

00361

7

2-4



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EFFECTO TOXICO AGUDO DE COMPUESTOS  
NITROGENADOS Y NIVELES LIMITANTES DE  
OXIGENO EN POSTLARVAS DE CAMARON BLANCO  
*Penaeus setiferus* (Linnaeus, 1767)

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS  
P R E S E N T A :  
VERONICA / ESPINOSA LEMUS

DIRECTOR DE TESIS: DRA. GUILLERMINA ALCARAZ ZUBELDIA.

MEXICO, D. F.

AGOSTO 1998

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

264670



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 fue realizado el Laboratorio de Ecofisiología de la  
Facultad de Ciencias de la  
Universidad Nacional Autónoma de México  
bajo la dirección de la Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldia.

## DEDICATORIA

A mis padres por su confianza y amor

A Monzerrath por la alegría que me da cada día

A Ana por su apoyo incondicional

A Paty por que siempre esta dispuesta a escucharme

A Guille por ser como es

Verónica Espinosa Lemus.

**A mi Familia**

## Agradecimientos

A la Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldía por la dirección del presente trabajo, su paciencia y por haberme dado la oportunidad de trabajar en el proyecto.

A la Dra. Cecilia Vanegas Pérez por sus constantes correcciones y apoyo incondicional para la revisión de este trabajo.

Al Dr. Xavier Chiappa Carrara por sus valiosas aportaciones a este trabajo

A la Dra. Sonia Espina por compartir su conocimiento

A todos los miembros del jurado Dra. Elva Escobar Briones. Dr. Rene de Jesús Cárdenas Vázquez, Al Dr. Carlos Rosas Vázquez y a la Dra. Patricia Ramírez Romero. A todos ellos gracias por sus valiosas aportaciones y sugerencias

Al M. en C. Alvaro De Tomas por sus importantes sugerencias a este escrito de tesis

A mis compañeros del Laboratorio de Ecofisiología: Catalina Maldonado, Aurora Fierro, Fabián Contreras, Gaby Palomino y Cristina Pascual y muy especialmente a mis compañeros del grupo de trabajo que me apoyaron en la parte experimental Ceci Robles, Hugo Molina y Luz Elvira Piña.

Al Dr. Carlos Rosas Vázquez, Dra. Gabriela Gaxiola y M. en C. Adolfo Sánchez por haber proporcionado los organismos utilizados en esta tesis.

A mis amigos Alejandra Soto y Alfonso Bezares por sus constantes ánimos para la conclusión de esta tesis.

A Fabián Palacios por su amistad.

Al proyecto PÁPIT IN 204295 del cual forma parte el presente trabajo

Al CONACYT porque gracias a su apoyo he concluido mis estudios de maestría.

## RESUMEN

### EFFECTO TOXICO AGUDO DE COMPUESTOS NITROGENADOS Y NIVELES LIMITANTES DE OXIGENO EN POSTLARVAS DE CAMARON BLANCO

*Penaeus setiferus*.

El camarón blanco *Penaeus setiferus* es una especie que habita en el Golfo de México. Se ha considerado que esta especie es susceptible de ser cultivada debido principalmente a la talla comercial que alcanza y a su elevada tasa de crecimiento. De aquí se desprende la importancia de evaluar en postlarvas de esta especie el efecto de algunas condiciones ambientales.

En particular en los sistemas de cultivo, la acumulación de amoníaco y nitrito así como bajas concentraciones de oxígeno disuelto son algunos de los principales factores limitantes de la producción acuícola. El objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad aguda del amoníaco y del nitrito en las postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* y estimar los cambios respiratorios como resultado de la exposición a diferentes niveles de oxígeno (5 a 1 mg O<sub>2</sub>/L) en combinación con diferentes concentraciones subletales de amoníaco y nitrito.

El efecto tóxico agudo del amoníaco y del nitrito se evaluó mediante bioensayos de tipo estático. Las concentraciones letales medias (CL<sub>50</sub>) de las postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* fueron 1.55, 1.20 y 1.11 mg N-NH<sub>3</sub>/L correspondientes a 14.72, 9.51 y 9.01 mg de N-amonio total/L (NH<sub>3</sub>+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y las de nitrito fueron 279, 240 y 167 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L a las 24, 48 y 72 h, respectivamente. Se observó que las CL<sub>50</sub> tanto del amoníaco como del nitrito decrecen con el tiempo de exposición. Los resultados obtenidos demuestran que las postlarvas de *P. setiferus* son más tolerantes al amoníaco y al efecto tóxico del nitrito que otras especies de penéidos como *P. paulensis*.

Con respecto a los experimentos en diferentes niveles de oxígeno disuelto y concentraciones subletales de amoníaco y nitrito, en los organismos del grupo control se observó un comportamiento oxirregulador en un intervalo de 5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L y oxiconformador entre 3 y 1 mg O<sub>2</sub>/L. La tasa respiratoria de las postlarvas expuestas a 0.4 mg N-NH<sub>3</sub>/L fue similar a la de las postlarvas del grupo control. En las postlarvas expuestas a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub>/L, la tasa respiratoria disminuyó significativamente y en combinación con 2 mg O<sub>2</sub>/L resultó letal para los organismos.

Con relación al nitrito, las postlarvas expuestas a 5 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L presentaron un comportamiento oxirregulador y oxiconformador similar al grupo control. Las postlarvas expuestas a 10 y 17.5 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L presentaron un comportamiento respiratorio similar entre sí, observando una reducción significativa en el consumo de oxígeno entre 5 y 3 mg O<sub>2</sub>/L en el medio; sin embargo en 2 mg O<sub>2</sub>/L el consumo de oxígeno se incrementó. En estas concentraciones de nitrito la tasa respiratoria de las postlarvas no presentó diferencias significativas con respecto a los organismos control en 1 mg O<sub>2</sub>/L.

Se propone que en los sistemas de cultivo de *P. setiferus* se deberá procurar que los niveles de amoníaco y nitrito no sean mayores de 0.4 mg N-NH<sub>3</sub>/L y 5 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L y menores a 3 mg O<sub>2</sub>/L. Así mismo se sugiere que la exposición a amoníaco y nitrito puede resultar de alto riesgo para la producción cuando la concentración de oxígeno disminuye.

## INDICE

	PAG.
Resumen	
I. Introducción.....	1
II. Objetivos .....	9
III. Material y Método.....	10
A Obtención y mantenimiento de postlarvas.....	10
B Bioensayos de toxicidad aguda.....	11
C. Respuestas respiratorias.....	13
IV. Resultados.....	18
A. Bioensayos de toxicidad aguda.....	18
B. Respuestas respiratorias.....	25
V. Discusión.....	30
VI. Conclusiones.....	40
VII. Literatura citada .....	41

## I. INTRODUCCION

En los últimos años la camaronicultura ha sido considerada como una actividad económica altamente rentable que se ha desarrollado intensivamente en las costas de México, constituyendo una práctica alternativa a las pesquerías. La producción pesquera de camarón en el año de 1996 en el Pacífico mexicano fue de 57,429 toneladas y en el Golfo de México y el Caribe de 21,450 toneladas. La producción total de camarón correspondiente a la acuicultura, fue de 13,315 toneladas, de las cuales 12,783 toneladas corresponden al Pacífico mexicano y 532 corresponden al Golfo de México y el Caribe mexicano (SEMARNAP, 1995).

En el Golfo de México, la captura de camarón involucra varias especies entre las cuales destacan, por su talla y volumen de captura, el camarón rosado *Penaeus duorarum* (61%), el camarón café *Penaeus aztecus* (21%) y el camarón blanco *Penaeus setiferus* (18%) (Arredondo, 1990) En esta región, el cultivo del camarón blanco *P. setiferus* es considerado como una alternativa de desarrollo camaronícola debido a que cumple con diversas características que garantizan su elevada producción con respecto a otras especies. Entre éstas, destacan su tolerancia a condiciones de cultivo, resistencia a enfermedades, capacidad para reproducirse en cautiverio, disponibilidad de semilla para los sistemas de cultivo y alta sobrevivencia a lo largo de su desarrollo en condiciones de cautiverio (Sandifer *et al.*, 1993).

Un aspecto básico a considerar en el cultivo camaronícola es el papel que desempeñan algunos factores ambientales como el amoníaco, el nitrito y el oxígeno disuelto en el medio. Niveles inadecuados de éstos factores puede conducir al deterioro de la calidad del agua y en

consecuencia afectar de manera negativa la sobrevivencia, el crecimiento y la salud de los animales (Chen y Lin, 1992; Rosas *et al*, 1997 ).

En ambientes marinos el amonio existe en solución en forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ) y no ionizada ( $\text{NH}_3$ ) donde la proporción de ambos compuestos depende del pH, la salinidad y la temperatura. La forma no ionizada (amoníaco) es la más tóxica para los organismos por su naturaleza lipofílica y capacidad de difundirse más rápidamente a través de las membranas celulares. La forma ionizada penetra con menos facilidad las membranas celulares debido a su tamaño y carga iónica por lo que presenta menor solubilidad lipídica (Whitfield, 1974). Sin embargo, los efectos adversos de la forma ionizada del amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) se presentan en algunas funciones fisiológicas. De esta manera Shaw (1960) señala reducción significativa de la entrada de sodio al medio interno de *Astacus pallipes* como resultado de la exposición a amonio. Por otra parte Armstrong *et al* (1978) establecieron que la inhibición de la entrada de sodio al medio interno del organismo es el principal factor que contribuye a la toxicidad del amonio a un pH bajo.

En los sistemas acuáticos naturales los niveles de los compuestos nitrogenados dependen del proceso de nitrificación. Las bacterias nitrificantes del género *Nitrosomonas*, oxidan el amonio a nitrito y las del género *Nitrobacter* oxidan el nitrito a nitrato. Sin embargo, en condiciones de cultivo, este proceso puede ser inhibido o alterado por diversos factores como la reducción del oxígeno disuelto en el medio, aspecto frecuente en los estanques de producción. El proceso de la nitrificación es más eficiente cuando los niveles de oxígeno en el medio son elevados, en tanto que en bajas concentraciones de oxígeno disuelto el nitrito puede acumularse en el sistema debido a que las bacterias del género *Nitrobacter* son sensibles a condiciones hipóxicas. Otros factores que

modifican la actividad de estas bacterias son la fotoiluminación y la temperatura ambiental (Spotte, 1970)

El amoniaco y el nitrito son compuestos nitrogenados que se acumulan frecuentemente en los estanques de cultivo debido a recambios de agua inadecuados, al exceso de materia orgánica provocado por sobrealimentación y la elevada densidad de organismos; esto último relacionado con la excreción amoniaca (Allan *et al.*, 1990; Chen y Lin, 1991).

El amonio es el principal producto de excreción de los crustáceos, resultado del catabolismo de las proteínas. (Regnault, 1987). En crustáceos la excreción de amonio se lleva a cabo en el epitelio branquial por difusión pasiva del  $\text{NH}_3$  y del  $\text{NH}_4^+$ , el intercambio del ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) con el  $\text{Na}^+$  ambiental y con protones ( $\text{H}^+$ ) y la conversión de amonio a una forma menos tóxica, como es la urea (Pequeux y Gilles, 1981).

En crustáceos, la acción tóxica del amoniaco altera los procesos respiratorios, la excreción nitrogenada, el balance iónico y osmótico, el crecimiento y la frecuencia de muda y en última instancia ocasiona la muerte de los organismos. Chen y Lin (1992), reportaron que en juveniles de *P. monodon* la exposición crónica a 4, 8 y 20 mg de N-amonio total/L ( $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NH}_3$ ) reduce el crecimiento de los organismos. Por su parte Chen y Kou, (1992) señalaron que en juveniles de *P. japonicus* la exposición prolongada a 0.70 mg  $\text{N-NH}_3$ /L correspondiente a 10.1 mg N-amonio total/L disminuye el crecimiento de los camarones.

En camarones peneidos la exposición al amonio también puede modificar la concentración de la hemocianina, pigmento respiratorio de los crustáceos, alterando el suministro de oxígeno a los tejidos. En juveniles de *P. japonicus* la exposición aguda (24 h) a 10 y 20 mg de N-amonio total/L provoca que aminoácidos libres se incrementen en el plasma como producto del catabolismo de la hemocianina. Así mismo en exposiciones agudas a 5 mg de N-amonio total/L el patrón de excreción de este peneido cambió de amoniotélico a ureotélico, como un mecanismo de desintoxicación del amonio (Chen y Cheng, 1993)

De manera global, diversos autores sugieren que la tolerancia al amoniaco se incrementa al avanzar el estado de desarrollo de los organismos. Jayasankar y Muthu (1983) obtuvieron una concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de 24 h de 0.29, 0.95 y 3.17 mg N-NH<sub>3</sub>/L en nauplios, protozoa y mysis de *P. indicus*, respectivamente. Chen y Lin (1991) establecieron una  $CL_{50}$  24 h de 0.25, 0.34, 1.08 y 1.85 mg N-NH<sub>3</sub>/L para nauplios, zoea, mysis y postlarvas de *P. chinensis*, respectivamente. Sin embargo Ostrensky y Wadielesky (1995) señalaron que no existe relación directa entre el desarrollo de esta especie y su tolerancia al amoniaco y reporta  $CL_{50}$  en 24 horas de exposición de 4.25, 1.79, 2.91 y 1.4 mg N-NH<sub>3</sub>/L en nauplios, zoea, mysis y postlarvas de *P. paulensis*, respectivamente

Al igual que numerosos contaminantes, la toxicidad del amoniaco se incrementa con el tiempo de exposición. De esta manera diversos autores señalan el aumento de la toxicidad del amoniaco en diferentes especies de postlarvas de peneidos a medida que el tiempo de exposición es mayor (Tabla 1).

Tabla 1. Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de amoníaco (mg N-NH<sub>3</sub>/L) a distintos tiempos de exposición en postlarvas de diferentes especies de peneidos. Se incluyen valores del intervalo de confianza (IC) de las CL<sub>50</sub>

ESPECIE	TIEMPO (h)			REFERENCIA
	24	48	72	
<i>P. monodon</i>	4.7 3.7-6.0	2.50 2.1-3.0	1.54 1.4-1.9	Chin y Chen (1987)
<i>P. chinensis</i>	1.85 1.6-2.0	1.20 0.96-1.5	0.73 0.5-0.9	Chen y Lin (1991)
<i>P. japonicus</i>	2.3 1.7-2.8	1.7 1.3-2.2	1.4 1.2-1.7	Lin <i>et al</i> (1993)
<i>P. paulensis</i>	1.40 1.1-1.5	0.40 0.4-0.6	0.33 0.2-0.4	Ostrensky y Wasielesky (1995)

Con respecto al nitrito, diversos trabajos señalan que este compuesto altera los procesos respiratorios. En peces, el nitrito convierte la hemoglobina a metahemoglobina y se sugiere que este proceso puede ocurrir con la hemocianina de los crustáceos (Nedham 1961). Chen y Cheng (1995) observaron que durante la exposición aguda de juveniles de *P. japonicus* a 20.57 mg N-NO<sub>2</sub>/L, las concentraciones de hemocianina en la hemolinfa decrecen y se altera el transporte de oxígeno a los tejidos. Por su parte Chen y Chen (1992a) establecieron que en juveniles de *P. monodon* expuestos 24 h a 20 mg N-NO<sub>2</sub>/L se alteran los patrones de excreción de N-NO<sub>2</sub>, el catabolismo de proteínas y la osmorregulación. En crustáceos también se ha observado que el nitrito modifica el crecimiento y la frecuencia de muda. Al respecto Chen y Chen (1992b) reportaron que en juveniles de *P. monodon* la frecuencia de muda se incrementa al ser expuestos a concentraciones subletales de N-NO<sub>2</sub>.

Al igual que el amonio, la acción tóxica del nitrito disminuye con el desarrollo de los camarones. Al respecto Chen y Chin (1988) obtuvieron una CL<sub>50</sub> 24 h de 5.0, 13.20, 20.65 y 61.87 mg N-NO<sub>2</sub>/L en nauplios, zoea, mysis y postlarvas de *P. monodon*, respectivamente.

Jayasankar y Muthu (1995) refieren que existe incremento en la tolerancia al nitrito con respecto al estado larval de *P. indicus*, en nauplios, protozoa y mysis y obtienen  $CL_{50}$  24 horas de 10.23, 20.43 y 33.87 mg N-NO<sub>2</sub>/L, respectivamente.

La toxicidad del nitrito se incrementa también con el tiempo de exposición Chen y Chin, (1988) establecieron  $CL_{50}$  48 y 72 h de 14.91 y 9.69 mg N-NO<sub>2</sub>/L en postlarvas de *P. monodon* respectivamente. Así mismo Chen y Nan (1991) señalaron en postlarvas de *Metapenaeus ensis*  $CL_{50}$  24, 48 y 72 h de 70.6, 27.10 y 12.76 mg N-NO<sub>2</sub>/L, respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración letal media de nitrito (mg N-NO<sub>2</sub>/L) en postlarvas de diferentes especies de pecidos. Se incluyen valores de intervalo de confianza (IC) de la  $CL_{50}$ .

ESPECIE	TIEMPO (h)			REFERENCIA
	24	48	72	
<i>P. monodon</i>	61.87	33.17	20.53	Chen y Chin (1988)
	51.6-74.2	26.8-41.1	16.2-26.0	
<i>Metapenaeus ensis</i>	70.6	27.10	12.76	Chen y Nan (1991)
	57.2-85.9	18.2-40.8	7.1-23.0	
<i>P. paulensis</i>	277.8	41.6	14.5	Ostrensky y Poersch (1992)
	225.8-343.4	31.2-55.5	6.8-27.1	

Con respecto al oxígeno disuelto, se conoce que es uno de los principales factores limitantes en la producción acuícola. Diversos organismos acuáticos son tolerantes a la disminución del oxígeno en el medio. Los organismos son considerados oxirreguladores cuando su consumo de oxígeno es independiente de la concentración de oxígeno ambiental y oxiconformadores cuando su consumo de oxígeno depende de la concentración de oxígeno en el medio (Seidman y Lawrence, 1985).

En crustáceos, bajos niveles de oxígeno disuelto reducen el crecimiento, la sobrevivencia, alteran la frecuencia de muda, la capacidad de osmorregulación y en general, deteriora el estado fisiológico de los organismos. Seidman y Lawrence (1985) fundamentan que el crecimiento y la sobrevivencia de juveniles de *P. monodon* y *P. vannamei* se redujeron significativamente por la exposición crónica en 1.2 mg O<sub>2</sub>/L. De manera similar se ha observado que la sobrevivencia y el crecimiento de adultos y juveniles de *P. vannamei* disminuye en concentraciones de 1.5 mg O<sub>2</sub>/L (Aquacop y Soyez, 1988). Clark (1986) al exponer juveniles de *P. semisulcatus* durante 17 días en 2 mg O<sub>2</sub>/L observó una mortalidad del 50 % e inhibición del proceso de muda. A su vez, Charmantier, *et al* (1994) estableció que en *P. vannamei* expuesto 4 h a 3 y 2 mg O<sub>2</sub>/L, la capacidad de osmorregulación decrece en un 17 %. Por su parte Martínez *et al* (1998) reportaron una CL<sub>50</sub> 48 h de entre 1.27 mg/L (15 ‰ y pH de 8.0) y 2.4 mg/L (15 ‰ y pH de 6.0) de oxígeno disuelto en juveniles *Penaeus setiferus*.

Bajos niveles de oxígeno disuelto ocasionan que el efecto tóxico de algunos contaminantes como el amonio se incremente. En juveniles de *Metapenaeus macleayi* y *P. monodon* la exposición aguda a 1.60 mg N-NH<sub>3</sub>/L y 2.3 mg O<sub>2</sub>/L causa una mortalidad del 90 %; sin embargo durante este mismo tiempo de exposición y en concentraciones de 1.63 mg NH<sub>3</sub>/L y 5.7 mg O<sub>2</sub>/L la mortalidad se redujo en un 33.3 % (Allan *et al*, 1990).

Así, el deterioro de la calidad del agua, en función de la acumulación de compuestos nitrogenados y decrementos de la concentración de oxígeno disuelto en el medio, son factores potenciales capaces de reducir la eficiencia de la producción camaronícola. Es por esto que el generar información conducente al establecimiento de condiciones adecuadas de estos factores

químicos en los sistemas de producción es crucial para el óptimo desarrollo de especies con un elevado potencial de cultivo, como es el caso de *P. setiferus* en las zonas costeras del Golfo de México.

## II. OBJETIVOS

### Objetivo General:

Estimar en postlarvas de *P. setiferus* el efecto tóxico agudo del amoníaco y del nitrito y determinar el efecto subletal de éstos compuestos sobre el consumo de oxígeno en diferentes niveles de oxígeno disuelto.

### Objetivos Particulares:

- a) Determinar la concentración letal media del amoníaco y del nitrito a partir de bioensayos agudos
- b) Estimar el consumo de oxígeno y el comportamiento oxirregulador y oxiconformador de las postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* en diferentes concentraciones de oxígeno disuelto
- c) Evaluar el consumo de oxígeno de camarón blanco en concentraciones subletales de amoníaco y nitrito en diferentes niveles de oxígeno disuelto.

### III. MATERIAL Y METODO

#### A. Obtención y Mantenimiento de las postlarvas

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Las postlarvas de camarón blanco *Penaeus setiferus* utilizadas se obtuvieron de cultivos experimentales y fueron proporcionadas por el personal del Laboratorio de Biología Marina Experimental de la Facultad de Ciencias U. N. A. M., en Cd. Del Carmen, Campeche. Los organismos se transportaron al laboratorio en una hielera de 100 litros de capacidad, en bolsas de polietileno con atmósfera saturada de oxígeno y con agua del medio de cultivo a 35 ‰ y 20° C.

En el laboratorio, los organismos se colocaron en acuarios de vidrio de 40 litros de capacidad, con agua de mar artificial (Instant Ocean) a  $32 \pm 1$  ‰,  $23 \pm 1$  °C,  $8.2 \pm 0.05$  de pH y  $5 \pm 1$  mg O<sub>2</sub>/L. Posteriormente, la temperatura y la salinidad se ajustaron diariamente en 1° C y 1‰ hasta alcanzar 28 °C y 25‰. Diariamente se llevaron a cabo recambios de agua del 50 % del volumen de los acuarios. Tanto en el periodo de mantenimiento, aclimatación así como en todas las pruebas experimentales, se utilizó agua de mar artificial preparada a partir de diluciones de salinidad con agua dulce de clorada y filtrada.

Durante el periodo de mantenimiento, aclimatación y en el transcurso de los experimentos, se llevaron a cabo registros diarios del oxígeno disuelto con un oxímetro con sensor polarográfico YSI 54 A ( $\pm 0.05$  mg O<sub>2</sub>/L), de la salinidad con un refractómetro ATAGO ( $\pm 0.5$  ‰), del pH con

un potenciometro WalkLab ( $\pm 0.05$ ) y de la temperatura con un termómetro de mercurio Brannan ( $\pm 0.5$  °C).

A los organismos se les suministró alimento balanceado peletizado al 120 % de su peso corporal dos veces al día (8:00 y 14:00 hrs). Durante la noche (20:00 h), se les suministraron nauplios de *Artemia franciscana* con 24 horas de eclosión, en una proporción de 9 nauplios por organismo con el fin de complementar los requerimientos alimenticios de las postlarvas de acuerdo a lo propuesto por Gaxiola (1994) El fotoperiodo se mantuvo en 12:12 h luz:oscuridad. Previo a todas las pruebas experimentales los organismos se mantuvieron sin alimento 24 horas.

## **B. Bioensayos de Toxicidad Aguda**

En los bioensayos de toxicidad aguda de amoniaco y nitrito se utilizaron postlarvas 20 y 25 días de edad con un peso húmedo (PH) de  $8.10 \pm 0.55$  y  $9.93 \pm 0.42$  mg respectivamente. El efecto tóxico letal del amoniaco y del nitrito se evaluó a través de bioensayos agudos de tipo estático (sin recambio de agua) en exposiciones de 24, 48 y 72 horas.

Los bioensayos de toxicidad aguda del amoniaco y del nitrito se realizaron por duplicado considerando en cada caso cuatro concentraciones experimentales y un control sin adición del compuesto nitrogenado.

Las concentraciones experimentales utilizadas en las pruebas de toxicidad aguda, tanto del amoniaco como del nitrito, se establecieron de acuerdo a resultados obtenidos en biobúsquedas

(bioensayos previos para la elección de las concentraciones experimentales definitivas) las cuales fueron seleccionadas con base en la literatura existente para peneidos. Las concentraciones de amoniaco utilizadas en las biobúsquedas fueron 0.5, 1.0, 2.0 4.0 y 8.0 mg de  $N-NH_3/L$  y las de nitrito correspondieron a 15, 30, 60, 20 y 240 mg  $N-NO_2/L$ .

Las concentraciones experimentales de amoniaco se prepararon a partir de una solución madre de cloruro de amonio ( $NH_4Cl$ ; Baker, 99.7 % de pureza) y fueron 1, 1.25, 1.5 y 2.0 mg  $N-NH_3/L$  correspondientes a 9.51, 11.9, 14.2 y 19.0 mg de N-amonio total/L. Las concentraciones experimentales de  $N-NH_3$  se estimaron considerando el pH, la salinidad y la temperatura del medio de acuerdo a Bower y Bidwel (1978). Durante los bioensayos, las concentraciones de N-amonio total se evaluaron diariamente utilizando el método de azul de indofenol, con una sensibilidad de 2  $\mu g$  N-amonio total/L (Rodier, 1981).

Las concentraciones experimentales de nitrito se prepararon a partir de una solución madre de nitrito de sodio ( $NaNO_2$ ; Baker, 99.76 % pureza). Las concentraciones experimentales de nitrito seleccionadas fueron 50, 220, 250 y 300 mg de  $N-NO_2/L$ . Los niveles de nitrito en los acuarios de exposición se evaluaron diariamente utilizando el método de sulfanilamida, con una sensibilidad de 2  $\mu g$   $N-NO_2/L$  (Rodier, 1981).

En cada condición experimental se utilizaron acuarios de 3 L de capacidad en los cuales se colocaron 10 organismos que fueron seleccionados al azar del acuario de aclimatación. Una vez que los animales permanecieron 6 h en los acuarios experimentales, se adicionaron las soluciones de cloruro de amonio y nitrito de sodio para obtener en cada caso las concentraciones

mencionadas. Durante el transcurso de las pruebas se mantuvieron constantes la salinidad en  $25 \pm 1 \text{ ‰}$ , la temperatura en  $28 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , el oxígeno disuelto en  $5 \pm 0.5 \text{ mg O}_2/\text{l}$  y el pH en  $8.2 \pm 0.05$ . Así mismo se mantuvo el fotoperíodo en 12:12h luz:oscuridad.

Los registros de sobrevivencia de los animales se efectuaron a las 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 56, 64 y 72 horas de exposición al contaminante. La muerte de los organismos se estableció por la falta de respuesta cuando se tocaron con una varilla delgada de vidrio con punta roma. Las postlarvas muertas se retiraron de los acuarios para evitar la descomposición de los animales y mantener la calidad del agua de los acuarios experimentales. Se obtuvo su peso húmedo (PH) en una balanza analítica (Sauter  $\pm 0.05 \text{ mg}$ ). Al finalizar los bioensayos de 72 horas de exposición, los organismos sobrevivientes se sacrificaron y se pesaron como se señaló previamente

### **C. Respuesta respiratoria.**

El mantenimiento de los organismos utilizados en esta fase experimental fue igual al descrito previamente en los bioensayos de toxicidad aguda. La edad de las postlarvas utilizadas fue de 30 a 35 días y  $15.19 \pm 0.93 \text{ mg}$  de PH, la alimentación de los organismos se suspendió 24 h antes de iniciar el experimento.

En esta fase experimental se evaluó el comportamiento respiratorio de las postlarvas de *P. setiferus* en 5 concentraciones de oxígeno disuelto (5, 4, 3, 2 y 1  $\text{mg O}_2/\text{L}$ ) y diferentes concentraciones subletales de amoníaco y nitrito. Las concentraciones subletales evaluadas fueron 0.4 y 0.7  $\text{mg N-NH}_3/\text{L}$  correspondientes a 5.8 y 10.1  $\text{mg N-amonio total/L}$  respectivamente y 5.0,

10 y 17.5 mg N-NO<sub>2</sub>/L, las cuales se establecieron a partir de las pruebas de toxicidad aguda efectuadas.

Para evaluar el comportamiento respiratorio de las postlarvas sometidas a cada condición experimental, se utilizó un sistema respirométrico de flujo semicontinuo termorregulado (Fig 1). Se empleó un reservorio de plástico con capacidad de 20 litros, con un calentador de inmersión sostenido por una barra de *unicel* y debajo de ésta una membrana de plástico, para evitar el intercambio de oxígeno con el medio. Este reservorio fue conectado a 11 cámaras respirométricas de acrílico con capacidad de 16 ml por medio de un tubo de PVC de ¼ de pulgada con llaves de paso, a través de las cuales se tomaron muestras de agua para comprobar que las concentraciones de oxígeno que entraban a las cámaras fueran las adecuadas

Las cámaras respirométricas estaban sumergidas en un baño termorregulado a  $28 \pm 0.5$  °C y aireación continua, con la finalidad de mantener la temperatura constante y homogénea. Las cámaras respirométricas presentaban llaves de regulación de entrada y salida de agua lo cual permitió recambiar el agua mediante flujo controlado.

Para evaluar el efecto de cada concentración subletal del amoníaco y del nitrito se utilizaron 10 animales, los cuales se retiraron aleatoriamente de los acuarios de aclimatación y se colocaron durante 3 h en 10 cámaras respirométricas con 5 mg O<sub>2</sub>/L, 25 ‰, 28 °C y 8.2 de pH. Una cámara sin organismo se utilizó como cámara control.

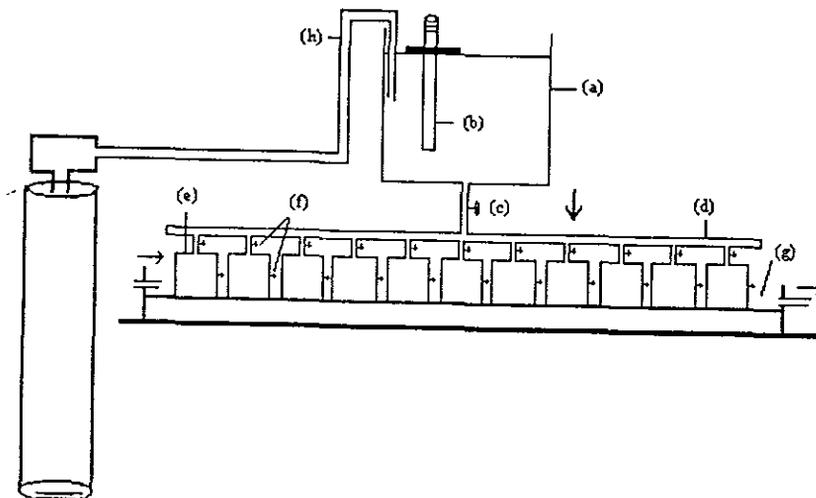


Fig 1. Sistema respirométrico empleado para evaluar el efecto de concentraciones subletales del amoníaco y del nitrito y en diferentes concentraciones de oxígeno disuelto. a. Reservorio, b calentador de inmersión, c llave de toma de muestra de agua de entrada a las cámaras, d. distribuidor de agua a las cámaras respirométricas, e. cámara respirométrica, f. llaves de regulación de flujo de agua, g. baño termorregulado, h. suministro de nitrógeno gaseoso.

Una vez que los organismos permanecieron bajo estas condiciones durante tres horas, se adicionó al reservorio la solución de cloruro de amonio o de nitrito de sodio en volumen adecuado para obtener las concentraciones adecuadas de amoníaco o nitrito (Fig. 3). Inmediatamente se colocó la membrana de plástico sobre el reservorio.

Tabla 3 Concentraciones del tóxico para cada uno de los diferentes niveles de oxígeno disuelto.

Tóxico (mg/L)		Oxígeno disuelto (mg/L)
N-NH <sub>3</sub>	N-NO <sub>2</sub>	
0.4	5.0	5, 4, 3, 2 y 1
0.7	10.0	
	17.5	

El flujo de agua a las cámaras respirométricas se mantuvo constante durante una hora. Posteriormente se tomó la concentración de oxígeno ( $O_{2i}$ ) del agua de entrada a cada cámara y se suspendió el flujo de agua durante una hora. Una vez concluido el tiempo de cerrado se midió la concentración de oxígeno ( $O_{2f}$ ) en muestras de agua de cada cámara y posteriormente se restableció el flujo de agua durante una hora. Durante el tiempo que permanecieron cerradas las cámaras se substituyó el reservorio el cual presentaba agua con el siguiente nivel de oxígeno disuelto y con la misma concentración subletal del tóxico. Los niveles de oxígeno disuelto se obtuvieron inyectando directamente nitrógeno gaseoso al reservorio.

La tasa individual del consumo de oxígeno ( $VO_2$ ) se calculó a partir de la diferencia entre la concentración inicial ( $O_{2i}$ ) y final ( $O_{2f}$ ) del oxígeno disuelto (mg/L) en las muestras de agua de las cámaras respirométricas y en relación al tiempo que permanecieron cerradas. Estos valores fueron corregidos por los valores obtenidos en la cámara control. El consumo de oxígeno de las postlarvas de *P. setiferus* ( $VO_2$ ) se expresó en relación al peso húmedo ( $mg O_2 g^{-1} PH h^{-1}$ ) y se calculó a partir de la siguiente ecuación (Cech, 1990).

$$VO_2 = \frac{([O_2]_i - [O_2]_f) v}{t}$$

donde:

$O_{2i}$  = concentración de oxígeno inicial (mg/L)

$O_{2f}$  = concentración de oxígeno final (mg/L)

t = tiempo de cerrado de la cámara (h)

v = volumen de agua de la cámara (0.016 L.)

Una vez finalizadas las mediciones los organismos se sacrificaron y se midió el peso húmedo (PH, mg) en una balanza analítica ( Sauter,  $\pm 0.05$  mg).

### **Análisis Estadístico**

La determinación de la concentración letal media del amoníaco y del nitrito ( $CL_{50}$ ) a las 24, 48 y 72 horas de exposición se efectuó empleando el modelo Probit-log-X, a través del programa de Computo Dorez (Ramírez, 1989). Para establecer las diferencias significativas en los valores de las  $CL_{50}$  en los diferentes tiempos de exposición se estimaron los intervalos de confianza de las correspondientes  $CL_{50}$  a partir de:  $CL_{50} \pm ES t_{0.05, g}$  (Zar, 1974).

Para determinar tanto el efecto significativo de la reducción del oxígeno disuelto en la tasa respiratoria de las postlarvas de *P. setiferus* como el efecto de las concentraciones subletales del amoníaco y del nitrito sobre el comportamiento respiratorio de los camarones se aplicó la prueba de comparación múltiple no paramétrica de Kruskal-Wallis. Esta prueba es utilizada cuando no se cumplen las suposiciones de normalidad o cuando los datos a analizar son solamente rangos. Las diferencias significativas en el consumo de oxígeno por efecto de los niveles de oxígeno y de cada uno de los tóxicos se estableció mediante la prueba de Student Newman-Keuls utilizada cuando las medias de las muestras son rangos (Zar, 1974).

## IV. RESULTADOS

Durante los períodos de mantenimiento y aclimatación de las postlarvas de *Penaeus setiferus* no se registró mortalidad en los organismos. Así mismo, en las pruebas de toxicidad aguda efectuadas para determinar la concentración letal media de cada contaminante no se observó mortalidad en los grupos control.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos registrados durante los periodos de mantenimiento y aclimatación, así como en la etapa experimental no se observaron variaciones ( $P > 0.05$ ). La temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto y el pH se mantuvieron constantes en  $28 \pm 0.5$  °C,  $25 \pm 1$  ‰,  $5.1 \pm 0.5$  mg O<sub>2</sub>, y  $8.2 \pm 0.05$ , respectivamente.

### A. Bioensayos de toxicidad aguda

En los ensayos realizados para determinar el efecto tóxico letal del amoníaco, se observó mortalidad a partir de 1.25 mg N-NH<sub>3</sub>/L a las 24 h de exposición (Tabla 4, Fig. 2). La mortalidad de los organismos en las diferentes concentraciones experimentales se incrementó al aumentar el tiempo de exposición, observándose las mayores mortalidades a las 72 horas. Durante las primeras 24 h de exposición, la mortalidad de las postlarvas de camarón blanco se incrementó en un 60 % entre 1.25 y 1.50 mg N-NH<sub>3</sub>/L, a las 48 y 72 h de exposición la mortalidad se incrementó 75 % y 65 % entre 1 y 1.50 mg N-NH<sub>3</sub>/L, respectivamente.

Tabla 4. Mortalidad (%) obtenida en los bioensayos de toxicidad aguda en postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* expuestas por 24, 48 y 72 h a diferentes concentraciones de amoníaco (mg N-NH<sub>3</sub>/L).

TIEMPO (horas)	N-amonio total (mg/l)	N-NH <sub>3</sub> /L (mg)	MORTALIDAD (%)
24	0	0	0
	9.51	1.0	0
	11.9	1.25	15
	14.29	1.5	80
	19.0	2.0	80
48	0	0	0
	9.51	1.0	15
	11.9	1.25	65
	14.29	1.5	90
	19.0	2.0	95
72	0	0	0
	9.51	1.0	30
	11.9	1.25	70
	14.29	1.5	95
	19.0	2.0	100

A las 24 horas de exposición la mortalidad más alta fue del 80 % entre 1.5 y 2.0 mg N-NH<sub>3</sub>/L, en tanto que a las 48 horas la mayor mortalidad correspondió al 95 % en 2.0 mg N-NH<sub>3</sub>/L; únicamente en los organismos expuestos a la mayor concentración (2.0 mg N-NH<sub>3</sub>/L) del amoníaco y a las 72 h de exposición se obtuvo el 100% de mortalidad.

La concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del contaminante disminuyó con el tiempo de exposición (Tabla 5, Fig. 3), de esta manera las CL<sub>50</sub> obtenidas fueron 1.55, 1.20 y 1.11 mg N-NH<sub>3</sub>/L en 24, 48 y 72 h, respectivamente (14.72, 9.51 y 9.01 mg N-amonio total/L). Los coeficientes de determinación del modelo PROBIT-log X utilizado fueron de 0.93, 0.89 y 0.99

tiende a incrementarse al aumentar el tiempo de exposición, no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en los valores de las  $CL_{50} \pm IC$  a las 24, 48 y 72 h de exposición (Tabla 5).

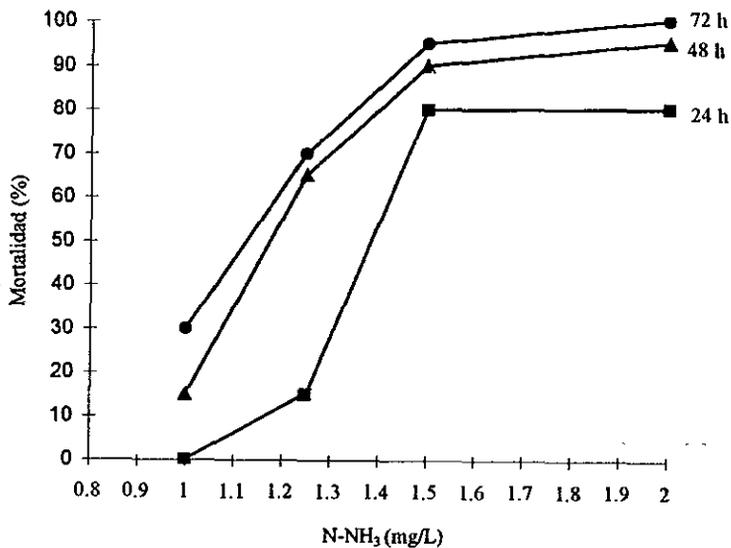


Fig. 2. Mortalidad observada en las postlarvas de camarón blanco expuestas a diferentes concentraciones de amoníaco (mg N-NH<sub>3</sub>/L) durante 24, 48 y 72 horas de exposición.

Tabla 5. Concentración letal media ( $CL_{50}$ ) del amoníaco para las postlarvas de *P. setiferus*. Se incluyen los valores del intervalo de confianza ( $\bar{X} \pm IC$ ), y el coeficiente de determinación del modelo PROBIT-log X empleado.

$CL_{50} \pm IC$			
Tiempo (horas)	N-amonio total (mg/L)	N-NH <sub>3</sub> (mg/L)	Coefficiente de determinación
24	14.72	1.55 (1.2-1.9)	0.98
48	9.51	1.20 (0.98-1.4)	0.89
72	9.01	1.11 (0.93-1.3)	0.99

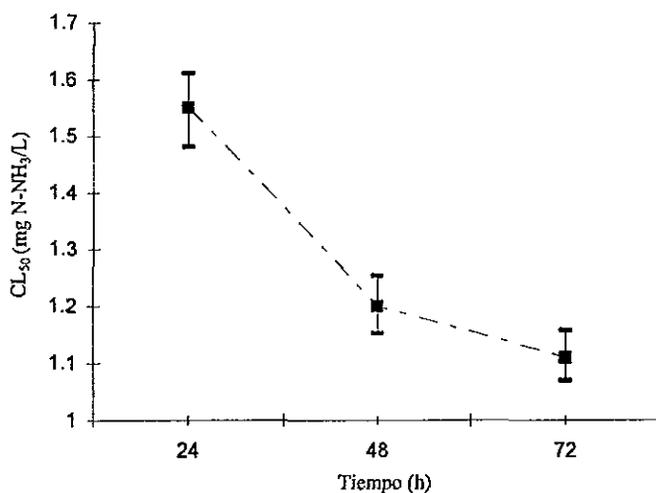


Fig. 3. Concentración letal media ( $CL_{50}$ ) del N-NH<sub>3</sub> de postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* a las 24, 48 y 72 h de exposición. Se incluyen valores de  $\bar{X} \pm ES$ .

Con respecto a las pruebas de toxicidad aguda del nitrito, no se observaron mortalidades del 100 % en ninguna de las concentraciones experimentales (Tabla 6, Fig. 4). A las 24 h la

mayor mortalidad se presentó en 70 %, la mortalidad más alta observada a las 48 h fue del 75 % en tanto que la mayor mortalidad observada a las 72 h fue del 95 % en la concentración más alta del contaminante (300 mg N-NO<sub>2</sub>/L).

De la misma manera que en los experimentos con amoníaco, la concentración letal media de nitrito decreció al aumentar el tiempo de exposición (Tabla 7, Fig. 5). Así para las 24, 48 y 72 horas se obtuvieron valores de la CL<sub>50</sub> de 279.43, 240.35 y 167.33 mg N-NO<sub>2</sub>/L, respectivamente.

Tabla 6. Mortalidad (%) obtenida en los bioensayos de toxicidad aguda en postlarvas de *P. setiferus* expuestas en 24, 48 y 72 h a nitrito (N-NO<sub>2</sub>/L)

TIEMPO (horas)	N-NO <sub>2</sub> (mg/l)	MORTALIDAD (%)
24	0	0
	50	5
	220	25
	250	40
	300	70
48	0	0
	50	10
	220	30
	250	50
	300	75
72	0	0
	50	20
	220	50
	250	80
	300	95

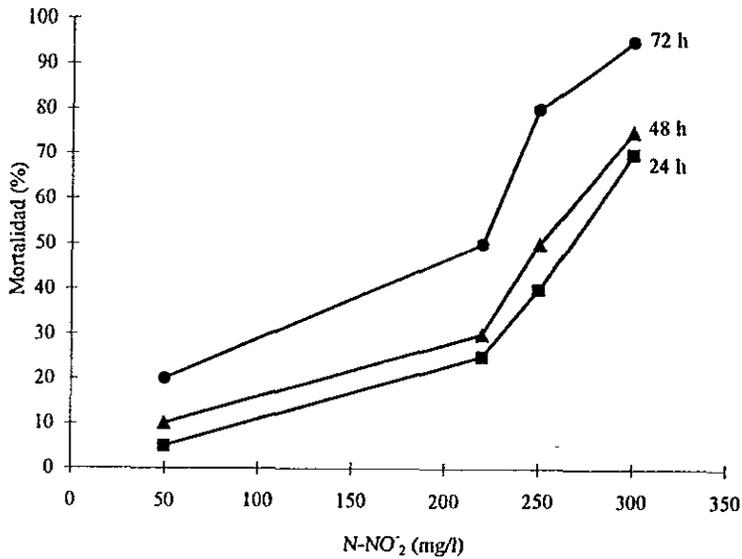


Fig 4. Mortalidad observada en las postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* expuestas a diferentes concentraciones de nitrito (mg N-NO<sub>2</sub>/l) durante 24, 48 y 72 h de exposición.

Con respecto a las primeras 24 horas la toxicidad del nitrito se incrementó 14 % y 40.12 % después de las 48 y 72 h de exposición, mientras que entre las 48 y 72 h la toxicidad se incrementó en 30.38 %. Sin embargo al considerar el intervalo de confianza de las CL<sub>50</sub>, se observaron diferencias significativas solamente entre las 24 y las 72 h de exposición.

Tabla 7. Resultados de la concentración letal media de nitrito de las postlarvas de *P. setiferus*. Se incluyen los valores del intervalo de confianza de las  $CL_{50}$  ( $\bar{X} \pm IC$ ) y el coeficiente de determinación del modelo PROBIT-log X empleado.

CL <sub>50</sub>		
Tiempo (horas)	N-NO <sub>2</sub> (mg/L)	Coefficientes de Determinación
24	279.43 (235.1-323.7)	0.830
48	240.35 (138.8-341.9)	0.870
72	167.33 ± 20.47 (102.2-232.5)	0.866

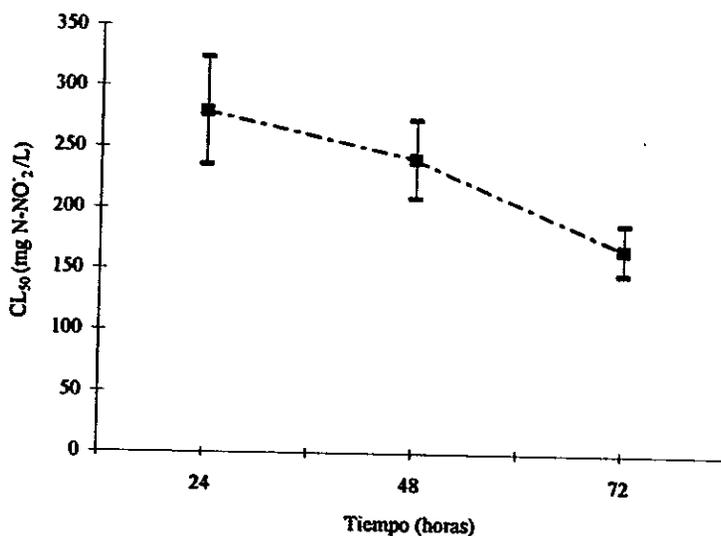


Fig. 5. Concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de nitrito ( $mg\ N-NO_2/l$ ) en postlarvas de camarón blanco *Penaeus setiferus* a las 24, 48 y 72 h de exposición. Se incluyen valores de  $\bar{X} \pm ES$ .

## B. Respuestas respiratorias.

En general se observó que la tasa respiratoria de las postlarvas de *P. setiferus* expuestas a diferentes niveles de oxígeno disuelto y concentraciones subletales de amoníaco y de nitrito disminuyó con respecto a los organismos control. De acuerdo con la literatura existente (Hagerman, 1988, Truchot y Lallier; 1992; Regnault, 1993 y Anderson y Taylor, 1994) en el presente estudio la hipoxia moderada y la hipoxia severa se consideraron en 3 mg O<sub>2</sub>/l y menos de 2 mg O<sub>2</sub>/l respectivamente.

Los resultados obtenidos señalan que las postlarvas del grupo control (Tabla 8, Fig. 6) presentaron un comportamiento oxirregulador en el intervalo de 5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L donde los valores del consumo de oxígeno en estas concentraciones no fueron estadísticamente distintos entre sí ( $P > 0.05$ ).

Sin embargo en el intervalo de oxígeno disuelto de 2 a 1 mg O<sub>2</sub>/L el consumo de oxígeno de las postlarvas, disminuyó drásticamente, con decrementos de 57 % y 74.7 % respecto a la respiración observada en 3 mg O<sub>2</sub>/l ( $P < 0.05$ ).

Las postlarvas expuestas a 0.4 mg N-NH<sub>3</sub>/L y diferentes concentraciones de oxígeno disuelto (Tabla 8, Fig 6) presentaron una tasa respiratoria similar ( $P > 0.05$ ) al observado en el grupo control. Las postlarvas expuestas a esta concentración del amoníaco presentaron un comportamiento oxirregulador entre 5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L y donde a partir de 3 mg O<sub>2</sub>/L el consumo de oxígeno decreció 75 % en las postlarvas expuestas en 1 mg O<sub>2</sub>/L ( $P < 0.05$ ).

Tabla 8. Consumo de oxígeno ( $\text{mg O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ PH h}^{-1} \pm \text{ES}$ ) en postlarvas de *P. setiferus* expuestas a diferentes concentraciones de amoníaco y niveles decrecientes de oxígeno disuelto.

$\text{O}_2$ (mg/L)	N-NH <sub>3</sub> /L		
	0	0.4	0.7
5	0.98 ± 0.033 (1a)	0.86 ± 0.027 (1a)	0.59 ± 0.067 (1b)
4	0.95 ± 0.022 (1a)	0.79 ± 0.044 (1a)	0.24 ± 0.049 (2b)
3	0.79 ± 0.008 (1a)	0.72 ± 0.008.9 (1a)	0.31 ± 0.043 (2b)
2	0.34 ± 0.041 (2)	‡	†
1	0.20 ± 0.049 (3a)	0.18 ± 0.014 (2a)	

‡ : no evaluado

† : organismos muertos

Números diferentes (en paréntesis) indican diferencias significativas por efecto de la disminución de oxígeno disuelto en cada concentración de amoníaco

Letras diferentes (en paréntesis) indican diferencias significativas por efecto de las concentraciones de amoníaco en cada uno de los niveles de oxígeno disuelto

En las postlarvas de camarón blanco expuestas a la mayor concentración del amoníaco (0.7 mg N-NH<sub>3</sub>/L) el consumo de oxígeno se redujo ( $P < 0.05$ ) con respecto al observado en las postlarvas del grupo control. La tasa respiratoria fue 39.8 %, 74.3 % y 60.8 % menor ( $P < 0.05$ ) respecto a los organismos control en niveles de exposición de 5, 4 y 3 mg O<sub>2</sub>/L, respectivamente (Tabla 8, Fig. 6).

El consumo de oxígeno de las postlarvas expuestas a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub>/L disminuyó en 59.3 % al disminuir el oxígeno disuelto en el medio de 5 a 4 mg O<sub>2</sub>/l y 47.5 % de 5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L. Todas las postlarvas murieron en 2 mg O<sub>2</sub>/L.

De manera evidente los organismos expuestos a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub>/L presentaron menor tasa respiratoria que las postlarvas expuestas a 0.4 mg N-NH<sub>3</sub>/L en 5, 4 y 3 mg O<sub>2</sub>/L; estas diferencias corresponden a una disminución del 31.4 %, 69.62 % y 57 %, respectivamente (P<0.05).

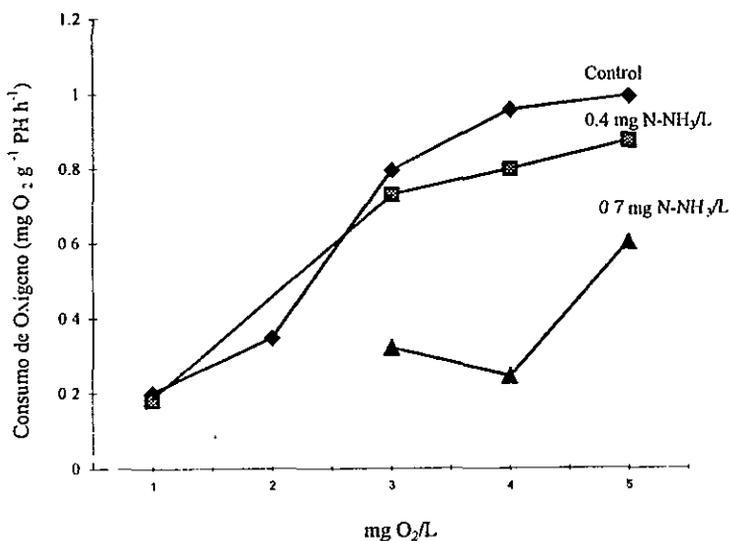


Fig 6. Consumo de oxígeno en postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* expuestas a diferentes concentraciones de oxígeno disuelto (mg O<sub>2</sub>/L ) y amoníaco (mg N-NH<sub>3</sub>/L)

El consumo de oxígeno de las postlarvas expuestas a 5 mg N-NO<sub>2</sub>/L (Tabla 9, Fig. 7) fue menor de 5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L y mayor de 2 a 1 mg O<sub>2</sub>/L con respecto a las postlarvas del grupo control (P<0.05). Al igual que en los organismos control, el intervalo de oxirregulación de las postlarvas expuestas a 5 mg N-NO<sub>2</sub>/L fue entre 5 y 3 mg O<sub>2</sub>/L. Al aumentar los niveles

subletales de nitrito, el consumo de oxígeno de las postlarvas expuestas a las concentraciones de 10 y 17.5 mg N-NO<sub>2</sub>/L presentaron un comportamiento similar (Tabla 9, Fig. 7). La tasa respiratoria de las postlarvas fue menor entre 5 y 3 mg O<sub>2</sub>/L (P < 0.05) con respecto a los organismos del grupo control (P < 0.05). Al disminuir el oxígeno disuelto a 2 mg/L, el consumo de oxígeno fue mayor que el del grupo control (P > 0.05). Sin embargo en niveles de hipoxia de 1 mg O<sub>2</sub>/L no se observaron diferencias significativas en la tasa respiratoria de los camarones del grupo control y los expuestos a 10 y 17.5 mg N-NO<sub>2</sub>/L.

Tabla 9. Consumo de oxígeno (mg O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> PH h<sup>-1</sup>;  $\bar{X} \pm ES$ ) en postlarvas de *Penaeus setiferus* expuestos a diferentes concentraciones de nitrito y niveles decrecientes de oxígeno disuelto.

O <sub>2</sub> (mg/L)	N-NO <sub>2</sub> (mg/L)			
	0	5	10	17.5
5	0.98 ± 0.033 (1a)	0.81 ± 0.056 (1a)	0.78 ± 0.011 (1a)	0.74 ± 0.011 (1a)
4	0.95 ± 0.022 (1a)	0.73 ± 0.060 (1ab)	0.59 ± 0.023 (1b)	0.65 ± 0.0084 (1b)
3	0.79 ± 0.0088 (1a)	0.76 ± 0.04 (1a)	0.49 ± 0.0096 (1bc)	0.45 ± 0.043 (1c)
2	0.34 ± 0.041 (2a)	0.62 ± 0.012 (2b)	0.54 ± 0.010 (1b)	0.53 ± 0.019 (1b)
1	0.20 ± 0.049 (2a)	0.36 ± 0.0076 (3a)	0.25 ± 0.022 (2a)	0.16 ± 0.0079 (2a)

Números diferentes (en paréntesis) indican diferencias significativas por efecto de la disminución de oxígeno disuelto en cada concentración del nitrito.

Letras diferentes (en paréntesis) indican diferencias significativas por efecto de la concentración del nitrito en cada nivel de oxígeno disuelto.

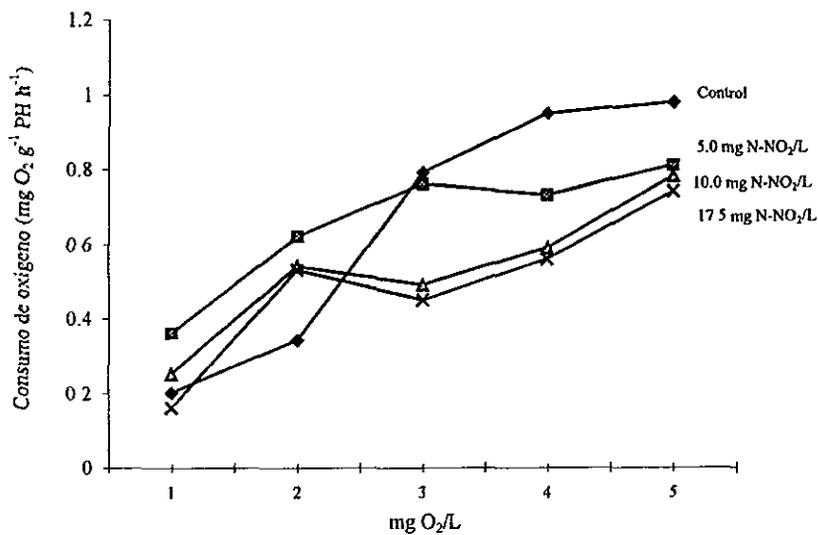


Fig. 7. Consumo de oxígeno en postlarvas de camarón blanco *Penaeus setiferus* expuestos a diferentes concentraciones de nitrito y de oxígeno disuelto (mg O<sub>2</sub>).

## V DISCUSION

### A. Limites letales de amoniaco y nitrito.

Elevadas concentraciones tanto de amoniaco como de nitrito retardan el crecimiento, alteran la frecuencia de muda y en última instancia ocasionan la muerte de los organismos en cultivo. Es por esto que los estudios sobre toxicidad aguda de éstos compuestos nitrogenados en postlarvas de peneidos con potencial económico, son de vital importancia para comprender el efecto que tienen en las primeras fases del desarrollo de éstos organismos, en particular del camarón blanco *Penaeus setiferus*.

En el presente trabajo uno de los objetivos fue determinar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del amoniaco y del nitrito en las postlarvas de camarón blanco *P. setiferus*, así como determinar su comportamiento respiratorio en exposición a diferentes niveles de oxígeno disuelto y concentraciones subletales de amoniaco y nitrito. Las causas de la acumulación del nitrito como del amoniaco en sistemas de cultivo obedecen fundamentalmente a las tasas inadecuadas de recambio de agua, la acumulación de alimento que no se consume, la elevada densidad de organismos y cambios del pH (Bower y Bidwel, 1978; Chen y Kou, 1991; Chen y Lin, 1991).

El amonio es un compuesto neurotóxico, capaz de alterar mecanismos neurotransmisores. En peces exposiciones agudas ocasionan hiperventilación, nado errático, convulsiones y en última instancia la muerte (Meijer *et al*, 1990, Jobling, 1994). En camarones peneidos elevados niveles de este compuesto también modifican la función

nerviosa. En el camarón *Nephrops norvegicus*, en exposiciones agudas elevadas concentraciones de amonio provoca hiperventilación e incremento de la tasa cardíaca (Schmitt y Uglow, 1997) En postlarvas de *P. setiferus* en exposiciones de 72 h a niveles mayores de 0.5 mg N-NH<sub>3</sub>/L inhiben la actividad locomotora y altera las respuestas conductuales al estrés térmico (Alcaraz *et al*, 1997). Así mismo, exposiciones agudas en niveles mayores a 0.69 mg/L de N-NH<sub>3</sub> (10 mg de N-amoniaco total/L) alteran el balance ácido-base del medio interno de *P. japonicus* (Chen y Kou, 1992). Otros de los efectos reportados del amoniaco son, el deterioro de la función osmorreguladora de *Homarus americanus* (Young-Lai *et al* 1991), alteración de la función normal de pigmentos respiratorios de *P. monodon* (Chen y Cheng, 1995) y en última instancia son letales para los crustáceos (Chen y Kou, 1992).

Las concentraciones letales medias obtenidas a las 24, 48 y 72 horas de exposición fueron 1.54, 1.20 y 1.11 mg N-NH<sub>3</sub>/L, respectivamente, similares a las reportadas en varias especies de peneidos. Como se puede observar después de 24 h de exposición al amoniaco las postlarvas de *chinensis* son igualmente sensibles que *P. setiferus* (Tabla 1). En contraste, después de 48 y 72 h de exposición las postlarvas de *P. setiferus* fueron más tolerantes al amoniaco que las postlarvas de *P. paulensis*. Sin embargo, durante estos periodos de exposición (48 y 72 h) *P. setiferus* fue más sensible al amoniaco que las postlarvas de *P. monodon* Chin y Chen (1987). Así se puede observar que en general *P. setiferus* es relativamente tolerante al amoniaco en su estadio postlarval ya que solo las postlarvas de *P. monodon* resultaron más tolerantes al amoniaco que las postlarvas de este estudio.

En las postlarvas de *P. setiferus*, la acción tóxica del nitrito fue menor respecto a la del amoníaco. Las postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* presentaron  $CL_{50}$  24, 48 y 72 horas de 279.4, 240.3 y 167.3 mg  $N-NO_2/L$ , respectivamente. Al igual que con el amoníaco, en este caso fue evidente que la toxicidad del nitrito se incrementó al aumentar el tiempo de exposición al contaminante. El incremento en la toxicidad del nitrito con el tiempo de exposición fue menor en *P. setiferus* que en otras especies de peneidos. Por ejemplo, en *P. setiferus* la toxicidad del nitrito fue 37.4 % mayor a las 72 h de exposición, que a las 24 h, mientras que en *P. paulensis* la toxicidad se incrementó 19 veces en el mismo periodo de exposición.

De manera global las postlarvas de *P. setiferus* son más tolerantes al nitrito con respecto a diferentes especies reportadas en la literatura. Chen y Chin (1988) señalan para postlarvas de *P. monodon*  $CL_{50}$  24, 48 y 72 h de 61.87, 33.17 y 20.53 mg  $N-NO_2/L$ , respectivamente. Por su parte Chen y Nan (1991) establecen en postlarvas de *Metapenaeus ensis*  $CL_{50}$  24, 48 y 72 h de 70.06 y 27.10 y 12.76 mg  $N-NO_2/L$ , respectivamente. Así, la concentración letal media reportada para ambas especies de peneidos es considerablemente menor que la obtenida en *P. setiferus* para los mismos tiempos de exposición. Los resultados obtenidos señalan a las postlarvas de *P. setiferus* como organismos altamente tolerantes al nitrito.

## B. Respuestas respiratorias

Al igual que en los organismos acuáticos, la tasa respiratoria de los camarones peneidos se modifica en función de la variación ambiental de factores bióticos y abióticos. Entre los factores bióticos incluyen el tamaño del animal, condición nutricional y la etapa de muda, mientras que entre los abióticos se pueden destacar la concentración de oxígeno disuelto del medio, la salinidad, la temperatura y la presencia de contaminantes (Alcaraz, 1974, Vanegas, 1997). Uno de los objetivos de este estudio fue determinar la tasa respiratoria de postlarvas *P. setiferus* expuestas a concentraciones subletales de amoníaco y nítrito, en combinación con diferentes niveles de oxígeno disuelto, considerando que éstos factores inciden directamente en los procesos respiratorios, y que ocurren de manera simultánea en los sistemas de cultivo.

Herreid (1980) menciona que los organismos aerobios acuáticos se caracterizan con base en su dependencia metabólica a la concentración de oxígeno ambiental; de tal manera los organismos se comportan como oxiconformadores cuando su consumo de oxígeno varía directamente con la presión parcial de oxígeno en el medio y como oxirreguladores cuando el consumo de oxígeno es independiente de este factor. Este mismo autor menciona que dichos comportamientos se pueden modificar y dependen de factores ambientales bióticos y abióticos. En el presente estudio se observó que la tasa respiratoria de las postlarvas de camarón blanco en diferentes concentraciones de oxígeno disuelto, sin adición de compuestos nitrogenados, presentaron un comportamiento oxirregulador en un intervalo de

5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L y oxiconformador de 3 a 1 mg O<sub>2</sub>/L ya que en este último, la tasa respiratoria se modificó en función de la concentración de oxígeno en el medio.

El comportamiento de la tasa respiratoria observado en las postlarvas de *P. setiferus* es similar al obtenido por Martínez (1996) en juveniles de la misma especie expuestos a concentraciones de oxígeno disuelto en un intervalo de 2 a 5 mg O<sub>2</sub>/L, donde los mayores valores del consumo de oxígeno se presentaron en 5 mg O<sub>2</sub>/L y los menores se registraron durante la exposición de los organismos en 2 mg O<sub>2</sub>/L. De tal manera, es posible afirmar que la sensibilidad de *P. setiferus* al oxígeno disuelto en el medio es similar en postlarvas y juveniles

Durante la exposición de los animales a diferentes niveles de oxígeno disuelto sin contaminante no se presentó en ningún caso mortalidad, por lo que se puede señalar que los niveles letales de oxígeno disuelto para postlarvas de camarón blanco en exposiciones a corto plazo se encuentran en niveles menores de 1 mg O<sub>2</sub>/L. Sin embargo, en periodos de exposición más prolongados, Martínez (1996) estima CL<sub>50</sub> 48 h en 2.2 mg O<sub>2</sub>/L para postlarvas de *P. setiferus* mantenidas en 38 ‰ y pH de 8. A su vez Allan y Maguire (1991) reportan en juveniles de *P. monodon* CL<sub>50</sub> 96 h de 0.9 mg O<sub>2</sub>/L. Por lo tanto es evidente que las postlarvas de *P. setiferus* son más sensibles a la exposición a niveles bajos de oxígeno que los juveniles de *P. monodon*.

La exposición al amoníaco en combinación con diferentes niveles de oxígeno disuelto tendió en general a disminuir la tasa respiratoria de las postlarvas *P. setiferus*. En los

organismos expuestos a 0.4 mg N-NH<sub>3</sub>/L (5.8 mg de N-amonio total/L) el consumo de oxígeno fue similar al grupo control, ya que presentaron un comportamiento oxirregulador similar en el intervalo de 3 a 5 mg O<sub>2</sub>/L, oxiconformador de 1 a 3 mg O<sub>2</sub>/L. Así, podemos afirmar que bajos niveles de amoniaco en exposiciones a corto plazo no modificaron de manera evidente la tasa respiratoria de las postlarvas. Así mismo, es posible que 0.4 mg N-NH<sub>3</sub>/L sea una concentración a partir de la cual se presenta el efecto tóxico de éste compuesto en las postlarvas de *P. setiferus*.

Al aumentar la concentración de amoniaco a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub>/L (10.1 mg N-amonio total/L) el consumo de oxígeno de las postlarvas decreció significativamente en el intervalo de 5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L y en niveles de 2 mg O<sub>2</sub>/L todos los organismos murieron. Robles (1997) demostró que durante la exposición (1 hora) de juveniles de *P. setiferus* a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub>/L y 5.1 mg O<sub>2</sub>/L, la tasa respiratoria decreció con respecto a los organismos control, registrándose una mortalidad del 9 % en los camarones. Allan y Maguire (1990) en exposiciones agudas de juveniles de *Metapenaeus macleayi* a 1.63 mg N-NH<sub>3</sub>/L y 5.7 mg O<sub>2</sub>/L observó mortalidad del 33 %; sin embargo en los expuestos a la misma concentración de amoniaco y 2.3 mg O<sub>2</sub>/l la mortalidad se incrementó al 90 %. De tal manera es evidente que bajas concentraciones de oxígeno disuelto incrementan la toxicidad del amoniaco.

En este sentido el efecto de 0.7 mg N-NH<sub>3</sub>/L y 3 mg O<sub>2</sub>/L en las postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* resultó letal (100 % de mortalidad) para los organismos donde la condición de hipoxia incremento el efecto adverso del amoniaco sobre los organismos.

Sousa y Meade (1977) señalan que en exposiciones del salmón *Oncorhynchus kisutch* a 0.1 mg N-amonio total/L se estimuló la glucólisis y esto ocasionó una progresiva acidemia con efecto negativo en la capacidad de transporte de oxígeno hacia los tejidos por la hemoglobina. Por su parte Chen y Cheng, (1993) mencionan que la concentración de hemocianina se redujo durante la exposición de *P. monodon* a más de 4.6 mg de N-amonio total/L. De igual manera, es probable que la exposición a la mayor concentración del amoniaco en combinación con 2 mg O<sub>2</sub>/L ocasionara alteraciones similares en los procesos respiratorios de las postlarvas de *P. setiferus*.

Entre las respuestas fisiológicas de los crustáceos a hipoxia se presenta decremento de la concentración de glucosa, incremento del ácido láctico (Anderson *et al*, 1994; Phillips *et al*, 1977) así como incremento de la afinidad de oxígeno por la hemocianina (Maltby, 1995). Con respecto al comportamiento de los organismos, algunos autores señalan que los organismos expuestos a hipoxia incrementan la ventilación, la frecuencia de batido del escafognatito (Rantin *et al*, 1996), patrones de hiperactividad; sin embargo también se señala reducción de la actividad locomotora, que permite mantener bajos niveles de lactato y en consecuencia mayor capacidad de sobrevivir por periodos prolongados a hipoxia (Anderson *et al*, 1994). En sistemas de cultivo intensivo resulta común encontrar concentraciones de 2 mg O<sub>2</sub>/L (Chang y Ouyang 1988) y 0.7 mg N-NH<sub>3</sub>/L (Wickins, 1976), lo cual advierte que debe de tenerse especial cuidado en sistemas donde pueda presentarse la exposición conjunta a elevados niveles de amoniaco y decrementos de oxígeno ambiental.

En relación al efecto de concentraciones subletales de nitrito sobre el consumo de oxígeno de las postlarvas se observó de manera general que la tasa respiratoria de los organismos expuestos a las tres concentraciones de nitrito tendió a disminuir con respecto a los organismos control. Las postlarvas expuestas a 5 mg N-NO<sub>2</sub>/L presentaron un comportamiento oxirregulador en el intervalo de 5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L y oxiconformador entre 3 a 1 mg O<sub>2</sub>/L. En esta concentración el nitrito no modificó la respuesta respiratoria de las postlarvas. Sin embargo, la reducción del consumo de oxígeno de las postlarvas de *P. setiferus* expuestas a 10 y 17.5 mg N-NO<sub>2</sub>/L en niveles de 5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L posiblemente puede asociarse al efecto del nitrito sobre la función del pigmento respiratorio. En este sentido, la respuesta respiratoria observada puede atribuirse a que este compuesto incrementa la afinidad de la hemocianina por el oxígeno, así como la razón proteína/hemocianina y en general puede disminuir el estado de oxigenación de la hemolinfá (Nedham, 1961; Chen y Cheng, 1995)

Por otra parte, contrario a lo esperado, se observó que la tasa respiratoria de las postlarvas expuestas a las tres concentraciones de nitrito (5, 10 y 17.5 mg N-NO<sub>2</sub>/L) se incrementó en baja concentración de oxígeno (2 mg O<sub>2</sub>/L), con respecto al consumo de oxígeno de los organismos expuestos sin contaminante. En este caso, es posible que esto represente una respuesta compensatoria que las postlarvas despliegan ante condiciones adversas con el fin de contrarrestar el deterioro fisiológico causado por el nitrito. Dentro de las posibles respuestas a éste comportamiento, se señala que el incremento del consumo de oxígeno en 2 mg O<sub>2</sub>/L puede atribuirse al gasto energético asociado con la eliminación de nitrito en contra de un gradiente de concentración, proceso que requiere de energía y puede

verse reflejado en un incremento de la tasa respiratoria (Renaud, 1986). Al respecto, se ha reportado, que el nitrito puede ser eliminado en contra de un gradiente de concentración en peces como la trucha arcoiris *Salmo gairdneri*, la carpa común *Cyprinus carpio* y el bagre *Ictalurus punctatus* (Bath y Eddy, 1980; Lewis y Morris, 1986).

A su vez, el incremento de la tasa respiratoria de las postlarvas expuestas a 5, 10 y 17.5 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L y 2 mg O<sub>2</sub>/L se podría atribuir a una mayor captación de oxígeno por la hemocianina inducido por el lactato producido en estas condiciones de hipoxia, el cual actúa como un modulador positivo de la hemocianina (Sanders *et al* 1992). Por otra parte éste incremento del consumo de oxígeno de las postlarvas expuestas a nitrito en bajas concentraciones de oxígeno disuelto podría atribuirse a un incremento de la actividad locomotora de los organismos, posiblemente como respuesta de escape ante las condiciones adversas (Phil y Baden, 1991). Al respecto Renaud (1986) establece que en postlarvas de *P. setiferus* expuestas a 2 mg O<sub>2</sub>/L los organismos incrementaron su nivel de actividad.

El incremento de la respiración en las postlarvas de *P. setiferus* podría deberse a un incremento de la síntesis de hemocianina. En este sentido Hagerman y Baden (1988) reporta que durante la exposición a hipoxia moderada (3 mg O<sub>2</sub>/L) los crustáceos tienen la capacidad de sintetizar hemocianina como proceso compensatorio cuando decrece la disponibilidad de oxígeno en el medio. Sin embargo debido a la corta duración de los experimentos es poco probable que esto hubiera sucedido.

Los resultados obtenidos permiten afirmar que el amoniaco y el nitrito pueden alterar de manera significativa el comportamiento respiratorio de las postlarvas y con esto el metabolismo general de los animales. Con base en lo anterior, se señala que concentraciones subletales por debajo de 0.4 mg N-NH<sub>3</sub>/L, 5 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L y 3 mg O<sub>2</sub>/L no causan alteraciones en la respiración de las postlarvas y se proponen como concentraciones limite para el desarrollo adecuado de las organismos en esta etapa de su desarrollo. Así mismo es importante destacar que la acumulación de compuestos nitrogenados en sistemas de cultivo donde las concentraciones de oxígeno disuelto disminuyen puede ser un riesgo para la producción.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## VI. CONCLUSIONES

- \* La toxicidad del amoníaco y del nitrito se incrementa con el tiempo de exposición.
- \* La  $CL_{50}$  24, 48 y 72 h de amoníaco y de nitrito son: 1.55, 1.20 y 1.11 mg N-NH<sub>3</sub>/L y 279, 240 y 167 mg N-NO<sub>2</sub>/L, respectivamente. El amoníaco es más tóxico que el nitrito para las postlarvas de *P. setiferus*.
- \* Las postlarvas de camarón blanco presentan un comportamiento oxirregulador de 5 a 3 mg O<sub>2</sub>/L y oxiconformador de 3 a 1 mg O<sub>2</sub>/L.
- \* La concentración de 0.4 mg N-NH<sub>3</sub>/L, así como diferentes niveles de oxígeno disuelto no modifican la tasa respiratoria de las postlarvas en tiempos cortos de exposición.
- \* La exposición de las postlarvas a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub>/L en combinación con 2 mg O<sub>2</sub>/L es letal para los organismos.
- \* La tasa respiratoria de las postlarvas no se modificó en 5 mg N-NO<sub>2</sub>/L. En 10 y 17.5 mg N-NO<sub>2</sub>/L el consumo de oxígeno se redujo en concentraciones mayores a 3 mg O<sub>2</sub>/L; sin embargo en 2 mg O<sub>2</sub>/L este se incrementó.
- \* La disminución de la concentración de oxígeno incrementa la toxicidad del amonio y del nitrito en las postlarvas de *Penaeus setiferus*.

## VII. LITERATURA CITADA

- Alcaraz, Z. G., X. Chiappa-Carrara. and C. Vanegas. 1997. Temperature tolerance of *Penaeus setiferus* postlarvae exposed to ammonia and nitrite. *Aquat. Toxicol.* 39:345-353.
- Alcaraz, M. 1974. Consumo de oxígeno en función del tamaño y la temperatura en crustáceos. *Inv. Pes.* 38(2):289-304.
- Allan, G. L., G. B. Maguire. and S. J. Hopkins. 1990. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. *Aquaculture.* 91:265-280.
- Allan, G. L. and G. B. 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.
- Anderson, S. J., A. L. Taylor. and R. J. A. Atkinson. 1994. Anaerobic metabolism during anoxia in the burrowing shrimp *Calocaris macandreae* Bell (Crustacea:Thalassinidea). *Comp. Biochem. Physiol.* 108A(4):515-522.
- Armstrong, D. A., D. Chippendale., A. W. Knight. and J. E. Colt. 1978. Interaction of ionized and un-ionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii* Biol. Bull. 154:15-31
- Arredondo, S. 1990. Análisis de cultivo de camarón en México al término de 1989 En: De La Lanza-Espino y Arredondo. (Eds.). *La Acuicultura en México: De Los Conceptos a la producción.* Instituto de Biología. UNAM. 77-104 p.
- Aquacop, E. and C. Soyez. 1988. Effects of dissolved oxygen concentration on survival and growth of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris*. *J. World Aquacult. Soc.* 19:13A.
- Bath, R. N. and F. B. Eddy. 1980. Transport of nitrite across fish gills. *J. Exp. Zool.* 214:119-121.
- Bower, C. E. and Bidwell. 1978. Ionization of ammonia in seawater: Effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish. Res. Board Can.* 35:1012-1016.
- Cech, J. J. 1990. Respirometry p 335-362 En: Schreck, C. B. y P. B. Moyle (Eds.). *Methods for Fish Biology.* Am. Fish. Soc. U. S. A.
- Chang, W. Y. B. and H. Ouyang. 1988. Dynamics of dissolved oxygen and vertical circulation in fish ponds. *Aquaculture.* 74:263-276.

- Charmantier, G., C. Soyeux, and Aquacop. 1994. Effect of molt stage hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 178:233-246.
- Chen, J. C. and S. F. Chen. 1992a. Accumulation of nitrite in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient nitrite. Comp. Biochem. Physiol. 103 C(3):477-481.
- Chen, J. C. and S. F. Chen. 1992b. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* juveniles. Comp. Biochem. Physiol. 101C(3):453-458.
- Chen, J. C. and S. Y. Cheng. 1993. Hemolymph P CO<sub>2</sub>, hemocyanin, protein levels and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. Aquat. Toxicol. 27:281-292.
- Chen, J. C. and S. Y. Cheng. 1995. Changes of oxyhemocyanin and protein levels in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient nitrite. Aquat. Toxicol. 33:215-226.
- Chen, J. C. and T. S. Chin. 1988. Acute toxicity of nitrate to tiger Prawn *Penaeus monodon*, larvae. Aquaculture. 69:253-262.
- 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 J. N. Lin. 1991. Lethal doses of ammonia on *Penaeus chinensis* larvae. Bull. Inst Zool. Acad. Sin. 30(4):289-297.
- Chen, J. C. and C. Y. Lin. 1992. Effect of ammonia on growth of *Penaeus penicillatus* juveniles. Comp. Biochem. Physiol. 101C (3):443-447.
- Chen, J. C. and F. H. Nan. 1991. Lethal effects of nitrite on *Metapenaeus ensis* larvae. J. World Aquacult. Soc. 22(1):51-56.
- Chin, T-S. and J. Chen. 1987. Acute toxicity of ammonia to larvae of the tiger prawn, *Penaeus monodon*. Aquaculture 66:247-257
- Clark, J. V. 1986. Inhibition of moulting in *Penaeus semisulcatus* (De Haand) by long-term hypoxia. Aquaculture. 52:253-254.
- Gaxiola, G. 1994. Requerimientos nutricionales de postlarvas y juveniles de *Penaeus setiferus*. Tesis de grado doctoral en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 110 p.

- Hagerman, L. and S. P. Baden. 1988. *Nephrops norvegicus*: field study of effects of oxygen deficiency on haemocyanin concentration. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 116:135-142.
- Herreid, C. F. 1980. Hypoxia in invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 67 A:311-320.
- Jayasankar, P. and M. S. Muthu. 1983. Toxicity of ammonia to the larvae of *Penaeus indicus* Milne Edwards. *Indian J. Fish.* 30(1):1-12.
- Jayasankar, P. and M. S. Muthu. 1995. Toxicity of nitrite to the larvae of *Penaeus indicus* H. Milne Edwards. *Indian J. Fish.* 30(2):231-240.
- Jobling, M. 1994. *Fish Bioenergetics*. Chapman & Hall. Londres. G. B. 309 p.
- Lewis, Jr., W. M. and D. P. Morris. 1986. Toxicity of nitrite to fish: A review. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 115:183-195
- Lin, H. P., P. Thuét., J. P. Trilles., R. Mounet-Guillaume. and G. Charmantier. 1993. Effects of ammonia on survival and osmoregulation of various development stages of the shrimp *Penaeus japonicus*. *Mar. Biol.* 117:591-598.
- Maltby, L. 1995. Sensitivity of the crustaceans *Gammarus pulex* (L.) *Asellus aquaticus* (L.) To short-term exposure to hypoxia and unionized ammonia: observations and possible mechanisms. *Wat. Res.* 29(3):781-787.
- Martínez, E. 1996. Condiciones para el crecimiento del camarón blanco *Penaeus setiferus*: Modelos para su cultivo. Tesis de grado doctoral en Biología. Facultad de Ciencias, U N A. M. México 95 p.
- Martínez, E., M. Aguilar., I. Hernández., E. Díaz -Iglesias., L. A. Soto., A. Sánchez. and C. Rosas. 1998. Lethal low dissolved oxygen concentrations for postlarvae and early juvenile *Penaeus setiferus* at different salinities and pH. *Jour. World Aquacult. Soc.* 29(2):221-229.
- Meijer, A., W. H. Lamers. and R. A. F. M. Chamoleav. 1990. Nitrogen metabolism and ornithine cycle function. *Physiol. Rev.* 70:701-748.
- Needham, A. E. 1961. The problem of metaemocyanin. *Nature.* 189:308-309.
- Ostrensky, A. and L. H. Poersch. 1992. Toxicidade aguda do nitrito na larvicultura do camarão-rosa *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *Neritica, Curitiba.* 7(1-2):101-107.
- Ostrensky, A. and W. Wasielesky. Jr. 1995. Acute of ammonia to various life stages of the Sao Paulo shrimp, *Penaeus paulensis*. *Aquaculture.* 132:339-347.

- Pequeux, A. and R. Gilles. 1981. Na<sup>+</sup> fluxes across isolated perfused gills of the chinese crab *Eriocheir sinensis* J. Exp. Bio. 92:173-186.
- Pihl, L., S. P. Baden, and R. J. Díaz. 1991 Effects of periodic hypoxia on distribution of demersal fish and crustaceans Mar. Biol. 108:349-360.
- Phillip. 1977. Lactic acid formation in crustaceans and liver function of the midgut gland questioned. Comp Biochem. Physiol. 56B:427-433
- Rantin, F. T., A. L. Kalinin. and J. C. de Freitas. 1996. Cardio-respiratory function of swimming blue crab *Callinectes danae* Smith, during normoxia and graded hypoxia. J. Exp. Mar. Biol. and Ecol. 198:1-10
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. Biol. Rev. 62:1-24.
- Renaud, M. L. 1986. Detecting and avoiding oxygen deficient sea water by brown shrimp, *Penaeus aztecus* (Ives), and white shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus) J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 98:283-292.
- Ramírez, E. 1989. Dosis-Respuesta. Ensayos biológicos y pruebas de toxicidad. Curso Regional INDERENA/PAC/PNUMA/FAO/COI. Cartagena, Colombia.
- Robles, M. C. 1997. Alteraciones fisiológicas de postlarvas y juveniles del camarón blanco *Penaeus setiferus* (Crustacea: Decapoda) por efecto del amoniaco. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. U. N. A. M. 38 p
- Rodier, J. C. 1981. Análisis de las aguas naturales, aguas residuales, aguas de mar. Omega. Barcelona. 504 p.
- Rosas, C., A. Sánchez., E. Díaz Iglesias., R. Brito., E. Martínez. and L. A. Soto 1997. Critical dissolved oxygen level to *Penaeus setiferus* and *P. schmitti* postlarvae (PL<sub>10-18</sub>) exposed to salinity changes. Aquaculture.(En prensa)
- Sanders, N. K., S. Morris., J. J. Childress. and B. R. Mc Mahon. 1992. Effects of ammonia, trimethylamine, L-Lactate and CO<sub>2</sub> on some decapod crustacean haemocyanins Comp. Biochem. Physiol. 101A(3):511-516
- Sandifer, P. A., J. S. Hopkins., D. A. Stokes. and Browdy, C. L. 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. Aquacult. Soc. 24(3):295-303.
- Seidaman, E. R. and A. L. Lawrence. 1985. Growth, feed digestibility and proximate body composition of juveniles *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* growth at different dissolved oxygen levels. J. World. Maricult. Soc. 16:333-346.

- Shaw, J. 1960. The absorption of sodium ions by the crayfish *Astacus pallipes* Lereboullet. III. The effect of other cations in the external solution. *J. Exp. Biol.* 37:548-556.
- SEMARNAP, 1995. Anuario estadístico de pesca. México. 232 p.
- Schmitt, A. S. C. and R. F. Uglow. 1997. Effects of ambient ammonia levels on blood ammonia, ammonia excretion and heart scaphognathite rates of *Nephrops norvegicus*. *Mar. Biol.* 127:411-418
- Sousa, R. J. and T. L. Meade. 1997. The influence of ammonia on the oxygen delivery system of coho Salmon hemoglobin. *Comp. Biochem. Physiol.* 58(A):23-28.
- Spotte, S. 1970. Fish and invertebrate culture water management in closed systems. Wiley & Son. New York. 145 p.
- Vanegas, P. C. 1997. Efectos subletales del cadmio y zinc en el camarón blanco *P. setiferus*. Tesis de grado doctoral en Biología. Facultad de Ciencias. U. N. A. M. 85 p.
- Whitfield, M. 1974. The hydrolysis of ammonium 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
- Young-Lai, W. W., D. M. Charmantier-Daures. and G. Charmantier. 1991. Effect of ammonia on survival and osmoregulation in different life stages of the lobster *Homarus americanus* *Marine Biology.* 110:293-300.
- Zar, J. H. 1974. Bioestatal Analysis. Prentice Hall, Englewood Cliffs. New Jersey. 718 pp.