó el consumo del alimento de los organismos, en tales concentraciones fue evidente el incremento del alimento remanente en

los acuarios experimentales aunado a la disminución de la actividad locomotora de los camarones. Resultados similares han sido reportados en juveniles de *P. setiferus* por la exposición a metales pesados (Vanegas, 1996).

Dado el carácter neurotóxico del amonio (Jobling, 1994; Russo, 1984) es posible que este compuesto cause desórdenes nerviosos relacionados con el nado de los camarones, alterando el comportamiento locomotor y la búsqueda e incorporación del alimento suministrado a los organismos. Al respecto, Alcaraz *et al* (1997c) mencionan que el amonio inhibe la actividad locomotora en postlarvas de *P. setiferus*. Asimismo, el nado errático y la disminución en la actividad natatoria por efecto del amonio ha sido documentado en peces teleosteos (Jobling, 1994; Russo, 1984).

La tasa de excreción nitrogenada ($40.2\text{--}45.3 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PH}$) obtenida en los juveniles de *P. setiferus* del grupo testigo, fue menor que la reportada para juveniles de *P. chinensis* ($70 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{PH h}^{-1}$; Chen y Nan, 1993) y mayor que la mencionada en juveniles de *P. chinensis*, *P. japonicus*, *P. monodon* y *P. penicillatus* (19, 27, 23 y 21 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PH}$; Chen y Nan, 1994) y mayor a la obtenida en juveniles de la misma especie ($26.2\text{--}34.9 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PH}$; Martinez, 1996). Tales diferencias intraespecíficas pueden atribuirse a las condiciones experimentales consideradas como fue señalado con anterioridad.

En el presente estudio, en los juveniles de *Penaeus setiferus* la excreción nitrogenada no se modificó por la exposición a $0.2 \text{ mg N-NH}_3/\text{L}$ (2.3 mg N-AT/L); sin embargo a partir de $0.4 \text{ mg N-NH}_3/\text{L}$ (4.7 mg N-AT/L) se observó la inhibición de la excreción nitrogenada, independientemente del tiempo de exposición. Estos resultados sugieren que esta concentración supera la concentración interna del amonio en hemolinfa, dando lugar a la difusión del amonio externo al medio interno y en consecuencia a la acumulación de este compuesto en la hemolinfa de los organismos como ha sido reportado en otros crustáceos.

Chen y Kou (1991) señalan que tanto el NH_3 como el NH_4^+ externo afectan la acumulación del amonio en la hemolinfa de *P. japonicus*, dado que una vez que el NH_3 difunde del medio

externo a la hemolinfa, ocurre un reajuste en el equilibrio entre el NH_3 y NH_4^+ ambiental, difundiendo continuamente el NH_3 al medio interno de los camarones. Al respecto, los autores señalan que en *P. japonicus* (13.9 ± 0.65 g PH) la difusión del NH_3 del medio externo a la hemolinfa ocurre a partir de dos horas de exposición y desde 0.69 mg $\text{N-NH}_3/\text{L}$ (10 mg N-AT/L), niveles mayores que los de la hemolinfa de los camarones, ocasionando la acumulación del amonio en el medio interno. De tal manera, los niveles normales de amonio en hemolinfa (3.0 - 4.45 mg N-AT/L) se incrementaron hasta 11.23 mg N-AT/L por la exposición de 16 h en 0.69 mg $\text{N-NH}_3/\text{L}$.

La inhibición en la excreción nitrogenada por efecto del amonio ambiental también ha sido documentada en juveniles de *P. chinensis* en niveles mayores de 10 mg N-AT/ (Chen y Lin, 1992b) y en *P. monodon* a partir de 4.63 mg N-AT/L (Chen y Cheng, 1993b). Chen y Nan (1992a) reportan la inhibición en la excreción de amonio en *P. chinensis* a partir de 10 mg N-AT/L , con la inhibición de la actividad de la $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPasa. Esta enzima desempeña en los camarones un papel importante en el intercambio $\text{Na}^+\text{-NH}_4^+$ (Mangum y Taule, 1977; Pequeux, 1995). La acumulación del amonio detectada en la hemolinfa de los camarones se atribuye a la inversión del intercambio $\text{Na}^+\text{/NH}_4^+$, con la consecuente pérdida de Na^+ . De tal manera, tanto la difusión del NH_3 como la entrada de NH_4^+ en intercambio con Na^+ contribuye a la acumulación interna del amonio.

En *P. monodon* (Chen et al., 1994; Chen y Cheng, 1993b) y en *P. japonicus* (Chen y Chen, 1993a) expuestos a amonio, se plantea el del patrón de excreción de amoniotético a ureotético a partir de concentraciones externas de 0.35 mg $\text{N-NH}_3/\text{L}$ (5 mg N-AT/L). En los juveniles de *P. setiferus* es probable que este mecanismo de desintoxicación del amoniaco opere a partir de 0.4 mg $\text{N-NH}_3/\text{L}$ en donde se observó la mayor inhibición de la excreción nitrogenada y en consecuencia la probable mayor acumulación de amonio en la hemolinfa. Sin embargo, la eficiencia de este mecanismo puede verse modificado por el tiempo de exposición tomando en consideración que en los juveniles expuestos durante 10 días a 0.7 mg $\text{N-NH}_3/\text{L}$ la excreción nitrogenada permaneció inhibida, mientras que en los organismos expuestos 1 h a la misma concentración de amoniaco la excreción de amonio se restableció.

En crustáceos, se desconoce si la urea es formada a través del ciclo de la urea, la ruta uricolítica o una reacción inversa entre la urea y el amonio. Chen y Cheng (1993 a y b) sugieren que la urea puede ser formada a partir de la utilización del CO₂ metabólico y el amonio interno vía la ureasa. En contraste, Haulon (1975) reporta que la capacidad de los crustáceos de excretar urea se relaciona con elevados niveles de arginasa en el hepatopáncreas acoplados con una baja actividad de ureasa; de tal manera, el amoniotelismo es favorecido cuando los niveles de ureasa son elevados. Al respecto, Hochachka (1988) señala que a pesar de que en los crustáceos no se ha detectado la presencia de todas las enzimas involucradas en el ciclo de la urea, la arginasa puede ser una enzima clave en la formación de urea de estos organismos.

Cabe señalar que si bien los peneidos expuestos a elevadas concentraciones de amonio utilizan como mecanismo de desintoxicación la formación y excreción de un compuesto nitrogenado menos tóxico como es la urea, su síntesis involucra un mayor costo energético que la formación de amonio (Hochachka, 1988; Hill y Wyse, 1990). Por lo tanto si en los juveniles de *P. setiferus* opera este proceso, éste no se ve reflejado en la tasa respiratoria de los camarones.

El costo energético asociado al mantenimiento de la homeostasis interna del organismo puede repercutir en última instancia en la reducción del crecimiento, además por ser un proceso que involucra numerosas respuestas fisiológicas, ha sido considerado como un indicador de cuan adecuado es el desarrollo de un organismo ante las variaciones ambientales, incluidos los contaminantes (Venkataramiah *et al.*, 1974; Vanegas, 1992; Espina y Vanegas, 1996).

En los juveniles de *P. setiferus*, del grupo testigo, la tasa de crecimiento (8.22 mg PH d⁻¹) fue menor que el reportado para el mismo estadio de *P. monodon* y *Metapenaeus macleayi*, (21.8, 250 mg PH d⁻¹; Allan *et al.*, 1990), *P. penicillatus*, (100 mg PH d⁻¹; Chen y Lin, 1991b) y *P. vannamei* (99 mg PH d⁻¹; Sandifer *et al.*, 1993). Asimismo, el crecimiento de los juveniles de *P. setiferus* fue menor al reportado para la especie por Martínez (1996)

y por Sandifer *et al.*, (1993) con valores de 16.3-20.7 mg PH d⁻¹ y de 103 mg PH d⁻¹, respectivamente. Las diferencias observadas pueden atribuirse a la mayor densidad de organismos utilizadas (72 ind/m²) así como al mayor periodo experimental de evaluación (10 d), toda vez que Martínez (1996) y Sandifer (1993) consideraron 50 días y 145 días, respectivamente.

De manera evidente, el crecimiento de las postlarvas y los juveniles de *P. setiferus*, se redujo al incrementarse las concentraciones externas de amonio. La reducción en la tasa de crecimiento tanto en las postlarvas como en los juveniles de *P. setiferus* puede atribuirse a la disminución de la tasa de ingestión de alimento, comportamiento más evidente en los niveles más elevados del amoniaco ambiental. Si bien no se evaluó el consumo del alimento de los organismos, en tales concentraciones fue evidente el incremento del alimento remanente en los acuarios experimentales aunado a la disminución de la actividad locomotora de los camarones. Resultados similares han sido reportados en juveniles de *P. setiferus* por la exposición a metales pesados (Vanegas, 1996).

Dado el caracter neurotóxico del amonio (Jobling, 1994; Russo, 1984) es posible que este compuesto cause desórdenes nerviosos relacionados con el nado de los camarones, alterando el comportamiento locomotor y la búsqueda e incorporación del alimento suministrado a los organismos. Al respecto, Alcaraz *et al* (1997c) mencionan que el amonio inhibe la actividad locomotora en postlarvas de *P. setiferus*. Asimismo, el nado errático y la disminución en la actividad natatoria por efecto del amonio ha sido documentado en peces teleósteos (Jobling, 1994, Russo, 1984).

En postlarvas de *P. monodon*, la exposición durante 16 días en niveles de 3 mg/L de amonio total retardan el crecimiento y disminuyen la sobrevivencia de los organismos (Noor-Hamid *et al.*, 1994). En larvas y postlarvas de *P. indicus* expuestos por 9 días al amonio, la reducción del crecimiento en un 50% (CE₅₀) se reporta en 0.25 mg N-NH₄/L (Jayasankar y Muthu, 1983), la cual es mayor a la obtenida en este estudio en las postlarvas de *P. setiferus* (CE₅₀=0.16 mg N-NH₄/L) expuestas por 5 días al amonio. Por otra parte, a partir de pruebas de toxicidad aguda al amonio en postlarvas, se proponen

niveles de seguridad para *P. paulensis* de 0.032 mg N-NH₃/L (Ostrensky *et al.*, 1992) y para *P. chinensis* de 0.04 mg N-NH₃/L (Chen y Lin, 1991a). Estas concentraciones son mayores que la CE₅ de 0.014 mg N-NH₃/L obtenida en postlarvas de *P. setiferus*, en la cual se redujo el crecimiento en un 5%. Estos resultados sugieren que el efecto tóxico del amonio en las postlarvas de *P. setiferus* es mayor que en otras especies de peneidos. Asimismo, la CE₅ obtenida sugiere que bajos niveles de amonio en el medio externo, aun por cortos periodos de exposición, alteran el crecimiento de las postlarvas de *P. setiferus* en mayor magnitud que en otras especies.

En los juveniles de *P. setiferus* con exposición de 10 días, la CE₅₀ de amoniaco (0.70 mg N-NH₃/L) fue similar a la obtenida por exposiciones de 56 días al amonio en juveniles de *P. penicillatus* (0.76 mg N-NH₃/L; Chen y Lin 1992a) y de 21 días tanto en *P. schmitti* (0.69 mg N-NH₃/L) como en *M. macleayi* (0.67 mg N-NH₃/L; Allan *et al.*, 1990), pero menor a la reportada para *P. monodon* (1.06 mg N-NH₃/L) en periodos similares de exposición crónica al amoniaco (Allan *et al.*, 1990). En contraste, la CE₅₀ de 21 días reportada para juveniles de *P. japonicus*, *P. occidentalis* y *P. semisulcatus* (0.37, 0.40 y 0.22 mg N-NH₃/L; Wickins, 1976) es menor a la obtenida en este estudio.

De manera general Wickins (1976) establece como nivel de seguridad para el crecimiento adecuado de los peneidos en sistemas de cultivo, concentraciones de 0.09-0.11 mg N-NH₃/L, los cuales reducen de 1 al 2 % el crecimiento de los organismos (CE₁₋₂). Allan *et al.* (1990) sugieren niveles aceptables de amonio, asociados con la reducción del crecimiento del 5% (CE_{5-21d}) en juveniles de *P. monodon* y de *M. macleayi*, de 0.21 y 0.35 mg N-NH₃/L. Niveles similares de concentraciones máximas aceptables (CMA) al amonio se reportan para juveniles de *P. penicillatus* (0.36 mg N-NH₃/L) para exposición de 56 días (Chen y Lin, 1992a) y de 0.35 y < 0.35 mg N-NH₃/L para *P. japonicus* en exposiciones de 30 y 50 días, respectivamente (Chen y Kou, 1992). Tales concentraciones son similares o mayores a la CE₅₀ a la CE₅ obtenida en los juveniles de *P. setiferus* (0.2 mg N-NH₃/L) por la exposición de solo 10 días al amoniaco.

De tal manera, los resultados obtenidos de la CE₅₀ y la CE₅ sugieren que los juveniles de *P. setiferus* son más sensibles a la presencia del amoníaco en el medio externo que otras especies de peneidos. Asimismo, la CE₅ para postlarvas (0.014 mg N-NH₃/L) y para juveniles (0.2 mg N-NH₃/L) puede considerarse como la concentración máxima aceptable en sistemas de cultivo en peneidos de 5 y 10 d respectivamente, sin una alteración significativa en el crecimiento de los camarones.

A partir de los resultados obtenidos en el presente estudio es posible señalar que las postlarvas de *P. setiferus* son más sensibles a la acción tóxica del amonio que los juveniles. Lo anterior también ha sido reportado en *P. indicus*, donde la tolerancia al amonio aumenta progresivamente al incrementar el desarrollo ontogenético de los organismos (Jayasankar y Muthu, 1983). Resultados similares por el efecto tóxico agudo del amonio ha sido documentado en *P. chinensis*, *P. paulensis* y *P. japonicus* (Chen y Lin, 1991a; Ostrensky *et al.*, 1992; Lin *et al.*, 1993; Ostrensky y Wasielesky, 1995).

Los resultados obtenidos en el presente estudio, sugieren que en sistemas de cultivo de *P. setiferus* deben de mantenerse los niveles aceptables de amonio (CE₅) a fin de asegurar el desarrollo y crecimiento de los organismos. Sin embargo, debe de tomarse en consideración la evaluación del efecto de factores externos tales como la temperatura, la salinidad, el pH y el oxígeno disuelto, los cuales modifican la acción tóxica del amonio (Whitfield, 1974; Alcaraz *et al.*, 1997b; Allan *et al.*, 1990).

Así mismo, se propone la realización de estudios subletales que contemplen la evaluación de respuestas bioquímicas, que junto con las fisiológicas, permitirán establecer los sitios de acción tóxica del amonio así como los mecanismos que operan en los organismos para mantener su homeostasis.

CONCLUSIONES

- * El consumo de oxígeno de las postlarvas de *Penaeus setiferus* expuestos durante 1 h a concentraciones subletales de amoníaco, no es alterado por este contaminante. En contraste, la exposición de 1 h a la mayor concentración de 0.7 mg N-NH₃/L, reduce la tasa respiratoria de los juveniles. Sin embargo, la exposición crónica de 10 d al amonio no modifica el consumo de oxígeno de este estadio. Al considerar las alteraciones observadas en la excreción nitrogenada y en la tasa de crecimiento de los organismos, se sugiere que el consumo de oxígeno no es un buen indicador del estado fisiológico de estos pecidos, bajo las condiciones experimentales en las que se realizó este estudio.
- * La excreción de amonio de los juveniles de *P. setiferus* se inhibe en 0.4 mg N-NH₃/L independientemente del tiempo de exposición, originando probablemente una acumulación del amonio en los organismos.
- * En los juveniles de *P. setiferus* expuestos durante 1 h a la mayor concentración de amoníaco (0.7 mg N-NH₃/L) la tasa de excreción de amonio se incrementa significativamente en relación al grupo control. En contraste, en esta concentración la exposición crónica a 10 d inhibe esta tasa fisiológica de manera similar a la registrada en 0.4 mg N-NH₃/L.
- * El crecimiento de las postlarvas y los juveniles se reduce al aumentar la concentración externa de amoníaco. Las concentraciones a las cuales el crecimiento de los camarones se reduciría en un 5% (CE₅) y 50% (CE₅₀), respecto al grupo testigo, se estimaron en 0.014 y 0.16 mg N-NH₃/L para postlarvas y en 0.2 y 0.7 mg N-NH₃/L para juveniles, respectivamente.
- * Las postlarvas son más sensibles que los juveniles de *P. setiferus* a la acción tóxica del amoníaco.

LITERATURA CITADA.

- Alcaraz, Z., G., X. Chiappa, V. Espinoza and C. Vanegas. 1997a. Acute toxicity of ammonia and nitrite in *Penaeus setiferus* postlarvae. *J. World Aquacult. Soc.* (en prensa).
- Alcaraz, G., V. Espinoza, X. Chiappa and C. Vanegas. 1997b. Acute effect ammonia and nitrite on respiration of *Penaeus setiferus* postlarvae under decreasing oxygen conditions. *Aquat. Toxicol.* (en prensa).
- Alcaraz, G., X. Chiappa and C. Vanegas. 1997c. Temperature tolerance of *Penaeus setiferus* postlarvae exposed to ammonia and nitrite. *Aquat. Toxicol.* (aceptado).
- Allan, G. and G. Maguire. 1991. Lethal levels of low dissolved oxygen and effects of short-term oxygen stress on subsequent growth of juveniles *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. 94:27- 37.
- Allan, G. L., G.B. Maguire and S.J. Hopkins. 1990. Acute and chronic of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. *Aquaculture*. 91: 265-280.
- Arena, L. 1995. Estudio morfológico genético-bioquímico de dos poblaciones del camarón blanco *Penaeus setiferus* del Golfo de México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM: 45pp.
- Arredondo, S. 1990. Análisis del cultivo del camarón en México al término de 1989 p. 77-104. In: De la Lanza-Espino y S. Arredondo (Eds.) *La Acuicultura en México: de los conceptos a la producción*. Instituto de Biología, UNAM, México.
- Bower, C.E. and J. P. Bidwell. 1978. Ionization of ammonia in seawater: Effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish. Res. Board Can.* 35:1012-1016.
- Busacker, G. P., I. R. Adelman and E. M. Goolish. 1990. Growth. p. 363- 387. In: Schreck C. B. and P. B. Moyle (Eds.) *Methods for Fish Biology*. Am. Fish. Soc. U. S. A.
- Cech, J. J. 1990. Respirometry. p. 335-362. In: Schreck, C. B. y P. B. Moyle (Eds.) *Methods for Fish Biology*. Am. Fish. Soc. U. S. A.
- Chen, J. and C. T. Chen. 1996. Changes of osmotic and electrolyte concentrations in the haemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.* 114 (1): 35-38.
- Chen J. C. and S. Y. Cheng. 1993a. Haemolymph osmolality, acid-base balance and shift of ammonotelic to ureotelic excretory pattern of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.* 106 (3): 733-737.
- Chen, J. C. and S. Y. Cheng. 1993b. Hemolymph PCO₂, hemocyanin, protein levels and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquat. Toxicol.* 27: 281-292.
- Chen J. C.; C. T. Chen and S. Y. Cheng. 1994. Nitrogen excretion and changes of haemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 110: 85-94.
- Chen J. C., F. H. Cheng, S. Y. and Sheen, S. S. 1993. Effects of ambient ammonia on ammonia-N and protein concentrations in hemolymph and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 98: 203-208.

- Chen, J. C., T. S. Chin and C. K. Lee. 1986. Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp *Penaeus monodon*, p. 657-662. In: J. L. Maclean, L. B. Dizon and L. V. Hosiillos (Eds.) *The First Asian Fisheries Forum*. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Chen, J.C. and Y. Z. Kou. 1991. Accumulation of ammonia in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Dis. Aquat. Org.* 11: 187-191.
- Chen, J.C. and Y. Z. Kou. 1992. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus japonicus* juveniles. *Aquaculture*. 104: 249-260.
- Chen J. C. and C. Y. Lin. 1991a. Lethal doses of ammonia on *Penaeus chinensis* larvae. *Bull. Inst. Zool. Acad. Sin.* 30 (4): 289-297.
- Chen J. C. and C. Y. Lin. 1991b. Lethals and sublethals effects of ammonia to *Penaeus penicillatus* juveniles. *Bull. Inst. Zool. Acad. Sin.* 30 (2): 73-80.
- Chen, J. C. and C. Lin. 1992a. Effect to ammonia on growth os *Penaeus penicillatus* juveniles. *Comp. Biochem. Physiol.* 101C (3): 449-452.
- Chen, J. C. and C. Y. Lin. 1992b. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* juveniles exposed to ambient ammonia at different salinity levels. *Comp. Biochem. Physiol.* 102 C (2): 287-291.
- Chen J. C. and S. Lai. 1992. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus japonicus* adolescents exposed to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.* 102C(1):129-133.
- Chen, J. C., P. C. Liu and Y. T. Lin. 1988. Super intensive culture of red-tailed shrimp *Penaeus penicillatus*. *J Word Aquac. Soc.* 19(3): 127-131.
- Chen, J. C., F. N. Nan and C. M. Kou. 1991. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of prawns (*Penaeus chinensis*) exposed to ambient ammonia. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21: 377-382.
- Chen, J. C. and F. H. Nan. 1992a. Effect of ambient ammonia on ammonia-N excretion and ATPase activity of *Penaeus chinensis*. *Aquat. Toxic.* 23: 1-10.
- Chen, J. C. and F. H. Nan. 1992b. Effects of temperature, salinity and ambient ammonia on lethal dissolved oxygen of *Penaeus chinensis* juveniles. *Comp. Biochem. Physiol.* 101C(3): 459-461.
- Chen, J. C. and F. H. Nan. 1993. Effects of ammonia on oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* after prolonged exposure to ammonia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 122-129.
- Chen, J. C. and F. H. Nan. 1994. Comparisons of oxygen consumption and ammonia-N excretion of five penaeids. *J. Crust. Biol.* 14 (2): 289-294.
- Dall W. and D. M. Smith. 1986. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns, *Penaeus esculantus* Haswell. *Aquaculture*. 55: 23-33.
- Espin S. y C. Vanegas. 1996. Ecotoxicología y contaminación. p. 69-106. *Er: Botello, A. V., J. L. Rojas-Galaviz, J. A. Benitez-Torres y D. Z. Zárate-Lomeli (Eds.) Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental. Diagnóstico y tendencias*. EPOMEX Serie Científica 5. UACH. Campeche, México.
- Gómez E. y G. de la Lanza. 1992. *Análisis del estado de la camaronicultura en México hasta el año de 1991*. UNAM. México. 48pp.
- Gaxiola, G. 1994. Requerimientos nutricionales de postlarvas y juveniles de *Penaeus setiferus* y *P. duorarum* (Crustacea: Penaeidae). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM. 110 pp.

- Gracia, G. A. and J. A. Soto. 1990. Populations study of the penaeid shrimp of Terminos Lagoon, Campeche, México. *An. Inst. Cienc. Mar y Limnol. Univ. Nat. Autón. México.* 17 (2): 241-255.
- Haulon D. P. 1975. The distribution of arginasa and ureasa in marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 52B: 261-264.
- Hill R. W. 1990. *Comparative Physiology of Animals: an environmental approach.* Harper & Row, Pub. N. Y., U.S.A. 656pp.
- Hochachka S. 1988. *Strategies of Biochemical Adaptation.* Cambridge University Press. Great Britain. 358 pp.
- INEGI. 1991. *Datos básicos de la geografía de México.* INEGI. México. 46 pp.
- Jayasankar, P. and M. S. Muthu. 1983. Toxicity of ammonia to the larvae of *Penaeus indicus* H. Milne Edwards. *Indian J. Fish.* 30 (1): 1-12.
- Jobling M. 1994. *Fish Bioenergetics.* Chapman & Hall. Londres. G. B. 309 pp.
- Klekowsky, R. Z. and A. Duncan. 1975. Physiological approach to ecological energetics. p. 15-64. *In:* Grodinsky, W.; R. Z. Klekowsky and A. Duncan (Eds.). *Methods for Ecological Bioenergetics.* Blackwell Sci. Publ. Oxford.
- Kormarik, G. A. and J. N. Cameron. 1981. Ammonia excretion in the seawater blue crab (*Callinectes sapidus*) occurs by diffusion, and not Na⁺/NH₄⁺ exchange. *J. Comp. Physiol.* 141: 457-462.
- Kutty M. N., Murugapopathy G. and Krishnan T. S. 1974. Influence of salinity on the consumption in young juveniles of the Indian prawn *Penaeus indicus*. *Mar. Biol.* 11: 125-131.
- León T., Gaxiola G., Rosas C., Sánchez A., Ramos L., Soto L. A., Durruti C., López N. y Ramirez H. 1992. Efecto del color de la luz sobre la maduración de hembras de camarón blanco *Penaeus setiferus* y del camarón rosado *Penaeus duorarum* parcialmente ooclectomizadas. *IX Congreso Nacional de Oceanografía.* Veracruz, Ver.
- Lin H. P., P. Thuet, J. P. Trilles, R. Mouret-Guillaume, G. Charmantier. 1993. Effects of ammonia on survival and osmoregulation of various development stages of the shrimp *Penaeus japonicus*. *Mar. Biol.* 117: 591-598.
- Mangum, C. and D. Towle. 1977. Physiological adaptation to unstable environments. *Am. Sci.* 65:67-75.
- Molina, H., G. Alcaraz, X. Chiappa y C. Vanegas. 1997. Efecto del ayuno en el metabolismo de postlarvas de *Penaeus setiferus*. *XIV Congreso Nacional de Zoología.* Guanajuato, Gto.
- Martinez, G. J. E. 1996. Condiciones para el crecimiento del camarón blanco *Penaeus setiferus*: Modelos para su cultivo. Tesis Doctoral (Biología) Fac. Ciencias, UNAM. 95 pp.
- Noor-Hamid, S., R. D. Fortes and F. Parado-Esteva. 1994. Effect of pH and ammonia on survival and growth of the early larval stages of *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture.* 125: 67-72.
- Ostrensky, A., M. A. Marchioni and L. H. Poersch. 1992. Toxicidade aguda da amônia no processo produtivo de pós-larvas de *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *An. Acad. bras. Ci.* 64 (4): 383-389.
- Ostrensky, A. and W. Wasielesky Jr. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Sao Paulo shrimp *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *Aquaculture.* 132: 339-347.

- Péqueux A. 1995. Osmotic regulation in crustaceans. *J. Crust. Biol.* 15(1):1-60.
- Regnault M. 1981. Respiration and ammonia excretion of the shrimp *Crangon crangon* L.: Metabolic response to prolonged starvation. *J. Comp. Physiol.* 141: 549-555.
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. *Biol. Rev.* 62: 1-24.
- Rivera-Monroy V. H., J. W. Day, R. R. Twiley, F. Vera Herrera and C. Coronado-Molina. 1995. Flux of nitrogen and sediment in a fringe mangrove forest in Terminos Lagoon, México. *Est. Coast. and Shelf Sci.* 40: 139-160.
- Rodier, J. 1981. *Analisis de las Aguas*. Omega. Barcelona. 504 pp..
- Rosas, C., A. Sánchez, Escobar E., Soto L. A. and Bolongaro-Crevanna A. 1992. Dagli variations of oxygen consumption and glucose hemolymph level related to morphophysiological and ecological adaptations of crustacea. *Comp. Biochem. Physiol.* 101A(2):323-328.
- Rosas, C., A. Sánchez, E. Díaz, L. A. Soto, G. Gaxiola, R. Brito, M. Baes and R. Pedroza. 1995. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effect of protein level on substrate metabolism. *Aquat. Living Resour.* 8: 161-169.
- Rosas C., A. Sánchez, E. Díaz, L.A. Soto, G. Gaxiola and R. Brito. 1996. Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum*, and *P. notialis* postlarvae. *J. World Aquac. Soc.* 27(1): 92-102.
- Russo R. C. 1984. Ammonia, nitrite and nitrate. p. 455-474. In: Rand, G. and S. Petrocelli (Ed.). *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Hemisphere Pub. Co. N.Y.
- Sánchez, A. J. and L. A. Soto. 1987. Camarones de la superfamilia Penaeoidea (Rafinesque, 1815). distribuidos en la plataforma continental del suroeste del Golfo de México. *An. Inst. Cienc. Mar y Limnol. Univ. Nac. Auton. México.* 14(2): 157- 180.
- Sanders, N. K., S. Morris, J. J. Childress and B. R. Mc Mahon. 1992. Effects of ammonia, trimethylamina, L-Lactate and CO₂ on some decapod crustacean haemocyanins. *Comp. Biochem. Physiol.* 101A (3): 511-516.
- Sandifer, P. A. , J. S. Hopkins, A. D. Stokes and C. L. Browdy. 1993. Preliminary comparison of the native *P. setiferus* and Pacific *P. vannamei* white shrimp for pond culture in South Carolina, U. S. A. *J. World. Aquac. Soc.* 24 (3): 295-303.
- Sousa R. J. and T. L. Meade. 1977. The influence of ammonia on the oxygen delivery system of coho salmon haemoglobin. *Comp Biochem. Physiol.* 58A: 23-28.
- Vanegas C. 1996. Efectos subletales del cadmio y zinc en el camarón blanco *Penaeus setiferus*. Tesis de Doctorado en Ciencias (biología). Facultad de Ciencias, UNAM. 118 pp.
- Vanegas, C. 1992. Efecto de la salinidad y de la temperatura sobre el balance energético de juveniles del camarón café *Penaeus aztecus* Ives (Crustacea, Decapoda). Tesis de Grado en Biología. Facultad de Ciencias, UNAM. 85 pp.
- Venkataramiah, A., G. J. Lakshmi and G. Gunter. 1974. Studies on the effects of salinity and temperature on the commercial shrimp, *Penaeus aztecus* Ives, with special regard to survival limits, growth, oxygen consumption and ionic regulation. Series: U.S. waterways experiment station, Vicksburg, Miss. U. S. A. 130 pp.
- Villarreal H. and L. Ocampo. 1993. Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis* (Holmens, 1990). *Comp Biochem. Physiol.* 106A (1). 97-101

- Villarreal, H., P. Hinojosa and J. Naranjo. 1994. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. *Comp Biochem. Physiol.* 108A: 331-336.
- Villarreal, H. and J. A. Rivera. 1993. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. *Comp Biochem. Physiol.* 106A (1): 103-107.
- Whitfield, M. 1974. The hidrolisis of amonium ions in sea water. A theoretical study. *J. Mar. Biol. Ass U. K.* 54: 565-580.
- Wickins, J. F. 1976. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture*.9: 19-37.
- Wright, P. A. 1995. Nitrogen excretion: Three end products, many physiological roles. *J. Exp. Biol.* 198: 273-281.
- Zar, J. 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. N. Y. 620 pp.