



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

TOLERANCIA AL AMONIO, NITRITO Y OXIGENO  
DISUELTO EN POSTLARVAS Y JUVENILES DEL  
CAMARON BLANCO *Litopenaeus setiferus*  
(*Linnaeus, 1767*) Y *Litopenaeus vannamei*  
(*Boone, 1931*) (CRUSTACEA, DECAPODA).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

LUZ ELVIRA PIÑA CHACON



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM

DIRECTORA DE TESIS: DRA. RUTH CECILIA VANEGAS PÉREZ



2001 FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION 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. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA**  
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:  
"Tolerancia al amoníaco, nítrito y oxígeno disuelto en postlarvas y juveniles del  
camarón blanco *Litopeneus setiferus* (Linnaeus, 1767) y *Litopenaeus vannamei*  
(Boone, 1931) (CRUSTACEA, DECAPODA)".

realizado por Luz Elvira Piña Chacón

con número de cuenta 8937852-0, pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario

Dra. Ruth Cecilia Vanegas Pérez

Propietario

M. en C. Cecilia Robles Mendoza

Propietario

Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldía

Suplente

Dr. Singaraju Sri Subrahman Sarma

Suplente

Dr. Francisco Xavier Chitappa Carrara

Consejo Departamental de Biología

FACULTAD DE CIENCIAS  
U.N.A.M.



Dra. Patricia Ramos Morales

DEPARTAMENTO  
DE BIOLOGIA

*Dedico este logro a la memoria de Luis Eduardo Piña Chacón,  
como ofrenda a su amor por la vida, a su tenacidad y esfuerzo.  
Con tierno amor a su recuerdo perenne.*

*A mis padres, Gabriel y Rosa María, por el don de la vida y su amor y guía en mi formación como ser humano.*

*A mi madre por su gran amor, por su apoyo incondicional y su inquebrantable fe en mí.*

*A mis hermanos Gabriel y Miguel Ángel y a mis hermanas Rosy y Tere, quienes me han hecho conocer lo precioso e invaluable de la convivencia y el amor fraternos. Por su gran apoyo de todo tipo, en todo momento.*

*A mi esposo Erick y a mis hijos Erick Eduardo y Marco Alberto. En sus personas encuentro mi mayor tesoro y razón de vivir.*

*Todos ellos, mi familia, me hacen sentir afortunada y dar gracias a la vida.*

## A G R A D E C I M I E N T O S .

A la Dra. Cecilia Vanegas por su invaluable guía y esmerada dirección de esta Tesis. Por su enorme apoyo y su amistad.

A la Dra. Guillermina Alcaraz y al Dr. Xavier Chiappa por sus valiosas aportaciones a este trabajo y por su asesoría, así como por su colaboración en el Proyecto de Investigación del cual forma parte esta tesis.

Al Dr. Singaraju Sri S. Sarma por sus sugerencias y comentarios a este trabajo.

A la M. en C. Cecilia Robles por su valiosa asesoría y disposición en todo momento, así como colaboración en la fase experimental. Por su grata amistad y compañerismo.

A los M. en C. Verónica Espinoza y Hugo Molina. Su colaboración y amistad en la fase experimental hicieron de ésta una muy grata vivencia.

A Caty, Fabián, Eduardo y Susy por su amistad.

Al Grupo Camarón-UNAM del Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias, por el suministro de postlarvas de *Litopenaeus setiferus* para la realización de este experimento, así como por el alimento y dieta proporcionados para estos organismos.

A la Dirección General de Apoyo a Proyectos Académicos (DGAPA), por el apoyo otorgado al Proyecto "Evaluación del efecto de compuestos nitrogenados y niveles limitantes de oxígeno disuelto en la producción de postlarvas de camarones peneidos" (PAPIIT, IN204295), del cual forma parte esta Tesis.

Al Programa de Becas para Tesis de Licenciatura en Proyectos de Investigación de la Fundación UNAM por la beca otorgada para la realización de esta Tesis.

# INDICE

	Pag.
Resumen .....	2
I. Introducción.....	4
Objetivos.....	12
II. Material y Método	
A. Mantenimiento.....	13
B. Fase Experimental	
1. Tolerancia al amonio y nitrito.....	14
2. Tolerancia al oxígeno disuelto.....	16
C. Análisis Estadístico.....	18
III. Resultados	
A. Tolerancia al amonio y nitrito.....	20
1. Amonio	
a. <i>Litopenaeus setiferus</i> .....	20
b. <i>L. vannamei</i> .....	23
2. Nitrito	
a. <i>Litopenaeus setiferus</i> .....	25
b. <i>L. vannamei</i> .....	27
B. Tolerancia al oxígeno disuelto.....	30
IV. Discusión	
A. Tolerancia al amonio y nitrito.....	34
B. Tolerancia al oxígeno disuelto.....	44
V. Conclusiones.....	50
VI. Literatura citada.....	53
Anexo 1.....	i
Anexo 2.....	iv

## Resumen

En ambas costas de nuestro país se cultiva principalmente el peneido nativo del Pacífico *Litopenaeus vannamei*, si bien se ha demostrado que *Litopenaeus setiferus* es una especie con gran potencial de cultivo para el Golfo de México. El conocimiento y control de factores tales como la concentración de compuestos nitrogenados y oxígeno disuelto resultan fundamentales en el desarrollo de la acuicultura de tipo intensivo y semi-intensivo. En este trabajo se evaluó de manera comparativa la tolerancia de estas dos especies de peneidos al amonio, al nitrito y al oxígeno disuelto en las etapas de desarrollo de postlarva y juvenil.

La tolerancia al amonio y al nitrito de las dos especies de peneidos se evaluó mediante pruebas de toxicidad aguda de tipo estático, sin recambio, con duración de 120 h y se determinaron la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) y el tiempo mediano de muerte (TL<sub>50</sub>) del amonio y nitrito en cada estadio.

Para determinar la tolerancia al oxígeno disuelto en las postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*, se evaluó el metabolismo de rutina de los organismos en niveles decrecientes de oxígeno disuelto en el medio, mediante la medición de consumo de oxígeno.

Los bioensayos en *L. setiferus* se realizaron en postlarvas de 20 a 25 días ( $8.10 \pm 0.55$  -  $9.93 \pm 0.42$  mg) y juveniles de 37 a 41 días de edad ( $22.5 \pm 2.14$  -  $34.68 \pm 0.87$  mg). Para los bioensayos con *L. vannamei* se utilizaron postlarvas pl 24 a pl 26 ( $14.04 \pm 0.33$  mg), y juveniles pl 42 a pl 44 ( $79.21 \pm 1.93$  mg).

En *L. setiferus* la CL<sub>50</sub> de amonio a las 24, 48 y 72 h de exposición fue de 1.49, 1.21 y 1.12 mg N-NH<sub>3</sub>/l en postlarvas y de 1.37, 1.01, 0.94 y 0.89 mg N-NH<sub>3</sub>/l a las 24, 48, 72 y 96 h en juveniles. En *L. vannamei*, la concentración letal media de amonio para 24, 48, 72 y 96 h fue de 2.69, 2.08, 1.77 y 1.61 mg N-NH<sub>3</sub>/l en postlarvas y 2.81, 1.66, 1.40 y 1.23 mg N-NH<sub>3</sub>/l en juveniles. En las postlarvas de *L. setiferus* la CL<sub>50</sub> de nitrito correspondió a 268, 249 y 167 mg N-NO<sub>2</sub>/l a las 24, 48 y 72 h de exposición mientras que en los juveniles se encontraron CL<sub>50</sub> de 379, 184 y 138 mg N-NO<sub>2</sub>/l en tiempos de exposición de 48, 72 y 96 h. En *L. vannamei* la CL<sub>50</sub> de nitrito obtenida en períodos de 48, 72 y 96 h de exposición fue de 271.209 y 191 mg N-NO<sub>2</sub>/l para postlarvas y de 259, 153 y 122 mg N-NO<sub>2</sub>/l para juveniles, respectivamente.

La duración de los bioensayos así como las concentraciones experimentales utilizadas, no permitieron calcular los tiempos medianos de muerte para amonio y para nitrito en las postlarvas de *L. setiferus*. El tiempo mediano de muerte (TL<sub>50</sub>) para amonio se calculó en *L. setiferus* sólo para los juveniles expuestos a 0.6, 0.8 y 1.2 mg N-NH<sub>3</sub>/l con valores de 217, 87 y 37 h, respectivamente, mientras que en *L. vannamei* el TL<sub>50</sub> en las postlarvas expuestas a 1.0, 1.5, 1.75, 2.0 y 2.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l fue de 192, 105, 86, 44.5 y 36.4 h; los juveniles de esta última especie fueron expuestos a concentraciones de 0.3, 1.3, 1.5, 2.5 y 3.0 mg N-NH<sub>3</sub>/l y presentaron valores de TL<sub>50</sub> de 169.5, 85.4, 52.6, 29.9 y 12.5 h, respectivamente. Los juveniles de *L. setiferus* expuestos a 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 mg N-NO<sub>2</sub>/l presentaron tiempos medianos de muerte de 136, 122, 97, 83, 57 y 46 h. La exposición a estas mismas concentraciones de nitrito produjo tiempos medianos de muerte de 157, 129, 77, 61, 51 y 22 h en las postlarvas de *L. vannamei* y de 177, 106, 50, 53, 51, 47 y 30 h en los juveniles de esta misma especie, respectivamente.

En condiciones normóxicas (5 mg O<sub>2</sub>/l), el consumo de oxígeno de las postlarvas y juveniles de *L. setiferus* fue de 1.2 y 0.95 mg O<sub>2</sub>/h/g, respectivamente y el de *L. vannamei* fue de 1.22 y 0.84 mg O<sub>2</sub>/h/g. En *L. setiferus* las postlarvas presentaron un comportamiento oxirregulador desde 5 hasta 2 mg O<sub>2</sub>/l, a partir del cual presentaron un comportamiento oxígeno-dependiente. En los juveniles, el intervalo de oxirregulación se ubicó entre 5 y 3 mg O<sub>2</sub>/l y el de oxígeno-dependencia entre 3 y 1 mg O<sub>2</sub>/l. Las postlarvas de *L. vannamei* oxirregularon entre 5 y 3 mg O<sub>2</sub>/l y en concentraciones menores mostraron un comportamiento respiratorio oxígeno-dependiente. El punto crítico de consumo de oxígeno determinado en postlarvas y juveniles de *L. setiferus*, y en postlarvas de *L. vannamei* fue de 1.98, 3.1 y 3.2 mg O<sub>2</sub>/l respectivamente. Los juveniles de *L. vannamei* presentaron un comportamiento respiratorio oxígeno-dependiente en todo el intervalo de concentraciones de oxígeno evaluadas (5 a 1 mg O<sub>2</sub>/l).

La exposición en 3 y 1 mg O<sub>2</sub>/l provocó mortalidad en los juveniles y las postlarvas de *L. setiferus* mientras que

en *L. vannamei* la sobrevivencia no fue alterada.

La tolerancia al amonio de *L. setiferus* y *L. vannamei* no presenta diferencias significativas a escala intraespecífica. Cabe señalar que las postlarvas de *L. vannamei* presentaron únicamente una  $CL_{50}$  mayor que los juveniles de la especie a las 96 h de exposición. Asimismo, las postlarvas de *L. vannamei* son más tolerantes al efecto tóxico del amonio que las de *L. setiferus*, mientras que la sensibilidad de los juveniles de ambas especies es similar. De manera general, las postlarvas de *L. setiferus* son más sensibles al amonio que otras especies de peneidos y las de *L. vannamei* son, por el contrario, de tolerancia similar o mayor a la de varias especies. La resistencia a la toxicidad del amonio en los juveniles de ambas especies fue menor o similar a la de otros peneidos.

La sensibilidad al nitrito de *L. setiferus* y *L. vannamei* no presenta diferencias intraespecíficas significativas, exceptuando la  $CL_{50}$  a las 96 h de exposición en *L. vannamei*, la cual fue mayor en postlarvas que en juveniles. Sin embargo, la tolerancia a la toxicidad del nitrito de *L. vannamei* es similar a la de *L. setiferus* tanto en el estadio postlarval como en el juvenil. Ambas especies son más resistentes a la toxicidad del nitrito que otras especies de peneidos reportadas.

Se proponen niveles de seguridad correspondientes 0.09, 0.16 y 0.12 mg/l de  $N-NH_3$  para los juveniles de *Litopenaeus setiferus* y postlarvas y juveniles de *L. vannamei*, respectivamente..

En cuanto al nitrito, los niveles de seguridad propuestos en este estudio para las postlarvas de *L. setiferus*, así como postlarvas y juveniles de *L. vannamei* son de 13.73, 19.09 y 12.17 mg/l  $N-NO_2$ , respectivamente. Tanto *L. setiferus* como *L. vannamei* son ampliamente más resistentes al nitrito que la mayoría de los peneidos.

Los resultados obtenidos sugieren que la relación entre la edad de los organismos y su sensibilidad al amonio y al nitrito es especie-específica.

De acuerdo a lo planteado en la discusión, *L. vannamei* resultaría una especie con mayor potencial de cultivo que *L. setiferus* ya que presenta mayor tolerancia al amonio y a los bajos niveles de oxígeno disuelto, pero la resistencia de *L. setiferus* al nitrito y al virus NHHH, así como su rendimiento en la producción le confieren también un gran potencial de cultivo.

## I. INTRODUCCIÓN

Los camarones son, sin duda alguna, los crustáceos más importantes desde el punto de vista económico. En 1999 las granjas camaroneras reportaron, a escala mundial, una producción de 1, 130 730 toneladas métricas cuyo valor ascendió a 6 669 855.3 miles de dólares (FAO, 1999). Considerando el valor del producto, la camaronicultura resulta ser claramente una industria multimillonaria de amplitud mundial (Spaargaren, 1999).

Tailandia, China y Ecuador son los mayores productores de camarón cultivado, mientras que en 1999 México ocupó el onceavo lugar en el mundo y el segundo en Latinoamérica al producir 29 120 toneladas de este crustáceo en sistemas de cultivo. De ellas, el 95 % provino del litoral del Pacífico, donde se ubican 335 de las 347 granjas existentes en el país (SEMARNAP, 2000).

En el Pacífico se cultiva principalmente la especie nativa *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), debido a que su talla y biomasa total al momento de la cosecha, así como la tasa de crecimiento, resultan superiores a la de otras especies nativas cultivables (*Farfantepenaeus stylirostris* y *F. californiensis*). Numerosas investigaciones se han realizado respecto a las características nutricionales de *L. vannamei* (Martínez-Cordova, Porchas-Cornejo *et al.*, 1998), así como a su fisiología, reproducción y ecología (Moreno *et al.*, 1997; Martínez-Cordova *et al.*, 1998; Palacios *et al.*, 1999; Montoya, *et al.*, 1999).

El reducido desarrollo de la camaronicultura en el Golfo de México obedece fundamentalmente a que no se cuenta con la tecnología adecuada que garantice la rentabilidad del cultivo de las especies nativas. No obstante, se han realizado investigaciones dirigidas a establecer las condiciones requeridas para el cultivo de estas especies. En el Golfo de México se distribuyen *Farfantepenaeus schmittii*, *F. duorarum*, *F. notialis*, *F. aztecus* y el camarón blanco *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767). Esta última es una especie con gran potencial

de cultivo dadas las tallas comerciales que logra en los sistemas de producción y su tolerancia a las variaciones ambientales, entre otras características propias de la especie (Sandifer *et al.*, 1993). Asimismo se han definido y optimizado las condiciones nutrimentales adecuadas para la producción, desarrollo y crecimiento de las larvas y postlarvas de la especie (Orellana, 1993; Gaxiola, 1994; Re-Regis, 1995; Rosas *et al.*, 1995; Gallardo *et al.*, 1995).

Varias investigaciones han demostrado que el rendimiento de *L. vannamei* es superior al de *L. setiferus* sobre todo en cuanto a características de crecimiento (Parker *et al.*, 1974; Conte, 1978). No obstante, Sandifer *et al.* en 1993 re-evaluó el potencial de cultivo de *L. setiferus* comparándolo con el de *L. vannamei* y evidenció ciertas desventajas de esta última especie; entre ellas, la dificultad para conseguir postlarvas de manera continua, la creciente preocupación respecto a la susceptibilidad de esta especie hacia las enfermedades virales y la imposibilidad de adquirir reproductores libres del virus NHHI (Necrosis Hematopoyética Hipodermal Infecciosa). Como resultado de sus estudios, los autores concluyen que *L. setiferus* tiene la ventaja de no ser un huésped natural del virus NHHI y que es una especie definitivamente capaz de ser cultivada de manera intensiva. Así, tanto *L. vannamei* como *L. setiferus* resultan especies de gran valor por su rendimiento en el cultivo.

La tendencia actual hacia la acuicultura de tipo intensivo y semi-intensivo demanda conocimientos que permitan el control de los factores físicos y químicos que determinan la calidad del agua requerida para el crecimiento y desarrollo satisfactorio de los organismos. Entre tales factores, las concentraciones de oxígeno disuelto y de compuestos nitrogenados (amonio y nitrito) resultan de suma importancia, ya que pueden ser determinantes en la rentabilidad de este recurso

En los crustáceos, del 60 % al 100 % de la excreción nitrogenada se libera en forma de ion amonio, como producto final del catabolismo de las proteínas (Regnault, 1987). En el medio acuático, el amonio es utilizado como sustrato por bacterias quimioautótrofas (*Nitrosomonas sp.*) las cuales oxidan este compuesto transformándolo en nitrito y a su vez éste es transformado en nitrato por otras bacterias (*Nitrobacter sp.*), realizando así el proceso de nitrificación. La nitrificación depende de factores tan diversos como la concentración de

oxígeno disuelto, la temperatura y el pH, así como de las concentraciones de amonio y nitrito en el medio (Bhavender y Ahlert, 1977).

Aunque en el ambiente marino usualmente el amonio y el nitrito se presentan en bajas concentraciones, pueden llegar a acumularse bajo condiciones de cultivo, alcanzando concentraciones estresantes de 0.81 mg/l N-amonio y 0.12 mg/l N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en la cría de larvas de *Penaeus monodon* y 6.50 mg/l N-NH<sub>4</sub> y 4.61 N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en los estanques de crecimiento de *P. penicillatus* (Chen *et al.*, 1986,1989). Chen *et al.* 1988 reportan que en un sistema de cultivo intensivo de *P. penicillatus*, el amonio se incrementó exponencialmente respecto al tiempo de cultivo, alcanzando 46.11 mg/l N<sub>t</sub> (nitrógeno total) y 0.87 mg/l N-NH<sub>3</sub> después de 115 días de cultivo, aún con un recambio semanal del 30%. En granjas camarónicas mexicanas Franco, M.A. (1998) reporta concentraciones máximas de 0.52 mg/l N-NH<sub>3</sub> y 0.02 mg/l N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en el efluente de estanques de cultivo semi-intensivo en Mazatlán, Sinaloa.

La acumulación del amonio en los sistemas de cultivo es producido por el alta densidad poblacional y recambios de agua insuficientes. Específicamente, dicha acumulación se debe a la amonificación de los fertilizantes y alimento que son adicionados a los estanques, así como a la excreción de productos nitrogenados realizada por los organismos en cultivo (Chen y Lin, 1992).

En el agua, el amonio total se presenta como NH<sub>3</sub> (amonio no ionizado o amoniaco) y NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (amonio ionizado), donde la proporción relativa de NH<sub>3</sub> y NH<sub>4</sub><sup>+</sup> depende principalmente del pH y en menor grado de la temperatura y la salinidad (Bower y Bidwell, 1978).

En los organismos acuáticos, generalmente se atribuye la toxicidad del amonio a las moléculas de NH<sub>3</sub> (Hampson, 1976), pese a la evidencia de que el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> afecta de modo adverso diversas funciones fisiológicas (Campbell, 1973). En el agua marina, que normalmente posee un pH de 8.2, la fracción no ionizada de amonio resulta mayor que la ionizada. Cuando aumenta la concentración de amonio en el medio externo, la toxicidad probablemente es ocasionada por la rápida difusión entrante de NH<sub>3</sub>, además de que al impedirse la difusión libre del amonio

excretado del cuerpo ( $\text{NH}_4^+$ ) hacia el medio externo, éste se acumula en el animal (Jayasankar y Muthu, 1983).

La toxicidad del amonio se atribuye a la alteración del sistema nervioso en los organismos (Wright, 1995). En *P. chinensis* se ha demostrado que la exposición a 5.43 mg/l de N- $\text{NH}_3$  modifica la actividad de la  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPasa branquial a partir de las 4 h (Chen y Nan, 1992), alterando la osmorregulación y la excreción nitrogenada, mientras que en *P. japonicus* niveles de 1.14 mg/l de N- $\text{NH}_3$  en el medio disminuyen la concentración de sodio, potasio, magnesio y cloro en hemolinfa, lo que afecta la osmorregulación (Chen y Chen, 1996). De igual manera, en los juveniles de *P. chinensis* la exposición a 0.19 mg N- $\text{NH}_3$  /l incrementa el consumo de oxígeno al cabo de 4 h (Chen y Lin, 1992b), y en *P. japonicus* se incrementa la tasa respiratoria por efecto de concentraciones superiores a 0.34 mg N- $\text{NH}_3$  /l (Chen y Lai, 1992). De igual manera, una concentración de 0.2 mg/l N- $\text{NH}_3$  en el medio ocasiona un aumento en el consumo de oxígeno de las postlarvas de *L. vannamei* a partir de las 4h de exposición (Molina, 1998).

De acuerdo a Alcaraz *et al.* (1999b), concentraciones de 0.4 mg N- $\text{NH}_3$  /l en combinación con 4 mg/l de oxígeno en el medio reducen 16.8% el consumo de oxígeno de las postlarvas de *P. setiferus*, mientras que la exposición a 0.7 mg/l N- $\text{NH}_3$  por un período de 72 h disminuye la tolerancia térmica de manera evidente (Alcaraz *et al.*, 1997c). A su vez, la exposición aguda a 5 mg/l de nitrógeno de amonio total, modifica el patrón de excreción de *P. japonicus* de amoniotélico a ureotélico, como mecanismo de desintoxicación del amonio (Chen y Cheng, 1993). El amonio también puede modificar la concentración de la hemocianina, pigmento respiratorio en los crustáceos, alterando así el suministro de oxígeno a los tejidos. La exposición a 20 mg/l de N-amonio por 24 h produjo un decremento del 23.8% en la concentración de la hemocianina de *P. monodon* (Chen, Chen y Cheng, 1994).

En exposiciones crónicas, el amonio disminuye el crecimiento y altera la frecuencia de muda tanto en etapas larvales como en juveniles y puede causar la muerte en casos extremos (Chen y Lin, 1991; Chen y Lin, 1992a). Así, la exposición a una concentración de 0.7 mg/l N- $\text{NH}_3$  , determinada como subletal, ocasiona un decremento significativo en el crecimiento de las

postlarvas de *P. setiferus* al cabo de 14 días (Robles, 1997). En general se propone que la tolerancia de los peneidos hacia el efecto tóxico de este compuesto nitrogenado aumenta al avanzar el desarrollo ontogenético de los organismos. Así, la concentración letal media obtenida en 24 h de exposición en nauplios, protozoas y mysis de *Penaeus indicus* fue de 0.29, 0.95 y 3.17 mg N-NH<sub>3</sub>/l, respectivamente (Jayasankar y Muthu, 1983). De igual manera Chen *et al.* 1993 señalan que la CL<sub>50</sub> de amonio en 96 h de zoea (I-III), mysis (I-III), postlarva (pl 1) y juveniles tardíos (10.4 ± 1.1 g) de *P. japonicus* corresponde a 0.5, 0.6 a 0.7, 0.9, 1.3 y 3.1 mg N-NH<sub>3</sub>/l, respectivamente.

La acumulación del nitrito es considerada transitoria en la mayoría de los ambientes naturales (Anthoniscn *et al.* 1976). El incremento en los niveles de nitrito en los sistemas de cultivo de camarón puede ser inducido por (a) conversión insuficiente de nitrito a nitrato por filtros biológicos florísticamente inmaduros; (b) flujo elevado del agua que pasa por el filtro, lo que no permite que la nitrificación se complete antes de que el agua regrese al sistema de cultivo; (c) condiciones deficientes de los filtros biológicos, como bajas concentraciones de oxígeno disuelto, que generan condiciones anaerobias y reconversión de nitrato a nitrito d) alteración en el equilibrio de las poblaciones de bacterias nitrificadoras (Armstrong *et al.*, 1976).

En sistemas de cultivo superintensivo de *P. penicillatus*, el nitrito alcanza en ocasiones 0.844 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l aún con un 30% de recambio semanal (Chen *et al.*, 1988). A su vez, Chen, Chin y Lee (1986) reportan una concentración de 4.61 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l en estanques de crecimiento de *P. monodon*.

Los niveles estresantes de nitrito reducen las tasas de crecimiento de los organismos y en casos extremos ocasionan mortalidades considerables en postlarvas y camarones adultos (Chen y Chin, 1988; Chen y Nan, 1991). El efecto del nitrito en los crustáceos se atribuye principalmente a la interacción de este compuesto con la hemocianina. En la hemocianina, cada uno de los sitios de unión con el oxígeno posee dos átomos de cobre (Cu<sup>+</sup>Cu<sup>+</sup> en la desòxihemocianina), los que modifican su estado de oxidación al ligarse con el oxígeno (Cu<sup>++</sup>Cu<sup>++</sup> en la oxihemocianina). Así, la hemocianina realiza una reacción de óxido-reducción

durante su oxigenación y desoxigenación. El nitrito es un fuerte agente oxidante y puede reaccionar con la hemocianina formando metahemocianina, la cual pierde su afinidad por el oxígeno alterando el suministro de este elemento a los tejidos (Chen y Cheng, 1995), si bien se reporta que dicha oxidación puede ser reversible (Needham, 1961). Cheng y Chen (1999) reportan que en *P. monodon* la exposición al nitrito, disminuye la proporción de oxihemocianina y aumenta la proporción de desoxihemocianina, por lo que sugieren que la captura de oxígeno disminuye de manera concomitante con el pH por efecto de este compuesto. Asimismo, se ha comprobado en *P. monodon* que la exposición a 20.57 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l por 24 h, disminuye la concentración de proteínas en la hemolinfa en un 24.2% (Chen y Cheng 1995). Además, la concentración extracelular de aminoácidos disminuye y aumenta la osmolalidad (Jensen, 1996), a la vez que se altera el pH en la hemolinfa (Chen y Cheng, 1994).

La excreción nitrogenada es uno de los procesos fisiológicos evidentemente afectados por la exposición a concentraciones tóxicas de nitrito. En *P. japonicus*, la exposición a 50 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l por 24 h, causó un aumento de 289 % en el nitrógeno de amonio excretado (Chen y Cheng, 1995). De acuerdo a Alcaraz *et al.* (1997b) la exposición a 5, 10 y 17.5 mg/l N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en condiciones normóxicas de 5 mg O<sub>2</sub>/l, disminuyó en 17, 20 y 25%, el consumo de oxígeno de las postlarvas de *L. setiferus* respecto a los organismos no expuestos al nitrito. Asimismo, Cheng y Chen (1998) reportaron que la respiración y el metabolismo del nitrógeno de *P. monodon* fueron afectados tras la exposición a una concentración tan baja como 0.002 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> mg/l.

Al igual que el amonio, la toxicidad del nitrito aumenta al incrementarse el período de exposición, mientras que la tolerancia de los organismos a este compuesto es mayor conforme avanza su estado de desarrollo (Chen y Nan, 1991; Chen y Tu, 1990).

En el ambiente acuático y particularmente en los sistemas de cultivo, la concentración de oxígeno disuelto es uno de los principales factores limitantes. La alta densidad poblacional y la adición de grandes cantidades de alimento, tienen como efecto el abatimiento en los niveles

de este elemento (Allan y Maguire, 1991). Entre los efectos negativos generados por bajas concentraciones de oxígeno está el incremento en la mortalidad y la disminución del crecimiento de los organismos (Seidman y Lawrence, 1985). A su vez, altera la frecuencia de muda y la osmorregulación (Clark, 1986; Charmantier *et al.*, 1994).

En los sistemas de cultivo las bajas concentraciones de oxígeno pueden incrementar la toxicidad de algunos contaminantes, como el amonio y el nitrito. Así, en postlarvas de *Penaeus setiferus* la exposición a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> y 4 mg O<sub>2</sub>/l, redujo en un 74.7% el consumo de oxígeno de los organismos respecto al grupo no expuesto, mientras que la exposición simultánea a 5 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y 4 mg O<sub>2</sub>/l ocasionó un decremento del 23.2% en el consumo de oxígeno de postlarvas de la misma especie (Alcaraz *et al.* 1999b). Asimismo, el consumo de oxígeno de las postlarvas de esta misma especie expuestas a 5, 10 y 17.5 mg/l N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en un medio con 2 mg/l de oxígeno disuelto, fue 24, 31 y 28% menor al presentado por aquellos organismos expuestos a las mismas concentraciones de nitrito en condiciones normóxicas de 5 mg O<sub>2</sub>/l, respectivamente (Alcaraz *et al.* 1997b).

Los organismos aeróbicos han sido tradicionalmente clasificados como conformadores si su consumo de oxígeno varía directamente con la presión parcial de oxígeno del ambiente o como reguladores si su consumo de oxígeno es independiente de este factor (Herreid, 1980). Al respecto cabe señalar que ninguna especie es un regulador perfecto a través de todo el intervalo de concentraciones de oxígeno. La concentración de oxígeno en la que un organismo cambia su comportamiento respiratorio de regulador a conformador, se conoce como punto crítico (Herreid, 1980).

Existen numerosos factores capaces de modificar el punto crítico de un organismo, entre los que está la temperatura, la actividad, la fase del ciclo de muda, la concentración del pigmento respiratorio en la sangre y la salinidad. En algunas especies también se ve afectado por la talla, así como por la manipulación en el laboratorio, la hora del día o alteraciones en su circulación o respiración (Herreid, 1980).

Así, las concentraciones de amonio, nitrito y oxígeno disuelto son los principales factores limitantes para la producción en los sistemas de cultivo. *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei* son especies importantes en el ámbito acuacultural gracias a su rendimiento en la producción. Por lo anterior, el conocimiento de la sensibilidad de estas especies hacia el amonio, el nitrito y el oxígeno disuelto será de gran ayuda para conseguir niveles exitosos en su producción, y con ello la rentabilidad de su cultivo y la expansión de esta actividad económica.

## OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo fue evaluar de modo comparativo la tolerancia al amonio, al nitrito y al oxígeno disuelto en etapas de desarrollo tanto postlarval como juvenil de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*.

Objetivos particulares:

1. Determinar la concentración letal media de amonio y nitrito en postlarvas y juveniles de *L. setiferus* y de *L. vannamei*.
2. Establecer niveles de seguridad de amonio y de nitrito para postlarvas y juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei*.
3. Evaluar el comportamiento respiratorio en niveles decrecientes de oxígeno disuelto de postlarvas y juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei* y determinar el punto crítico de oxígeno en los dos estadios de ambas especies.
4. Con base en la información generada, comparar la tolerancia al amonio, al nitrito y al oxígeno disuelto en postlarvas y juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Mantenimiento

Los organismos se obtuvieron a partir de hembras grávidas, en laboratorios de producción de postlarvas. Las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* fueron proporcionadas por la empresa NAUPLIO S.A., ubicada en La Paz, Baja California Sur, mientras que los individuos de *L. setiferus* fueron proporcionados por el Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias de la U.N.A.M., localizado en Cd. del Carmen, Campeche. Los experimentos se realizaron de octubre de 1995 a octubre de 1997. Las postlarvas se trasladaron al Laboratorio de Ecofisiología en bolsas de polietileno con agua filtrada del medio de cultivo, y con atmósfera saturada de oxígeno. La temperatura y salinidad del agua fluctuó entre 18 a 22 °C y 34 a 38‰.

En el laboratorio, los organismos se colocaron en agua marina artificial ("Instant Ocean") en contenedores de plástico con capacidad de 60 l, aditados con filtros mecánicos externos o en acuarios de 240 l provistos con filtro biológico. La salinidad y temperatura se mantuvieron por 24 horas en valores similares a los de transporte. Posteriormente la temperatura se incrementó gradualmente 2 °C y se disminuyó la salinidad 2 ‰ por día, hasta alcanzar 28 °C y 25 ‰. Se mantuvo el oxígeno disuelto a saturación, el pH en  $8.0 \pm 0.2$  y el fotoperíodo en 12 h luz : 12 h oscuridad, al igual que un pH de 7.8-8.2. Estas condiciones se mantuvieron constantes durante el período de mantenimiento.

La salinidad, la temperatura, la concentración de oxígeno disuelto y el pH se registraron diariamente, utilizando un Refractómetro Atago ( $\pm 0.5\%$ ), un oxímetro con sensor polarizado YSI 50B ( $\pm 0.5 \text{ mg O}_2/\text{l}$ ;  $\pm 0.05 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y un pHmetro LSI Walk Lab ( $\pm 0.05$ ), respectivamente.

Las postlarvas se alimentaron *ad libitum* con alimento particulado (40%) tres veces por día (8,

12 y 16 h), suministrándoles el 100% de su peso corporal. Por las noches se proporcionaron, como complemento alimenticio, nauplios de *Artemia* recién eclosionados (marca *Argentemia*, 10 nauplios/postlarva). En la etapa juvenil (a partir de pL 35) sólo se suministró alimento particulado (40% proteína) al 100% de su peso corporal, distribuido tres veces al día.

El período de mantenimiento previo a la fase experimental fue de 8 a 16 días para las postlarvas de ambas especies. Para realizar los bioensayos correspondientes al estadio juvenil, las postlarvas se conservaron en mantenimiento por 17 a 26 días (de acuerdo a la edad de las postlarvas al llegar al laboratorio), lapso en el que alcanzaron la etapa de juvenil temprano.

## B. Fase Experimental

### 1. Tolerancia al amonio y al nitrito.

Para evaluar la toxicidad aguda del amonio en *L. setiferus*, se utilizaron postlarvas de 25 días (pL 25;  $9.93 \pm 0.42$  mg) y juveniles de 37 días de edad (pL 37;  $22.51 \pm 2.14$  mg), mientras que en las pruebas con nitrito se utilizaron postlarvas de 20 días (pL 20;  $8.10 \pm 0.55$  mg) y juveniles de 41 días de edad (pL 41;  $34.68 \pm 0.87$  mg). Para los bioensayos de toxicidad aguda de amonio y nitrito en *L. vannamei* se utilizaron postlarvas pL 24 a pL 26 ( $14.04 \pm 0.33$  mg) y juveniles pL 42 a pL 44 ( $79.21 \pm 1.93$  mg).

Para estimar la toxicidad aguda del amonio y del nitrito tanto en postlarvas como juveniles de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*, se determinaron la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) y el tiempo mediano de muerte (TL<sub>50</sub>) (Buikema et al., 1982).

La toxicidad aguda del amonio y del nitrito en *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei* se determinaron mediante pruebas estáticas sin recambio (Buikema et al., 1982), con duración de 120 h, a excepción de los bioensayos efectuados en las postlarvas de *L. setiferus*, que fue de 72 h de duración. La selección de las concentraciones experimentales a evaluar se basó en los datos reportados para otros peneidos, así como en los resultados de biobúsquedas realizadas en el laboratorio.

Las concentraciones experimentales de amonio variaron de acuerdo a la sensibilidad de la especie y el estadio, y se establecieron entre 0.2 y 3.0 mg N-NH<sub>3</sub>, con intervalos de 0.25 y 0.5 mg N-NH<sub>3</sub> /l (Anexo 1.1 a 1.4). Se evaluó un mínimo de 7 condiciones experimentales por bioensayo. Las diferentes soluciones de amonio se prepararon a partir de una solución madre de cloruro de amonio (NH<sub>4</sub>Cl, Baker 99.76% de pureza). La cantidad de solución madre que se adicionó a los acuarios experimentales se determinó con base en la salinidad, pH y temperatura del agua de los mismos (Bower y Bidwell, 1978), a fin de obtener la concentración deseada de amonio no ionizado.

En los bioensayos con nitrito se establecieron 7 condiciones experimentales que cubrieron de 50 a 350 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l, con intervalos de 50 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> mg /l. Estas concentraciones se obtuvieron adicionando a los acuarios experimentales la cantidad necesaria de una solución madre de nitrito de sodio (NaNO<sub>2</sub>, Baker, 99.76% de pureza). En cada bioensayo se mantuvo un grupo sin adición de contaminante, como testigo. Todas las pruebas se realizaron por duplicado.

Los organismos se dejaron de alimentar 20 horas antes de iniciar cada bioensayo y se les mantuvo en ayuno durante el mismo. Los camarones fueron capturados al azar en el acuario de mantenimiento, se pesaron y se trasladaron a acuarios experimentales de 3 l de capacidad, colocados en un baño termostático a 28 ± 1 °C. Se colocaron 10 organismos por condición experimental y se mantuvieron 12 h antes de adicionar el tóxico.

La mortalidad en cada acuario se registró a las 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, y 24 h de exposición al compuesto nitrogenado y cada 24 h hasta el término del bioensayo. El criterio para asumir la muerte del organismo fue la ausencia de movimiento al ser tocado con una varilla de vidrio. Los animales muertos se retiraron continuamente para evitar el deterioro en la calidad del agua de los acuarios experimentales.

Durante el bioensayo la temperatura, la salinidad y el oxígeno disuelto, al igual que el fotoperíodo, se mantuvieron similares a los del período de mantenimiento. El pH varió entre

las diferentes pruebas de 8.0 a 8.6, pero se mantuvo constante durante el transcurso de cada bioensayo.

La concentración del tóxico en los acuarios experimentales se evaluó cada 24 horas. El amonio se determinó mediante la técnica del azul de indofenol (Rodier, 1981). Posteriormente se calculó la proporción de  $N-NH_3/L$  existente en los acuarios experimentales considerando el pH, la temperatura y la salinidad de los mismos (Bower y Bidwell 1978). Para evaluar la concentración de nitrito ( $N-NO_2/L$ ) se utilizó la técnica de sulfanilamida (Rodier, 1981).

## 2. Tolerancia al oxígeno disuelto.

Para determinar la tolerancia al oxígeno disuelto en las postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei* se evaluó el comportamiento respiratorio de los organismos en niveles decrecientes de oxígeno disuelto en el medio, mediante la medición de consumo de oxígeno. Los camarones utilizados en esta fase experimental, tuvieron la misma procedencia y las mismas condiciones de mantenimiento que los organismos sujetos al efecto tóxico agudo del amonio y del nitrito. La edad de las postlarvas de *L. vannamei* utilizadas fue de pL 26 ( $19.46 \pm 1.2$  mg PH) y la de los juveniles, pL 43 ( $81.73 \pm 6.01$  mg PH). En *L. setiferus* se emplearon postlarvas de 29 a 32 días de edad y juveniles pL 40 ( $30.41 \pm 1.49$  mg).

Durante las pruebas experimentales, los camarones se sometieron a niveles decrecientes de 5, 4, 3, 2 y 1 mg/l de oxígeno disuelto, para evaluar su comportamiento respiratorio.

Para estimar el consumo de oxígeno de los camarones se utilizaron sistemas respirométricos de flujo continuo conectados a un suministro controlado de nitrógeno gaseoso a fin de regular las concentraciones deseadas de oxígeno disuelto (Seidman y Lawrence, 1985 y Fig. 1). Cada sistema consistió en 11 cámaras respirométricas inmersas en un baño termostático ( $28 \pm 1$  °C). Cada cámara estuvo provista con llaves de entrada y salida, que permitieron regular el flujo de agua a las mismas. La capacidad de las cámaras fue de 16 ml para las postlarvas y de 50 ml para los juveniles.

Cada sistema se conectó a un reservorio de agua de mar con temperatura regulada ( $28 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y  $25 \text{ } \text{‰} \pm 1$  de salinidad. Para evitar la incorporación de oxígeno del medio se colocó una cubierta de plástico sobre su superficie.

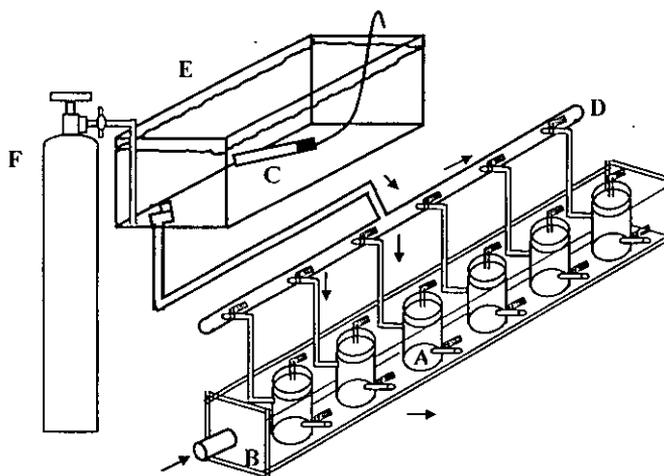


Fig. 1. Esquema del sistema respirométrico empleado para estimar la tolerancia al oxígeno disuelto en los camarones. A: cámara respirométrica B: baño termostregulado C: calentador con termostato D: distribuidor de agua, E: reservorio, F: suministro regulado de nitrógeno gaseoso.

Previamente al ensayo, los organismos se mantuvieron 12 horas en ayuno en los acuarios de mantenimiento. Se colocaron 10 organismos de manera individual en las cámaras respirométricas para cada estadio y para cada especie; una cámara sin organismo se utilizó como control.

Antes de las mediciones, los organismos se mantuvieron 2 horas en las cámaras respirométricas a fin de disminuir el estrés causado por la manipulación. Durante este período se mantuvo un flujo de agua adecuado y constante, conservando un mínimo de  $5 \text{ mg/l}$  de oxígeno disuelto en el agua de salida de las cámaras.

Posteriormente se tomaron muestras del agua de entrada de cada cámara y se interrumpió el flujo. Después de una hora de cerrado para las postlarvas y media hora para los juveniles, se.

tomaron muestras de agua de cada cámara. Se restableció el flujo de agua en las cámaras por 1 hora para postlarvas y 1.5 h para juveniles. Enseguida se suspendió el flujo y se efectuaron las siguientes mediciones de acuerdo al procedimiento descrito. Durante los períodos de cierre, la concentración de oxígeno en el reservorio se fijó en el siguiente nivel decreciente por inyección controlada de nitrógeno gaseoso, de tal manera que al restablecer el flujo de agua los organismos se expusieron subsecuentemente al nivel de oxígeno inmediato inferior.

Al terminar las mediciones de consumo de oxígeno, los organismos se sacrificaron y se pesaron en una balanza analítica (Sauter,  $\pm 0.05$  mg).

Para estimar la tasa de consumo de oxígeno de cada organismo, se obtuvo la diferencia entre las concentraciones final e inicial del gas (mg/l) y se consideró el tiempo de cerrado de la cámara, así como el volumen de la misma (Cech, 1990):

$$QO_2 = \frac{O_{2i} - O_{2f}}{t} * V$$

donde:

$QO_2$  = consumo de oxígeno  $mg O_2 h^{-1}$

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

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

$v$  = volumen de la cámara ( l )

$t$  = tiempo de cerrado ( h ).

El valor obtenido fue corregido por el valor de la cámara control. Se consideró el peso húmedo (PH) de los organismos para obtener el consumo de oxígeno peso específico ( $mg O_2 g^{-1} PH h^{-1}$ ).

### C. Análisis Estadístico

Los registros de mortalidad obtenidos en los bioensayos de toxicidad aguda de compuestos nitrogenados fueron procesados en el programa de cómputo DORES (Ramírez, 1989), con el fin de obtener la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) a las 24, 48, 72, 96 y 120 h de exposición y el tiempo mediano de muerte ( $TL_{50}$ ), tanto para amonio como nitrato. Para la determinación de

la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) y el tiempo mediano de muerte ( $TL_{50}$ ) del amonio y el nitrito, tanto en las postlarvas como en los juveniles de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*, se utilizó el modelo Probit - X, excepto para el cálculo de las  $CL_{50}$  de nitrito en juveniles de *L. setiferus*, las cuales se obtuvieron mediante el modelo Probit -  $\log X$ . Los modelos utilizados fueron los que presentaron un mayor ajuste de acuerdo a la prueba de  $x^2$  y a los coeficientes de determinación, los cuales en general fueron superiores a 0.9 (Anexo 2).

Se calcularon los intervalos de confianza de estos valores ( $CL_{50}; TL_{50} \pm ES t_{(0.05, g)}$  ; Zar, 1984) para estimar las diferencias significativas entre los diferentes grupos. Asimismo, se obtuvieron las ecuaciones que describen la relación  $CL_{50}$  vs. t y  $TL_{50}$  vs. t en cada estadio de cada especie, para amonio y nitrito, por medio de una regresión logarítmica. En cada caso se aplicó un análisis de varianza para determinar la significatividad de la regresión.

Para cada estadio y por especie, a los resultados obtenidos se les aplicó un análisis de varianza de comparación múltiple no paramétrico de Kruskal-Wallis a fin de determinar el efecto significativo de las concentraciones de oxígeno disuelto sobre la tasa respiratoria. Las diferencias significativas se detectaron por la prueba no paramétrica de Newman-Keuls (Zar, 1984). Las diferencias significativas entre estadios y especies se evaluaron a través de la prueba de comparación de grupos pares de Mann-Whitney (Zar, 1984). Para el análisis estadístico se utilizó el programa de cómputo STATGRAPHICS Vers. 5.0.

### III. RESULTADOS

Durante la fase de aclimatación y mantenimiento, no se observó mortalidad en los peneidos. En este período se mantuvieron constantes la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto y el pH en  $28 \pm 0.5$  °C,  $25 \pm 1$  ‰,  $5.5 \pm 0.1$  mg O<sub>2</sub>/l y  $8.1 \pm 0.1$  unidades, respectivamente.

Durante el período experimental se mantuvo la misma salinidad, temperatura y oxígeno disuelto de la etapa de mantenimiento. Al inicio de los bioensayos el pH fluctuó entre 8.2 y 8.4, variación que se mantuvo a lo largo de las pruebas y que fue considerada para la adición de amonio en los acuarios experimentales.

#### A. Tolerancia al amonio y al nitrito

Durante el desarrollo de los diferentes bioensayos, la mortalidad observada en los grupos testigo fue nula o inferior al 10%.

##### 1. Amonio

###### a. *Litopenaeus setiferus*

En las postlarvas de esta especie el período máximo de exposición fue de 72 h. La mortalidad de los organismos se incrementó al aumentar el tiempo de exposición. A las 24 h, se registró una mortalidad del 80% en las concentraciones de 2.0 y 1.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l. Para las 48 h, estas mismas concentraciones se presentaron 90% y 95 % de mortalidad, respectivamente, mientras que en 1.25 y 1.0 mg N-NH<sub>3</sub>/l la mortalidad fue de 65% y 15%. Se alcanzó un 100% de mortalidad a las 72 h únicamente en la mayor concentración experimental, de 2.0 mg N-NH<sub>3</sub>/l, mientras que la menor mortalidad en este lapso fue de 30%, en 1.0 mg N-NH<sub>3</sub>/l (Anexo 1.1).

Las CL<sub>50</sub> calculadas a las 24, 48 y 72 h de exposición fueron de 1.49, 1.21 y 1.12 mg N-NH<sub>3</sub>/l,

correspondientes a 14.72, 9.51 y 9.01 mg N-amonio total/l, respectivamente, considerando un pH de 8.2 (Tabla 1, Fig. 2A).

En cuanto a los juveniles, se obtuvo un 100% de mortalidad en 2.8 mg N-NH<sub>3</sub>/l, a las 24 h de exposición. Esta misma mortalidad se presentó en 2.4, 2.0 y 1.6 mg N-NH<sub>3</sub>/l a las 48 h, y en 1.2 mg N-NH<sub>3</sub>/l a las 120 h. El primer registro de mortalidad para 0.8 se presentó a las 48 h (29%), y llegó a 94% en un lapso de 144 h. Al término del bioensayo, la menor mortalidad, de 5% y 32%, se obtuvo en 0.4 y 0.6 mg N-NH<sub>3</sub>/l respectivamente (Anexo 1.2).

Tabla 1: Valores de CL<sub>50</sub> ± IC de amonio (mg N-NH<sub>3</sub>/l) en postlarvas y juveniles de *L. vannamei* y *L. setiferus*

TIEMPO	<i>Litopenaeus setiferus</i>		<i>Litopenaeus vannamei</i>	
	Postlarvas	Juveniles	Postlarvas	Juveniles
24	1.49 ± 0.19	1.37 ± 0.28	2.69 ± 0.95	2.81 ± 0.89
48	1.21 ± 0.18	1.01 ± 0.28	2.08 ± 0.35	1.66 ± 0.51
72	1.12 ± 0.20	0.94 ± 0.23	1.77 ± 0.14	1.40 ± 0.34
96	nd	0.89 ± 0.19	1.61 ± 0.13	1.23 ± 0.17
120	nd	nd	1.45 ± 0.14	1.14 ± 0.27
144	nd	0.64 ± 0.12	1.32 ± 0.15	nd

nd: No determinado.

Las CL<sub>50</sub> calculadas para los juveniles de *L. setiferus* fueron 1.37, 1.01, 0.94, 0.89 y 0.64 mg N-NH<sub>3</sub>/l, correspondientes a 24, 48, 72, 96 y 144 h de exposición, respectivamente (Tabla 1; Fig. 2A). Los valores anteriores equivalen a 1.57, 1.16, 1.08, 1.02 y 0.73 mg N-amonio total, considerando un pH de 8.2. De acuerdo a los resultados obtenidos, la toxicidad del amonio en los juveniles no difiere del de las postlarvas de la especie en tiempos de exposición similares (P>0.05), (Fig. 2A).

Las ecuaciones que relacionan las CL<sub>50</sub> del amonio obtenidas en los diferentes tiempos de exposición en las postlarvas y juveniles de *L. setiferus* se señalan en la Tabla 2. Los coeficientes de determinación fueron elevados en todos los casos, mayores de 0.93. Asimismo las regresiones fueron significativas (P<0.05) excepto para las postlarvas de *L. setiferus*, debido a que el reducido número de puntos implica una restricción estadística.

En relación con el tiempo mediano de muerte, esto es, el tiempo (h) en el cual muere el 50% de la población (TL<sub>50</sub>) en una concentración dada, se utilizó el modelo Probit-X. El tiempo

mediano de muerte ( $TL_{50} \pm IC$ ) se calculó sólo para los juveniles de *L. setiferus* expuestos a 0.6, 0.8, y 1.2 mg N-NH<sub>3</sub>/l con valores de 217, 87 y 37 h, respectivamente (Tabla 3). De tal manera, conforme se incrementa la concentración de amonio, el tiempo en el cual muere el 50% de la población se reduce significativamente.

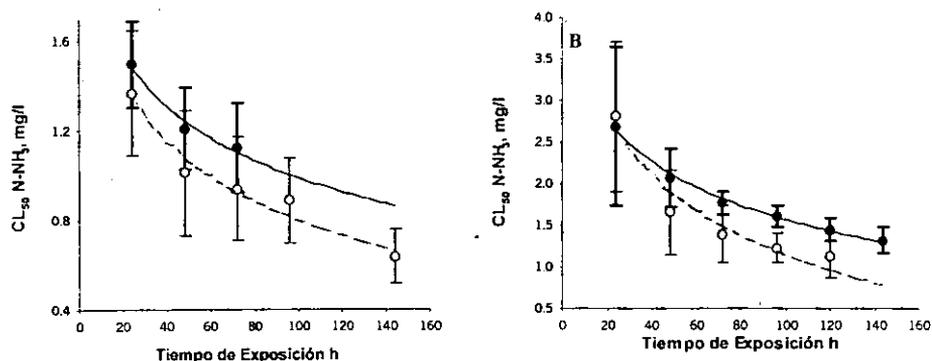


Fig. 2. Concentración letal media ( $CL_{50} \pm IC$ ) de amonio en postlarvas (●) y juveniles (○) de *Litopenaeus setiferus* (A) y *L. vannamei* (B) en diferentes periodos de exposición.

Tabla 2. Ecuaciones que relacionan la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de amonio (y) y el tiempo de exposición (x) en postlarvas (P) y juveniles (J) de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*.

			$r^2$	n	P
<i>Litopenaeus setiferus</i>	P	$y = -0.35 \ln(x) + 2.58$	0.98	3	0.100
	J	$y = -0.38 \ln(x) + 2.54$	0.96	5	0.007
<i>Litopenaeus vannamei</i>	P	$y = -0.76 \ln(x) + 5.05$	0.99	6	0.000
	J	$y = -1.03 \ln(x) + 5.90$	0.93	5	0.008

Tabla 3. Valores de  $TL_{50} \pm IC$  de amonio en juveniles de *Litopenaeus setiferus* y en postlarvas y juveniles de *L. vannamei*.

<i>L. setiferus</i>		<i>Litopenaeus vannamei</i>			
Juveniles		Postlarvas		Juveniles	
mg N-NH <sub>3</sub> /l	$TL_{50}$ (h)	mg N-NH <sub>3</sub> /l	$TL_{50}$ (h)	mg N-NH <sub>3</sub> /l	$TL_{50}$ (h)
0.6	212.7 ± 267.05	1.00	192.1 ± 215.0	0.3	169.5 ± 76.4
0.8	87.12 ± 26.13	1.50	105.3 ± 9.0	1.3	85.4 ± 18.1
1.2	36.95 ± 10.97	1.75	86.0 ± 10.9	1.5	52.6 ± 11.3
		2.00	44.5 ± 5.5	2.5	29.9 ± 2.8
		2.50	36.4 ± 8.512	3.0	12.5 ± 36.3

### b. *Litopenaeus vannamei*

En las postlarvas expuestas al amonio, el 100% de mortalidad se obtuvo sólo en la mayor concentración, de 2.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l, a las 96 h de exposición. En la menor concentración experimental, 0.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l, se registró el 5% de mortalidad a las 120 h. En 2.0, 1.75 y 1.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l la mortalidad no rebasó el 50% sino hasta las 48, 96 y 120 h de exposición respectivamente (Anexo 1.3).

A partir de los registros de mortalidad a las 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h se calcularon las CL<sub>50</sub> correspondientes, que fueron 2.69, 2.08, 1.77, 1.61, 1.45 y 1.32 mg N-NH<sub>3</sub>/l. (Tabla 1; Fig. 2B). Los valores respectivos en términos de N-amonio total/l fueron de 20.46, 15.82, 13.49, 12.27, 11.02 y 10.06 mg/l, considerando un pH de 8.4.

Todos los juveniles expuestos a 3.0, 2.5 y 1.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l murieron en un lapso de 48, 72 y 120 h, respectivamente. En las concentraciones inferiores a 1.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l (88% de mortalidad en 144 h) no se superó el 50% de mortalidad durante el bioensayo (Anexo 1.4).

Tanto para las postlarvas como para los juveniles de *L. vannamei*, las regresiones obtenidas que relacionan a la CL<sub>50</sub> del amonio con el tiempo de exposición fueron significativas (P<0.05), con coeficientes de determinación elevados (mayores de 0.93) (Tabla 2).

Los valores de CL<sub>50</sub> obtenidos fueron de 2.8, 1.66, 1.40, 1.23 y 1.14 mg N-NH<sub>3</sub>/l para tiempos de exposición de 24, 48, 72, 96 y 120 h, respectivamente (Tabla 1). Considerando un pH de 8.3, estas concentraciones correspondieron a 34.39, 15.48, 13.01, 11.45, 10.59 y 5.92 mg N-amonio<sub>total</sub>/l.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la toxicidad del amonio en las postlarvas y juveniles de *L. vannamei* es similar hasta las 72 h de exposición (P>0.05); a partir de ese período el efecto tóxico del amonio es mayor en los juveniles que en las postlarvas (P<0.05)(Tabla 1; Fig. 2B).

Los registros de mortalidad realizados durante este bioensayo fueron adecuados para

determinar el tiempo mediano de muerte en casi todas las concentraciones experimentales, a partir del modelo Probit-X. Los valores de  $TL_{50}$  resultantes reflejan que en concentraciones similares (1.5, 2.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l), los juveniles de *L. vannamei* son más sensibles al efecto tóxico del amonio que las postlarvas de la especie (Tabla 3: Fig. 3). Las ecuaciones que relacionan las  $TL_{50}$  y las concentraciones de amonio en las postlarvas y juveniles, se señalan en la Tabla 4; en ambos casos los coeficientes de determinación ( $r^2$ ) fueron elevados, mayores de 0.89. Sin embargo la probabilidad de error de la regresión supera el 0.05% en el caso de las postlarvas.

Tabla 4. Ecuaciones que relacionan el tiempo mediano de muerte ( $TL_{50}$ ; y) y la concentración de amonio ( $\ln x$ ) en postlarvas (P) y juveniles (J) de *L. vannamei*.

Especie		Ecuación	$r^2$	n	P
<i>Litopenaeus vannamei</i>	P	$y = -143.5 \ln(x) + 160.41$	0.89	4	0.058
	J	$y = -67.67 \ln(x) + 89.98$	0.98	5	0.001

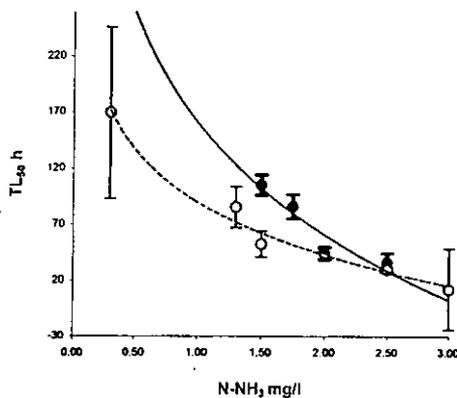


Fig. 3. Tiempo mediano de muerte ( $TL_{50} \pm IC$ ) para diferentes concentraciones de amonio en postlarvas (●) y juveniles (○) de *L. vannamei*.

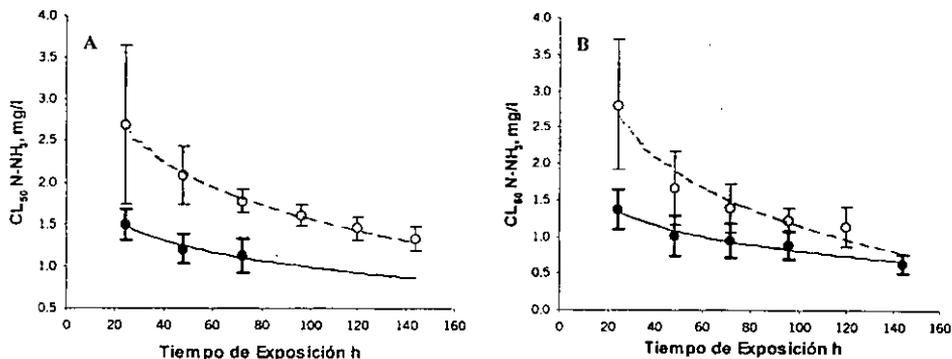


Fig. 4. Gráfica comparativa de la concentración letal media de amonio ( $CL_{50} \pm IC$ ), para diferentes períodos de exposición en las postlarvas (A) y en los juveniles (B) de *Litopenaeus setiferus* (●) y *L. vannamei* (○).

De acuerdo a los resultados obtenidos, tanto las postlarvas como los juveniles de *L. vannamei*, fueron más resistentes al efecto tóxico del amonio que los estadios correspondientes en *L. setiferus* ( $P < 0.05$ ) (Fig. 4).

## 2. Nitrito

### a. *Litopenaeus setiferus*

En las postlarvas, los registros de mortalidad no alcanzaron el 100% en ninguno de los grupos experimentales. La mayor mortalidad registrada, 95%, se observó en 300 mg  $NO_2^-/l$ , a las 72 horas de exposición; en esta misma concentración la mortalidad fue del 70% en las primeras 24 horas. En 48 h de exposición murió un 50% de la población expuesta a 250 mg  $NO_2^-/l$  %. El menor porcentaje de mortalidad fue de 20%, en 50 mg  $NO_2^-/l$  a las 72 horas de exposición (Anexo 1.5).

Las  $CL_{50}$  calculadas correspondieron a 268.06, 248.84 y 167.33 mg  $NO_2^-/l$ , a las 24, 48 y 72 horas de exposición (Tabla 5, Fig. 5A).

En cuanto al comportamiento de los juveniles de esta especie, se registró un aumento en la

mortalidad conforme avanzó el tiempo de exposición. De esta manera, la mortalidad registrada a las 24 horas de exposición en la mayor concentración, de 350 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l, fue de 15%, pero alcanzó el 100% en 96 horas. La mortalidad total se presentó también en 300 y 200 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l hasta las 120 y 144 h de exposición, respectivamente. En la menor concentración, de 50 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l, la mortalidad se elevó de 0% a 67% al aumentar el período de exposición de 24 a 144 h (Anexo 1.6).

La concentración letal media calculada para este estadio a las 48, 72, 96, 120 y 144 horas de exposición al nitrito fue de 378.7, 183.74, 137.31, 99.59 y 20.73 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l, respectivamente (Tabla 5, Fig. 5A).

Las regresiones que describen la relación de las CL<sub>50</sub> en los diferentes tiempos de exposición, tanto para las postlarvas como los juveniles se señalan en la Tabla 6. En las postlarvas de *L. setiferus* el reducido número de datos ocasiona un margen de error superior al 0.05%.

Tabla 5. Valores de CL<sub>50</sub> ± IC de nitrito (mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l) en postlarvas y juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei*.

TIEMPO	<i>Litopenaeus setiferus</i>		<i>Litopenaeus vannamei</i>	
	Postlarvas	Juveniles	Postlarvas	Juveniles
24	268.06 ± 61.93	1124 ± 7403		389.60 ± 222.71
48	248.84 ± 53.67	378.70 ± 183.43	271.47 ± 36.77	259.36 ± 59.75
72	167.33 ± 65.17	183.74 ± 37.78	208.93 ± 31.18	152.99 ± 46.52
96	nd	137.31 ± 32.04	190.86 ± 26.42	121.67 ± 41.91
120	nd	99.59 ± 43.36	155.34 ± 29.11	102.70 ± 52.10
144	nd	20.73 ± 74.88	132.66 ± 28.54	76.43 ± 59.16

nd: no determinado.

Tabla 6. Ecuaciones que relacionan la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de nitrito (y) y el tiempo de exposición (Ln x) en postlarvas (P) y juveniles (J) de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*.

			R <sup>2</sup>	gl	n	P
<i>Litopenaeus setiferus</i>	P	y = -84.80Ln(x) + 548.23	0.78	2	3	0.314
	J	y = -301.56Ln(x) + 1519.2	0.96	4	5	0.004
<i>Litopenaeus vannamei</i>	P	y = -122.58Ln(x) + 742.72	0.99	4	5	0.001
	J	y = -177.84Ln(x) + 944.0	0.98	5	6	0.000

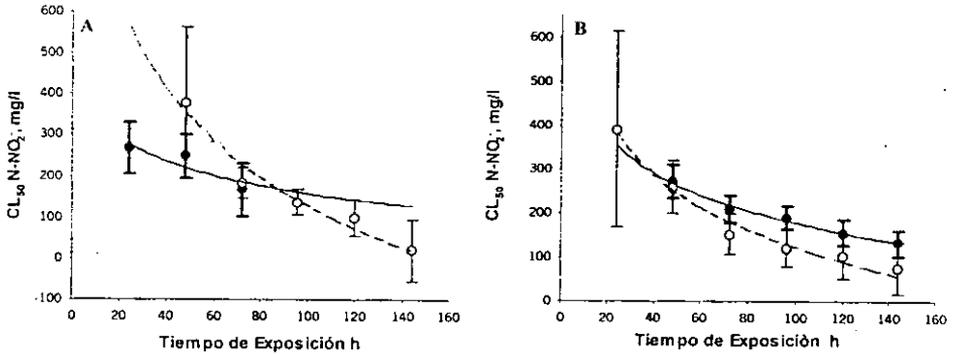


Fig. 5. Concentración letal media ( $CL_{50} \pm IC$ ) de nitrito en postlarvas (●) y juveniles (○) de *Litopenaeus setiferus* (A) y *L. vannamei* (B) en diferentes períodos de exposición.

De acuerdo a los resultados, en las primeras horas de exposición la toxicidad del nitrato es mayor en las postlarvas que en los juveniles de *L. setiferus*; sin embargo al aumentar el tiempo de exposición el efecto tóxico del compuesto tiende a ser mayor en los juveniles.

En las postlarvas de *L. setiferus* no fue posible calcular los tiempos medianos de muerte ( $TL_{50}$ ) en las diferentes concentraciones experimentales, debido al número de registros y a la duración de este bioensayo. En los juveniles de *L. setiferus*, el tiempo mediano de muerte disminuyó al incrementarse la concentración del nitrito; el 50% de los organismos murieron en 136, 122, 97, 83, 57 y 46 horas al ser expuestos a 50, 100, 150, 200, 300 y 350 mg  $N-NO_2^-/l$  respectivamente (Tabla 7; Fig. 6B). El modelo que describe la relación entre  $TL_{50}$  y las diferentes concentraciones de nitrito fue significativo ( $P < 0.05$ ) (Tabla 8).

#### b. *Litopenaeus vannamei*.

Las postlarvas de esta especie presentaron 50% de mortalidad en 24 y 48 horas al ser expuestas a las mayores concentraciones, de 350 y 300 mg  $N-NO_2^-/l$ , respectivamente. Estas mismas concentraciones ocasionaron la muerte de la totalidad de los organismos al aumentar el período de exposición a 72 y 96 h. Al término del bioensayo (144 h), la menor mortalidad, de 5.3%, se observó en 50 mg  $N-NO_2^-/l$ . (Anexo 1.7).

Los registros de mortalidad no permitieron calcular la concentración letal media para 24 h de exposición al nitrito; a las 48, 72, 96, 120 y 144 h de exposición las  $CL_{50}$  obtenidas correspondieron a 271.47, 208.93, 190.86, 155.34 y 132.66 mg N- $NO_2^-/l$  (Tabla 5; Figura 5B).

Tanto en las postlarvas como en los juveniles de *L. vannamei* las regresiones realizadas para relacionar las  $CL_{50}$  obtenidas en los diferentes tiempos de exposición, fueron significativas ( $P < 0.05$ ) (Tabla 6).

Al igual que en los bioensayos anteriores, a la mortalidad de los juveniles de *L. vannamei* tendió a incrementarse al aumentar el período de exposición. La mayor concentración experimental, 350 mg N- $NO_2^-/l$ , causó 53% de mortalidad en las primeras 24 horas, y llegó al 100% en 96 h de exposición. A su vez, en 300 y 200 mg N- $NO_2^-/l$  la totalidad de los organismos expuestos murió en 120 y 144 h, mientras que en 50 mg N- $NO_2^-/l$  la mortalidad fue de 28% al término del bioensayo (144 h). Mortalidades de 53 y 50% se observaron en 250 y 100 mg N- $NO_2^-/l$  en lapsos de 48 y 120 h (Anexo 1.8).

Las  $CL_{50}$  obtenidas en organismos expuestos al nitrito durante 24, 48, 72, 96, 120 y 144 horas al nitrito fueron 389.6, 259.36, 152.99, 121.67, 102.7 y 76.43 mg N- $NO_2^-/l$ , respectivamente (Tabla 5).

Con relación a los tiempos medianos de muerte ( $TL_{50}$ ), el incremento en la concentración experimental de nitrito resultó en una menor tolerancia por parte de las postlarvas, ya que en 100, 150, 200, 250, 300 y 350 mg N- $NO_2^-/l$  se observó el 50% de mortalidad en los organismos ( $TL_{50}$ ) a las 157, 129, 77, 61, 51 y 22 horas de exposición (Tabla 7; Fig. 6A).

En los juveniles, a su vez, el incremento en la concentración de nitrito redujo la sobrevivencia en los grupos experimentales; en concentraciones de 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 mg N- $NO_2^-/l$ , los tiempos medianos de muerte fueron de 177, 106, 50, 53, 51, 47 y 30 horas, respectivamente (Tabla 7; Fig. 6A).

Tanto en postlarvas como en juveniles de *L. vannamei*, el modelo empleado para relacionar los TL<sub>50</sub> y las concentraciones de nitrito correspondientes fue significativo (P<0.05), con coeficientes de determinación superiores a 9.5 (Tabla 8).

Tabla 7. Valores de TL<sub>50</sub> ± IC de nitrito en postlarvas y juveniles de *L. vannamei* y en juveniles de *L. setiferus* (h).

mg N-NO <sub>2</sub> /l	<i>Litopenaeus setiferus</i>	<i>Litopenaeus vannamei</i>	
	Juveniles	Postlarvas	Juveniles
50	135.6 ± 32.4	nd	177.1 ± 247.2
100	122 ± 20.1	156.9 ± 38.7	105.8 ± 28.0
150	96.5 ± 15.9	129.4 ± 15.9	49.9 ± 40.3
200	82.8 ± 13.8	77.1 ± 11.5	53.0 ± 13.1
250	nd	60.6 ± 14.1	50.9 ± 13.2
300	57.1 ± 13.4	50.5 ± 9.7	46.7 ± 7.8
350	45.7 ± 9.3	22.0 ± 7.0	30.0 ± 7.1

nd: no determinado.

Tabla 8. Ecuaciones que relacionan el tiempo mediano de muerte (TL<sub>50</sub>) y la concentración de nitrito en juveniles (J) de *Litopenaeus setiferus* y en postlarvas (P) y juveniles de *L. vannamei*.

Especie		Ecuación	r <sup>2</sup>	n	P
<i>Litopenaeus vannamei</i>	P	$y = -103.09 \ln(x) + 629.91$	0.99	6	0.000
	J	$y = -56.96 \ln(x) + 364.72$	0.95	5	0.005
<i>Litopenaeus setiferus</i>	J	$y = -47.61 \ln(x) + 331.06$	0.96	6	0.001

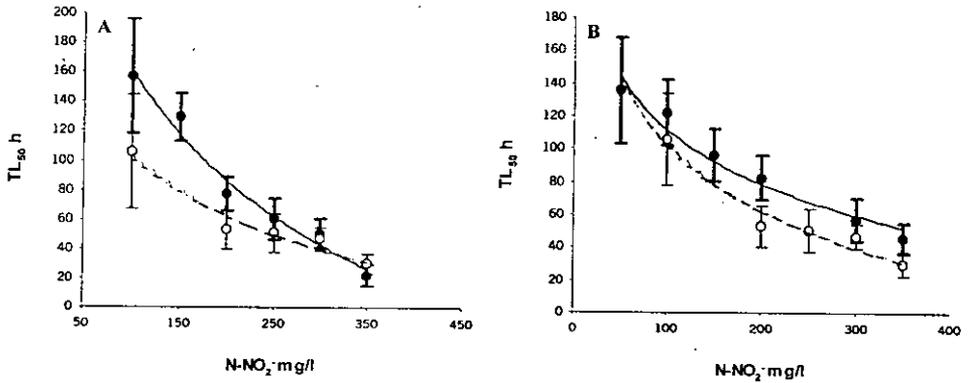


Fig. 6. Tiempo mediano de muerte (TL<sub>50</sub> ± IC) para diferentes concentraciones de nitrito en postlarvas (●) y juveniles (○) de *L. vannamei* (A) y en juveniles de *L. setiferus* (●) y *L. vannamei* (○) (B).

Tanto el tiempo mediano de muerte como la concentración letal media obtenidas para el nitrito en esta especie, señalan que las postlarvas tienden a ser más resistentes al efecto tóxico del nitrito que los juveniles (Fig. 5 y 6).

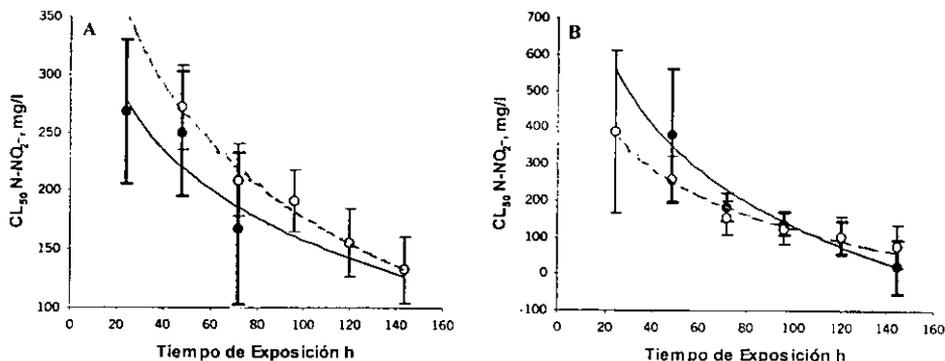


Fig. 7. Gráfica comparativa de la concentración letal media de nitrito ( $CL_{50} \pm IC$ ), para diferentes períodos de exposición en las postlarvas (A) y en los juveniles (B) de *Litopenaeus setiferus* (●) y *L. vannamei* (○).

De acuerdo a los valores de  $CL_{50}$ , el efecto tóxico del nitrito tiende a ser menor en las postlarvas de *L. vannamei* que en las de *L. setiferus*, si bien la diferencia entre estas especies disminuye conforme aumenta el tiempo de exposición. En cuanto a los juveniles, en términos generales *L. setiferus* resulta más resistente a la toxicidad del nitrito que *L. vannamei* hasta las 96 h de exposición; en exposiciones mayores (144 h) este comportamiento se invierte (Fig. 7).

### B. Tolerancia al oxígeno disuelto

El consumo de oxígeno ( $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$ ) de las postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus* y *Litopenaeus vannamei*, evaluado en niveles decrecientes de oxígeno disuelto (OD), se señala en la Tabla 9.

Los resultados obtenidos en ambas especies denotan que en condiciones normóxicas ( $5 \text{ mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ ) la tasa respiratoria peso específica de las postlarvas fue mayor que la de los juveniles ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, al disminuir el nivel de OD en el medio, el comportamiento respiratorio difirió entre especies (Tabla 9; Fig. 8).

Tabla 9. Consumo de oxígeno ( $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$ ) en niveles decrecientes de oxígeno disuelto ( $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ ) en postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*. Se señalan valores de  $X \pm \text{ES}$ .

mg $\text{O}_2 \text{ l}^{-1}$	<i>Litopenaeus setiferus</i>		<i>Litopenaeus vannamei</i>	
	Postlarvas	Juveniles	Postlarvas	Juveniles
5	$1.2 \pm 0.08^{AA}$	$0.95 \pm 0.09^{AB}$	$1.22 \pm 0.07^{AA}$	$0.84 \pm 0.05^{AB}$
4	$1.19 \pm 0.05^{AA*}$	$1.08 \pm 0.11^{AA}$	$1.43 \pm 0.09^{B*}$	ne
3	$1.01 \pm 0.08^{AA}$	$0.94 \pm 0.05^{AA*}$	$1.34 \pm 0.07^{AA}$	$0.66 \pm 0.04^{BB*}$
2	$0.99 \pm 0.8^{AA}$	$0.5 \pm 0.06^{BB}$	$0.84 \pm 0.07^{BA}$	$0.46 \pm 0.10^{CB}$
1	$0.58 \pm 0.09^b$	†	$0.62 \pm 0.09^{BA}$	$0.42 \pm 0.07^{CA}$

Letras minúsculas diferentes entre valores de una misma columna denotan diferencias significativas.  
 Letras mayúsculas diferentes entre los estadios de una misma especie denotan diferencias significativas

\* Denota diferencias significativas respecto al mismo estadio de la otra especie

ne: No evaluado.

† Mortalidad elevada.

En *L. setiferus* las postlarvas presentaron un comportamiento oxirregulador desde 5 hasta 2  $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ , ya que al disminuir la concentración de OD el consumo de oxígeno no varió de manera significativa ( $P < 0.05$ ). A partir de 2  $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ , las postlarvas presentaron un comportamiento oxígeno-dependiente, disminuyendo la tasa respiratoria a medida que se redujo la concentración de OD en el medio. En condiciones de hipoxia severa (1  $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ ) el consumo de oxígeno fue 58 % menor que el observado en 2  $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$  (Tabla 9; Fig. 8).

Tabla 10. Ecuaciones que describen el comportamiento oxirregulador y oxígeno-dependiente de las postlarvas (P) y juveniles (J) de *L. setiferus* y *L. vannamei*.  $\text{QO}_2$  = consumo de oxígeno ( $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$ ); OD = oxígeno disuelto ( $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ )

Especie	Estadio	Oxirregulación	( $R_2$ )	Oxidependencia	( $R_2$ )
<i>L. setiferus</i>	P	$\text{QO}_2 = 0.080(\text{OD}) + 0.836$	0.879	$\text{QO}_2 = 0.41(\text{OD}) + 0.170$	1.000
	J	$\text{QO}_2 = 0.005(\text{OD}) + 0.970$	0.004	$\text{QO}_2 = 0.44(\text{OD}) - 0.380$	1.000
<i>L. vannamei</i>	P	$\text{QO}_2 = -0.06(\text{OD}) + 1.570$	0.324	$\text{QO}_2 = 0.36(\text{OD}) + 0.213$	0.952
	J	NP		$\text{QO}_2 = 0.11(\text{OD}) + 0.289$	0.961

NP: no presentaron oxirregulación.

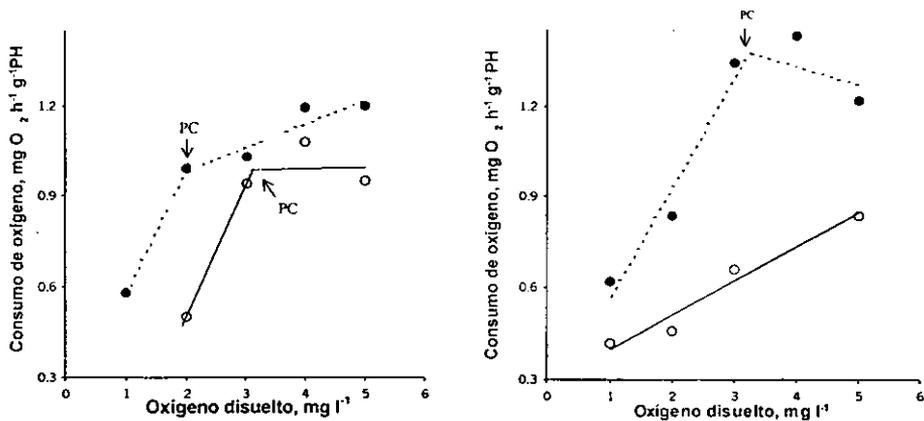


Fig. 8. Consumo de oxígeno (mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> PH) en postlarvas (●) y juveniles (○) de *L. setiferus* (A) y *L. vannamei* (B), evaluado en niveles decrecientes de oxígeno disuelto (mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>). PC = Punto crítico

El consumo de oxígeno en *L. setiferus* fue similar entre estadios en niveles de 4 y 3 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> (P<0.05), pero en 2 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> los juveniles presentaron un consumo 49% menor (P<0.05) respecto a las postlarvas. En los juveniles, el comportamiento respiratorio fue similar al observado en postlarvas, si bien el intervalo de oxirregulación fue menor (de 5 a 3 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>) (P<0.05); al disminuir el OD a 2 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>, la tasa respiratoria decreció 47 % respecto a la observada en 3 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> (P<0.05).

En *L. vannamei*, el consumo de oxígeno de las postlarvas fue mayor al de los juveniles en niveles de 4, 3 y 2 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> (P<0.05); en 1 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> la tasa respiratoria fue similar entre estadios (P<0.05) (Tabla 9; Fig. 8). El comportamiento respiratorio de las postlarvas fue diferente al observado en los juveniles de la especie. En las postlarvas, el consumo de oxígeno fue similar entre 5, 4 y 3 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>, presentando un comportamiento oxirregulador en este intervalo. Al disminuir el nivel de OD, la tasa respiratoria disminuyó 37 y 54% en 2 y 1 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> respecto al observado en 3 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>. No se observaron diferencias significativas en el consumo de oxígeno obtenido en 2 y 1 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> (P<0.05).

En contraste, los juveniles de *L. vannamei* presentaron claramente un comportamiento

respiratorio oxígeno-dependiente. Al disminuir la concentración de OD en el medio el consumo de oxígeno disminuyó 21, 45 y 50 % (en 3, 2 y 1 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>) respecto al observado en 5 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> (P<0.05); en 1 y 2 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> el consumo de oxígeno fue similar (P<0.05) (Tabla 9, Fig. 8).

El punto crítico, esto es, la concentración de OD a partir de la cual el consumo de oxígeno disminuye significativamente al decrecer la concentración de oxígeno en el medio, se calculó a partir de la intersección de las rectas que describen el comportamiento oxirregulador y oxígeno-dependiente de los organismos (Tabla 10; Fig. 8). En *L. setiferus*, el punto crítico en las postlarvas se estimó en 1.98 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>. En los juveniles, el punto crítico se calculó en 3.1 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>, 36% mayor que el evaluado en las postlarvas de la especie. En las postlarvas de *L. vannamei*, el punto crítico se calculó en 3.2 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>, 38% mayor que el calculado en las postlarvas de *L. setiferus*. En los juveniles de la especie, no se estimó el punto crítico dado el comportamiento oxígeno-dependiente de los organismos.

Cabe señalar que durante los ensayos no se observó mortalidad en las postlarvas y en los juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei* expuestos a condiciones normóxicas de 5 y 4 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>. Sin embargo, la exposición a 3 y 1 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> causó una mortalidad del 15 y 39 % en las postlarvas de *L. setiferus*. Los juveniles de la misma especie presentaron 80% de mortalidad al ser expuestos a niveles de hipoxia severa de 1 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>. En contraste, no se observó mortalidad en las postlarvas y juveniles de *L. vannamei* en condiciones hipóxicas.

## IV. DISCUSIÓN

### A. Tolerancia al amonio y al nitrito

En los sistemas de cultivo de organismos acuáticos y en particular de crustáceos decápodos, la acumulación de compuestos nitrogenados y la disminución en los niveles de oxígeno disuelto son considerados los principales factores que alteran la calidad de agua y reducen la producción de las especies en cultivo (Seidman y Lawrence, 1985).

En la última década, el efecto tóxico agudo del amonio y del nitrito ha sido ampliamente documentado en varias especies de peneidos. Sin embargo, los estudios realizados en las primeras etapas de desarrollo, como son postlarvas y juveniles tempranos, son menos abundantes que aquellos relativos a estadios posteriores. Si bien de manera general en las postlarvas de *L. setiferus* los valores de  $CL_{50}$  de 24 a 96 h ( $\pm$  IC) fueron 8 a 16 % superiores que en los juveniles de la especie, estas diferencias no resultaron significativas. Así, ambos estadios de *L. setiferus* presentaron una tolerancia similar al efecto tóxico del amonio. De igual manera, en las postlarvas de *L. vannamei* la toxicidad del amonio fue similar que en los juveniles de las 24 a las 72 h de exposición. Sólo a las 96 h los juveniles de la especie resultaron más sensibles que el estadio de postlarva.

Los resultados obtenidos en las postlarvas de *Litopenaeus setiferus* permiten afirmar que son más sensibles al efecto tóxico agudo del amonio que la mayoría de las especies estudiadas. En contraste, las postlarvas de *L. vannamei* son más tolerantes que el mismo estadio de *L. setiferus* y de tolerancia similar o mayor que la mayoría de las especies comparadas (Tabla 11).

Así, la  $CL_{50}$  ( $\pm$  IC) de amonio no ionizado calculada para 24 h de exposición en las postlarvas de *L. vannamei* son inferiores a las reportadas para *Penaeus monodon* y similares a las de *P. japonicus* y *P. chinensis*, pero superiores a las de *P. paulensis* (Chin y Chen, 1987; Chen y

Lin, 1991; Lin *et al.*, 1993; Ostrensky y Wasiliesky, 1995; Tabla 11) y a los valores respectivos determinados para *L. setiferus* en el presente estudio. Sin embargo, al aumentar el periodo de exposición a 96 h, los valores de CL<sub>50</sub> de las postlarvas de *L. vannamei* son mayores que los correspondientes a todas las especies mencionadas anteriormente a excepción de *P. japonicus*, especie que presenta una tolerancia similar. Las postlarvas de *L. setiferus* resultaron menos resistentes al amonio no ionizado que estadios correspondientes en *P. japonicus* y *P. monodon*, pero de sensibilidad similar a *P. chinensis* y *P. paulensis*, mientras que en 72 horas de exposición sólo es más resistente que *P. paulensis* y *P. chinensis*.

Tabla 11. Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de amonio (N-NH<sub>3</sub>, mg l<sup>-1</sup>) en postlarvas de varias especies de peneidos. Se incluyen intervalos de confianza y edad de las postlarvas.

Especie	24 h	48 h	72 h	96 h	Referencia
<i>P. chinensis</i> (pl 4)	1.85 (1.60-2.00)	1.2 (0.96-1.50)	0.73 (0.53-0.88)	0.4 (0.24-0.56)	Chen y Lin (1991)
<i>P. japonicus</i> (pl 1)	2.3 (1.70-2.28)	1.7 (1.30-2.20)	1.4 (1.20-1.70)	1.3 (0.90-1.60)	Lin <i>et al.</i> (1993)
<i>P. monodon</i> (pl 6)	4.7 (3.66-6.03)	2.5 (2.07-3.02)	1.54 (1.36-1.87)	1.04 (0.85-1.27)	Chin y Chen (1987)
<i>P. paulensis</i> (pl 1)	1.4 (1.14-1.49)	0.4 (0.42-0.56)	0.33 (0.21-0.42)	0.32 (0.21-0.36)	Ostrensky y Wasielesky (1995)
<i>L. setiferus</i> (pl 25)	1.49 (1.30-1.68)	1.21 (1.01-1.37)	1.12 (0.92-1.32)	nd ( )	Presente estudio
<i>L. vannamei</i> (pl 24-26)	2.69 (1.74-3.64)	2.08 (1.73-2.43)	1.77 (1.63-1.91)	1.61 (1.48-1.74)	Presente estudio

nd: no determinado

De manera global, el efecto tóxico del amonio se incrementa con el tiempo de exposición. En las postlarvas de *L. setiferus* y *L. vannamei*, la toxicidad del amonio es 25 y 34.2% mayor al aumentar el tiempo de exposición de 24 a 72 h, respectivamente. Sin embargo, en las postlarvas de *P. chinensis*, *P. japonicus*, *P. monodon* y *P. paulensis*, la toxicidad del amonio en el mismo periodo de exposición es mayor, de 59.5, 39.1, 67.2 y 76.4%, respectivamente.

Cabe mencionar que la edad de las postlarvas de *L. setiferus* y *L. vannamei* evaluadas en el presente estudio fue de pl 24 a pl 26, mientras que en el resto de las especies mencionadas se reportan edades de pl 1 a pl 6, lo cual limita un análisis adecuado de la tolerancia al amonio de las especies en estudio.

De manera general, los juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei* fueron más sensibles que *P.*

*japonicus* y *P. penicillatus* y de tolerancia similar a las demás especies de peneidos comparadas (Tabla 12). En los juveniles de *L. vannamei*, los valores de CL<sub>50</sub> de amonio en periodos de exposición de 24 a 96 h fueron inferiores a los reportados para *P. japonicus* y *P. penicillatus* y superiores sólo a las 24 h a los obtenidos en *P. paulensis* y *L. setiferus* (Lin *et al.*, 1993; Chen y Lin, 1991; Ostrensky y Wasielelesky, 1995; Chen y Lei, 1990; Chen, Ting *et al.*, 1990, Tabla 12). Sin embargo a partir de las 48 h de exposición, el efecto tóxico del amonio en *L. vannamei* fue similar al observado en *L. setiferus*. Es importante señalar que mientras que en los juveniles de *L. vannamei* el peso promedio fue de 0.079 g, el peso del resto de las especies mencionadas va de 0.27 a 10.4 g. De manera similar, el peso promedio de los juveniles de *L. setiferus* fue de 0.035 g, pero aún así resultaron igual de tolerantes al amonio que juveniles de mayor peso como *P. paulensis* (5.45 ± 0.4 g).

Tabla 12. Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de amonio (N-NH<sub>3</sub>, mg/l) en juveniles de varias especies de peneidos. Se incluyen intervalos de confianza y peso de los juveniles.

Especie	24 h	48 h	72 h	96 h	Referencia
<i>P. chinensis</i> (0.36±0.06 g)	3.29 (2.92-3.50)	2.10 (2.0-2.26)	1.70 (1.52-1.90)	1.53 (1.3-1.6)	Chen, Ting <i>et al.</i> (1991)
<i>P. japonicus</i> (10.4± 1.1 g)	4.5 (4.0-5.3)	3.5 (3.2-4.0)	3.2 (2.8-3.5)	3.1 (2.6-3.4)	Lin <i>et al.</i> (1993)
<i>P. monodon</i> (0.27±0.06 g)	2.68 (2.55-2.95)	1.73 (1.64-1.83)	1.35 (1.27-1.47)	1.29 (1.18-1.38)	Chen y Lei, (1987)
<i>P. penicillatus</i> (0.41 ±0.09 g)	8.16 (5.82-10.5)	5.37 (3.41-7.33)	4.13 (3.58-5.08)	3.52 (3.16-3.83)	Chen y Lin (1991)
<i>P. paulensis</i> (5.45±0.4 g)	1.47 (1.42-1.63)	1.28 (1.22-1.31)	1.18 (1.14-1.22)	1.10 (1.0-1.21)	Ostrensky y Wasielelesky (1995)
<i>P. vannamei</i> (0.99±0.01 g)	5.17 (7.64-4.64)	4.28 (4.82-3.82)	3.21 (-)	2.85 (-)	Frías-Espéricueta <i>et al.</i> , 1999.
<i>L. vannamei</i> (0.079 ± 0.0 g)	2.81 (1.92-3.7)	1.66 (1.15-2.17)	1.40 (1.06-1.74)	1.23 (1.06-1.40)	Presente estudio
<i>L. setiferus</i> (0.035 ± 0.0 g)	1.37 (1.09-1.65)	1.01 (0.73-1.29)	0.94 (0.71-1.17)	0.89 (0.7-1.08)	Presente estudio

Debido a la duración del bioensayo y a las concentraciones experimentales utilizadas, no fue posible calcular el tiempo mediano de muerte (TL<sub>50</sub>) de amonio en las postlarvas de *L. setiferus*. Sin embargo, los TL<sub>50</sub> determinados para las postlarvas de *L. vannamei* son ampliamente superiores a los de *Penaeus chinensis*, pues mientras la primera especie presentó valores de TL<sub>50</sub> de 192, 86 y 34 h para 1.0, 1.75 y 2.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l, en *P. chinensis* los valores calculados para las mismas concentraciones son de 61, 33 y 18 h (Chen y Lin, 1991). No fue posible incluir un mayor número de especies para comparar valores de TL<sub>50</sub> en las postlarvas

debido a que pocos trabajos reportan el tiempo mediano de muerte.

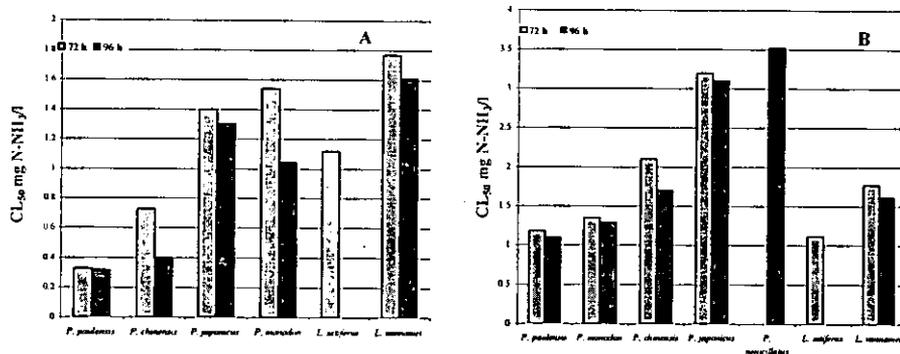


Fig. 9. Concentración letal media de amonio no ionizado (mg N-NH<sub>3</sub>, mg/l) en postlarvas (A) y juveniles (B) en varias especies de peneidos, para 72 y 96 horas de exposición.

Tabla 13. Tiempo mediano de muerte (TL<sub>50</sub>, h) de amonio (N-NH<sub>3</sub>, mg/l<sup>1</sup>) en juveniles de varias especies de peneidos. Se incluyen peso y/o edad de los juveniles.

Especie	mg N-NH <sub>3</sub> /l								Referencia
	0.3	0.6	0.8	1.2	1.3	1.5	2.5	3.0	
<i>P. chinensis</i> (0.36±0.06 g)	ne	ne	ne	92.1	86.0	75.1	37.9	27.0	Chen, Ting <i>et al.</i> (1990)
<i>P. monodon</i> (0.27±0.06 g)	ne	ne	ne	96.8	88.8	74.5	23.4	5.2	Chen y Lei, (1990)
<i>P. penicillatus</i> (0.41 ±0.09 g)	ne	ne	ne	ne	ne	ne	166 *	144+	Chen y Lin (1991)
<i>L. vannamei</i> (pl 42-44, 0.079 ± 0.0 g)	169.5	nd	nd	nd	85.4	52.6	29.9	12.5	Presente estudio
<i>L. setiferus</i> (pl 37, 0.023 ± 0.0 g)	nd	267.7	87.1	36.9	nd	nd	nd	nd	Presente estudio

\* TL<sub>50</sub> reportada para 2.66 mg N-NH<sub>3</sub>/l, se ubicó en esta casilla con fines comparativos.

+ TL<sub>50</sub> reportada para 3.04 mg N-NH<sub>3</sub>/l, se ubicó en esta casilla con fines comparativos.

ne No se incluyó en el rango de concentraciones experimentales.

nd No determinado.

Los tiempos medianos de muerte de amonio determinados para postlarvas y juveniles de *L. vannamei* no evidencian diferencias significativas. Debido a la falta de los datos correspondientes a las postlarvas de *L. setiferus*, no fue posible realizar una comparación

intraespecífica en esta especie.

Los juveniles de *L. setiferus* parecen menos resistentes al amonio que los de *L. vannamei*, pues mientras el TL<sub>50</sub> de *L. setiferus* para 1.2 mg N-NH<sub>3</sub>/l es de 36.9 h, el de *L. vannamei* para 1.3 mg N-NH<sub>3</sub>/l es de 85.4 h. La diferencia entre ambas concentraciones es muy pequeña pero los tiempos medianos de muerte difieren en un 57%. Los tiempos medianos de muerte determinados para concentraciones inferiores a 1.2 mg N-NH<sub>3</sub>/l en los juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei*, no pudieron ser comparados ya que no se incluyeron en el intervalo de concentraciones experimentales reportados para otras especies de peneidos. Sin embargo, el TL<sub>50</sub> para 1.2 mg N-NH<sub>3</sub>/l de *L. setiferus* es 60 y 62% inferior al de *P. chinensis* y *P. monodon* (Chen, Ting *et al.*, 1990; Chen y Lei, 1990), mientras que *L. vannamei* en 1.3 mg N-NH<sub>3</sub>/l presenta un valor similar a los de estas dos especies. El TL<sub>50</sub> de *L. vannamei* para 1.5 mg N-NH<sub>3</sub>/l, es 30% menor al valor calculado para *P. chinensis* y *P. monodon* (de 75.1 y 74.5 h, respectivamente). En concentraciones de 2.5 y 3.0 mg N-NH<sub>3</sub>/l *L. vannamei* presenta un TL<sub>50</sub> menor que el de *P. chinensis* y *P. penicillatus* (Chen y Lin, 1991), pero superior al de *P. monodon* (Ver Tabla 13).

Al comparar la sensibilidad al nitrito presentada por postlarvas y juveniles de *L. setiferus*, no se encontraron diferencias significativas. Un comportamiento similar se observó en *L. vannamei*, excepto a las 96 h de exposición, periodo en el que las postlarvas resultaron más resistentes que los juveniles de la especie.

De manera global, las postlarvas y los juveniles tanto de *L. setiferus* como *L. vannamei* fueron más resistentes a la toxicidad del nitrito que otras especies de peneidos reportadas (Tabla 13).

La tolerancia al efecto tóxico del nitrito fue similar entre las postlarvas de *L. setiferus* y *L. vannamei*; no obstante ambas especies tuvieron valores de CL<sub>50</sub> superiores a los encontrados para *Metapenaeus ensis*, *Penaeus paulensis*, *P. monodon* y *P. japonicus* en todos los periodos de exposición (Chen y Nan, 1991, Ostrensky y Poersch, 1992; Chen y Chin, 1988, Chen y Tu, 1990, Tabla 13). Al realizar este análisis es importante mantener presente la edad tanto de las postlarvas utilizadas en el presente estudio (pl 20 en *L. setiferus* y pl 24 a 26 en *L. vannamei*) como la del resto de las especies mencionadas (pl 1 a pl 12).

Por otra parte, el incremento de la toxicidad del nitrito en las postlarvas de *L. setiferus* es del 38% al aumentar el tiempo de exposición de 24 a 72 h. En contraste, este incremento es mayor en postlarvas de *Metapenaeus ensis*, *Penaeus monodon*, *P. japonicus* y *P. paulensis*, de 82, 67, 70 y 95 %, respectivamente, para el mismo periodo de exposición.

Tabla 14. Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, mg l<sup>-1</sup>) en postlarvas de varias especies de peneidos. Se incluyen intervalos de confianza y edad de las postlarvas.

Especie	24 h	48 h	72 h	96 h	Referencia
<i>Metapenaeus ensis</i> (pl 1)	70.06 (57.17-85.85)	27.10 (18.16-40.81)	12.76 (7.14-23.02)	9.13 (5.16-16.30)	Chen y Nan (1991)
<i>P. monodon</i> (pl 6)	61.87 (51.61-74.16)	33.17 (26.79-41.06)	20.53 (16.20-26.00)	13.55 (11.21-16.38)	Chen y Chin (1988)
<i>P. japonicus</i> (pl 12)	87.8 (69.3-107.5)	57.2 (42.5-67.5)	26.25 (20.0-30.0)	16.84 (17.5-25.0)	Chen y Tu (1990)
<i>P. paulensis</i> (pl 1)	277.80 (225.8-343)	41.58 (31.2-55.5)	14.47 (6.80-27.10)	10.71 (5.08-19.7)	Ostrensky y Poersch (1995)
<i>L. setiferus</i> (pl 20)	268.06 (206.1-329.9)	248.84 (195.2-302.5)	167.33 (102.1-232.7)	nd ( )	Presente estudio
<i>L. vannamei</i> (pl 24-26)	nd ( )	271.47 (234.7-308.2)	208.93 (177.8-240.1)	190.86 (164.4-217.3)	Presente estudio

nd: no determinado

La tolerancia al efecto tóxico del nitrito presentada por los juveniles de *L. vannamei* y de *L. setiferus* es similar en todos los periodos de exposición. Asimismo, la sensibilidad de ambas especies al nitrito es similar a la reportada para estadios correspondientes en *M. ensis*, *P. monodon* y *P. chinensis* a las 24 h de exposición; sin embargo, de las 48 a las 96 h de exposición los juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei* muestran mayor tolerancia que el resto de las especies mencionadas (Chen, Ting *et al.*, 1990; Chen, Liu y Nan, 1990; Chen y Lei, 1990; Tabla 14). Resulta notable que el peso promedio de los juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei* utilizados en el presente trabajo es 67 a 90% menor que el de los otros peneidos referidos, lo que sugiere que son mucho más resistentes a la toxicidad del nitrito que otras especies.

No se encontraron diferencias significativas entre los valores de tiempo mediano de muerte presentados por postlarvas y juveniles de *L. vannamei*, excepto en 200 y 250 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l, casos en los que las postlarvas resultaron más resistentes que los juveniles de la especie (Fig.

6). La duración del bioensayo de toxicidad aguda de nitrito en postlarvas de *L. setiferus*, así como el intervalo de concentraciones experimentales utilizadas, no permitieron determinar el tiempo mediano de muerte, por lo que no se realizó una comparación intraespecífica.

Tabla 15. Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, mg/l) en juveniles de varias especies de peneidos. Se incluyen intervalos de confianza y peso de los juveniles.

Especie	24 h	48 h	72 h	96 h	Referencia
<i>P. chinensis</i> (0.36±0.06 g)	339.37 (285-377)	268 (228-352)	117 (86-159)	37.7 (28-51)	Chen, Ting <i>et al.</i> (1990)
<i>P. monodon</i> (0.27±0.06 g)	215.85 (194-231)	185.33 (155-206)	88.5 (73-100)	54.76 (43-62)	Chen y Lei. (1990)
<i>Metaperas ensis</i> (0.24 g)	113 (94-132)	80.26 (67-93)	56.9 (46-68)	50.7 (40-61)	Chen, Liu y Nan (1990)
<i>L. setiferus</i> (0.022±0.002 g)	1124 (-6278-8526)	378.7 (195.3-562.1)	183.74 (146-222)	137.31 (105-169.)	Presente estudio
<i>L. vannamei</i> (0.079±0.002 g)	389.6 (167-612)	259.36 (200-319)	152.99 (106-200)	121.67 (79.7-1634)	Presente estudio

nd: no determinado

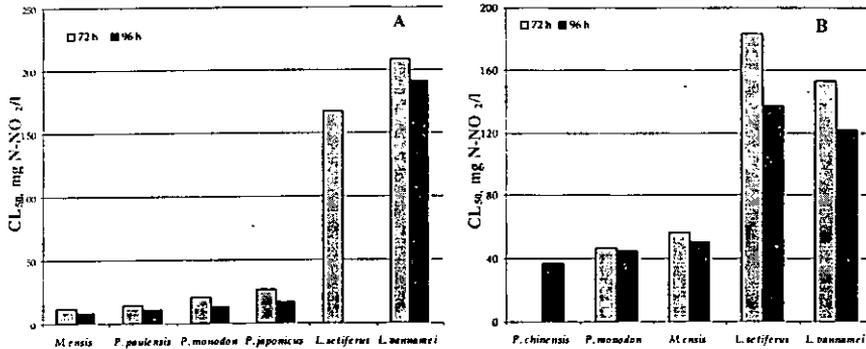


Fig. 10. Concentración letal media de nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> mg/l) en postlarvas (A) y juveniles (B) de varias especies de peneidos

La determinación del TL<sub>50</sub> para las postlarvas de *L. vannamei* indica que son de un 79 a un 84 % más resistentes que el estadio respectivo de *P. japonicus* (Chen y Tu, 1990), única especie para la cual se encontró reportado el TL<sub>50</sub> en la literatura. Así, mientras *L. vannamei* presentó valores de TL<sub>50</sub> de 157, 129, 77 y 61 h para 100, 150, 200 y 250 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l, los valores

determinados en *P. japonicus* fueron de 30.5, 21.4, 14.5 y 12.7 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l, respectivamente.

Los valores de TL<sub>50</sub> de nitrito determinados para los juveniles de *L. setiferus* no presentaron diferencias significativas respecto a los de *L. vannamei* (Fig. 6), pero sí resultaron superiores a los presentados por *M. ensis*, *P. chinensis*, *P. monodon* y *P. penicillatus* hasta en un 94% (en el caso del TL<sub>50</sub> para 150 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l de *P. penicillatus*) (Chen, Liu y Nan, 1990; Chen, Ting *et al.*, 1990; Chen y Lei, 1990; Chen y Lin, 1991, ver Tabla 16). Asimismo, *L. vannamei* presenta valores de TL<sub>50</sub> hasta 89% superiores a los de *P. penicillatus* y *M. ensis* en todas las concentraciones experimentales, y TL<sub>50</sub> entre 50 y 22% mayores que los *P. monodon* y *P. chinensis* sólo en 50 y 100 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l.

Tabla 16. Tiempo mediano de muerte (h) de nitrito (N- mg l<sup>-1</sup>) en juveniles de varias especies de peneidos. Se incluyen peso (g) y/o edad de los juveniles.

Especie	50	100	150	200	250	300	350	Referencia
<i>Metapenaeus ensis</i> (0.024±0.0 g)	119.9	44.1	ne	ne	ne	ne	ne	Chen, Liu y Nan (1990)
<i>P. chinensis</i> (0.36±0.06 g)	87.1	78.8	71.3	64.5	58.4	52.8	ne	Chen, Ting <i>et al.</i> , (1990)
<i>P. monodon</i> (0.27±0.06 g)	106.6	82.8	59.0	35.1	ne	ne	ne	Chen y Lei, 1990
<i>P. penicillatus</i> (0.4–0.6 g)	67.7	19.4	5.6	ne	ne	ne	ne	Chen y Lin, 1991
<i>L. setiferus</i> (pl 41,0035±0.0 g)	135.64	122.0	96.5	82.8	nd	57.1	45.7	Presente estudio
<i>L. vannamei</i> (pl 42,440.07±0.0 g)	177.1	105.8	49.9	53.0	50.9	46.7	30.0	Presente estudio

ne: no se incluyó en el rango de concentraciones experimentales  
nd: no determinado

En los camarones peneidos se ha documentado que la tolerancia al efecto tóxico de amonio y nitrito se incrementa con la edad. Así, en *Penaeus penicillatus*, *P. monodon*, *P. japonicus* (Lin *et al.*, 1993) y *P. paulensis* (Ostrensky y Wasiliesky, 1995), los juveniles son más tolerantes que las postlarvas de la especie. Tales diferencias se han relacionado con las tasas de excreción y con el grado de desarrollo de los mecanismos involucrados tanto en la desintoxicación como en la compensación al efecto tóxico de los compuestos nitrogenados; los cuales aparentemente son más eficaces al incrementarse la edad de los organismos (Rand y Petrocelli, 1985).

Sin embargo, como se ha señalado, en *L. setiferus* el efecto tóxico del amonio y del nitrito es similar en ambos estadios, mientras que en *L. vannamei* las postlarvas resultan más resistentes que los juveniles a partir de las 96 h de exposición, tanto en amonio como en nitrito. Esto sugiere que la relación entre la edad de los organismos y la sensibilidad a estos compuestos nitrogenados es especie-específica.

En los sistemas de cultivo de camarones peneidos los niveles de  $\text{N-NH}_3$  y  $\text{N-NO}_2^-$  pueden llegar a niveles considerablemente elevados, Chen, Liu *et al.* (1988) reportan que aún con 30% de recambio semanal, la concentración de  $\text{N-NH}_3$  alcanza 0.87 mg/l después de 115 días en sistemas de cultivo superintensivo de *Penaeus penicillatus*; de igual manera, se han registrado niveles de  $\text{N-NO}_2^-$  de 4.61 mg/l en estanques de crecimiento de *P. monodon* (Chen, Chin y Lee, 1986). Debido a los niveles que estos compuestos nitrogenados pueden alcanzar en los medios de cultivo, es necesario plantear un nivel de seguridad en la concentración de los mismos, que garantice el crecimiento y la sobrevivencia de los organismos. El nivel de seguridad de un tóxico se define como “la concentración de un contaminante que no tiene efectos subletales o crónicos adversos en un organismo”. Asimismo, de acuerdo a la manera en que usualmente se maneja, “el nivel de seguridad es un estadístico cuyo valor se determina empíricamente como resultado de un experimento”. El nivel de seguridad puede calcularse a partir de la concentración letal incipiente o en su caso de la  $\text{CL}_{50}$  de 96 h, utilizando un “factor de aplicación” empírico de 0.1 (Sprague, 1971).

A partir de las  $\text{CL}_{50}$ -96 h determinadas en el presente estudio se proponen niveles de seguridad correspondientes a 0.09, 0.16 y 0.12 mg/l de  $\text{N-NH}_3$  para los juveniles de *Litopenaeus setiferus* y postlarvas y juveniles de *L. vannamei*, respectivamente. No fue posible determinar este valor para las postlarvas de *L. setiferus* ya que la duración del bioensayo fue de 72 h. Para las postlarvas de *L. vannamei* la concentración de amonio correspondiente al nivel de seguridad es mayor que la calculada para *P. paulensis*, *P. japonicus*, *P. monodon* y *P. chinensis* (Ostrensky y Wasielesky, 1995; Lin *et al.*, 1993; Chin y Chen, 1987 y Chen y Lin, 1991), de 0.03, 0.1, 0.01 y 0.04, respectivamente, lo cual permite afirmar que las postlarvas de *L. vannamei* presentan una mayor tolerancia al amonio que otras especies. El valor

determinado para los juveniles de *L. setiferus* es inferior al de todas las especies reportadas en la literatura, incluyendo *L. vannamei*, lo que sugiere que es una especie mucho más sensible al efecto tóxico del amonio. En contraste, el nivel de seguridad en los juveniles de *L. vannamei* es similar al de otros peneidos (0.10, 0.11 y 0.14 mg/l N-NH<sub>3</sub> en *P. monodon*, *P. paulensis* y *P. chinensis*) e inferior al de *P. penicillatus* y *P. japonicus* (Chen y Lei, 1990; Ostrensky y Wasiliesky, 1995; Chen, Ting *et al.*, 1990; Chen y Lin 1991 y Lin *et al.*, 1993) y al propuesto de 0.29 mg/l de N-NH<sub>3</sub> para juveniles de *P. vannamei* (0.99 ± 0.01 g ) (Frias-Espericueta *et al.*, 1999).

En cuanto al N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, los niveles de seguridad propuestos en este estudio para las postlarvas de *L. setiferus*, así como postlarvas y juveniles de *L. vannamei* son de 13.73, 19.09 y 12.17 mg/l N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, respectivamente. La diferencia mínima entre estos valores y los encontrados en la literatura es del 42%, considerando los juveniles de *L. vannamei* y los de *Metapenaeus ensis*, para cuya especie se señala un nivel de seguridad de 5.07 mg/l N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Chen, Liu y Nan, 1990). La diferencia máxima, de 372%, se establece entre las postlarvas de *L. vannamei* y las de *M. ensis*, especie para la que se determinó un valor de 0.71 mg/l N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> como nivel de seguridad (Chen y Nan, 1991). Esto nos permite reafirmar que tanto *L. setiferus* como *L. vannamei* son ampliamente más resistentes al nitrito que el resto de las especies.

No obstante, los niveles de seguridad obtenidos tanto para amonio como para nitrito en el presente trabajo, podrían aún ser determinados con mayor precisión, considerando tanto la interacción de otros factores ambientales críticos para el desempeño de los organismos en cultivo, como el efecto de la exposición crónica a concentraciones subletales. Por lo anterior, resulta indispensable la comprobación experimental de los niveles de seguridad de amonio y nitrito propuestos para *L. vannamei* y *L. setiferus*, evaluando sus efectos en el proceso de muda, el desempeño reproductivo y otras respuestas fisiológicas y bioquímicas, en estudios a mediano y largo plazo. Del establecimiento de los niveles permisibles de estos compuestos en el cultivo de *L. setiferus* y *L. vannamei* podrá derivarse a la vez la determinación de factores básicos en el sistema de cultivo, como el porcentaje de recambio de agua más adecuado (Cavalli *et al.*, 1998), optimizando así el manejo y producción de estas especies de peneidos.

## B. Tolerancia al oxígeno disuelto en el medio.

En este trabajo, el consumo de oxígeno observado en condiciones normóxicas ( $\geq 5$  mg O<sub>2</sub>/l) fue similar en las postlarvas de *L. vannamei* ( $1.22 \pm 0.07$  mg O<sub>2</sub> /g/h) y *L. setiferus* ( $1.20 \pm 0.08$  mg O<sub>2</sub> /g/h). Ambos valores resultan superiores a todos los reportados en la literatura en postlarvas de diversas especies, de 0.49-0.91 mg O<sub>2</sub> /g/h para organismos con un peso de 0.23 a 0.38 g (Tabla 17, Fig.11). Sin embargo, la tasa metabólica fue menor que la obtenida en postlarvas de *L. setiferus* por Rosas *et al.* (1997), de 2.41 mg O<sub>2</sub> /g/h para individuos entre pL 10 y pL 18, edad menor que la de los organismos del presente estudio (pL 26 a pL 32; 0.019 g) pero mayor que la reportada (1995b) en postlarvas de *P. duorarum*, *P. schmittii* y *P. setiferus* (0.85, 0.51 y 0.70 mg O<sub>2</sub> /g/h), de edad y peso similares a las de este estudio (pL 35-40; 0.027 a 0.03 g)(Rosas *et al.*, 1995b). Sin embargo, *Penaeus schmittii* presenta una tasa similar a la determinada en el presente trabajo, de 1.05 mg O<sub>2</sub> /g/h, para una edad de pL 10-18 (Rosas *et al.* 1997).

En los juveniles, el consumo de oxígeno de *L. setiferus* (0.95 mg O<sub>2</sub>/g/h) fue 12% mayor que en *L. vannamei* (0.84 mg O<sub>2</sub> /g/h), en organismos con edades similares (pL 40 y pL 43) pero pesos diferentes (30 y 82 mg PH, respectivamente). Al igual que en las postlarvas, los valores del metabolismo de rutina obtenidos en los juveniles tempranos resultan superiores a los reportados en la literatura, de 0.28 a 0.48 mg O<sub>2</sub> /g/h en organismos con 0.18 a 4.04 g de peso (Tabla 18, Fig. 11)

Tanto en las postlarvas como en los juveniles de ambas especies experimentales, las diferencias con los valores reportados en la literatura pueden atribuirse tanto a la desigualdad de los pesos como a las condiciones experimentales utilizadas.

La relación inversamente proporcional que existe entre la talla corporal y el consumo de oxígeno, es considerada como una regla biológica (Schmidt-Nielsen, 1983). Este principio explica el mayor consumo de oxígeno de las postlarvas de *L. setiferus* y *L. vannamei* respecto a los juveniles de su misma especie. En *L. setiferus* el consumo de oxígeno de las postlarvas fue 21% superior al de los juveniles, mientras que en *L. vannamei* la diferencia ascendió a un

31%. Esta misma regla explica el menor consumo de oxígeno de los juveniles de *L. vannamei* respecto a *L. setiferus*, ya que a pesar de tener edades similares, la diferencia de peso es significativa.

Al comparar interespecíficamente el consumo de oxígeno presentado por *L. setiferus*, contra el de *L. vannamei*, no parece existir un comportamiento definido que refiera una mayor actividad y por ende mayor uso energético en alguna de las especies, ya que para el mismo estadio, la tasa metabólica fue similar entre las especies.

Tabla 17. Consumo de oxígeno (QO<sub>2</sub>, mg O<sub>2</sub>/g/h y punto crítico (PC, mg O<sub>2</sub>) en postlarvas de varias especies de peneidos.

Especie	Edad y/o peso (g)	QO <sub>2</sub>	PC	Autor
<i>Litopenaeus setiferus</i>	pl 29-32	1.2±0.08	1.98	Presente estudio
<i>Penaeus setiferus</i>	-	0.70	-	Rosas <i>et al.</i> 1995b
<i>P. setiferus</i>	pl 10-18	2.41	5	Rosas <i>et al.</i> 1997
<i>L. vannamei</i>	pl 26, 0.019	1.22±0.07	3.2	Presente estudio
<i>P. vannamei</i>	0.15	0.6120	1.05	Villarreal, H. y N. 1994
<i>Penaeus duorarum</i>		0.85	-	Rosas <i>et al.</i> 1995b
<i>P. californiensis</i>	0.23	0.61	-	Villarreal y Ocampo, 1993
<i>P. californiensis</i>	0.38	0.528	Probablemente debajo de 1.5	Villarreal y Rivera, 1993
<i>P. chinensis</i>	0.24	0.91	-	Chen y Nan, 1994
<i>P. monodon</i>	0.25	0.71	-	Chen y Nan, 1994
<i>P. japonicus</i>	0.26	0.60	-	Chen y Nan, 1994
<i>P. penicillatus</i>	0.27	0.71	-	Chen y Nan, 1994
<i>Metapenaeus ensis</i>	0.25	0.49	-	Chen y Nan, 1994
<i>P. schmittii</i>	pl 10-18	1.05	4.5	Rosas <i>et al.</i> 1997

Tabla 18. Consumo de oxígeno (QO<sub>2</sub>, mg O<sub>2</sub>/g/h y punto crítico (PC, mg O<sub>2</sub>) en juveniles de varias especies de peneidos.

Especie	Edad y/o peso (g)	QO <sub>2</sub>	PC	Autor
<i>Litopenaeus setiferus</i>	pl 40, 0.030	0.95±0.09	1.3	Presente estudio
<i>L. vannamei</i>	pl 43, 0.082	0.84±0.05	-	Presente estudio
<i>P. californiensis</i>	2.31	0.31	-	Villarreal y Ocampo, 1993
<i>P. chinensis</i>	0.54	0.48	-	Chen y Lin, 1992
<i>P. japonicus</i>	4.04	0.28	-	Chen y Lai, 1992
<i>P. setiferus</i>	pl 77	6.29	4	Rosas <i>et al.</i> , 1998

En las postlarvas de *L. setiferus* (pl 29-32) y *L. vannamei* (pl 26,  $1.9 \pm 1.2$  mg), el punto crítico del oxígeno disuelto en el medio (PC) se calculó en 2 y 3.2 mg  $O_2/l$ , respectivamente. Debajo de este punto los organismos se comportan como oxiconformadores, esto es, la tasa metabólica disminuye en relación con la reducción del oxígeno disuelto en el medio. En *L. vannamei*, el PC fue similar al reportado por Villarreal *et al.* (1994) de 2 mg  $O_2/l$  para las postlarvas de la especie. En contraste, *L. setiferus* presentó un PC inferior al obtenido por Rosas *et al.* (1998) de 5 mg  $O_2/l$  en postlarvas de 10 a 18 días. El intervalo de oxirregulación obtenido en postlarvas de *L. setiferus* y *L. vannamei* es mayor al reportado en otras especies. En *P. monodon* la transición del comportamiento oxirregulador a oxiconformador se ubica entre 4 y 4.3 mg  $O_2/l$ , mientras que en *P. japonicus* se establece en valores cercanos a 5 mg  $O_2/l$  (Egusa, 1961; Liao y Murai, 1986). De igual manera, Rosas *et al.* (1998) señalan que las postlarvas de *P. schmitti* son capaces de oxirregular sólo en concentraciones superiores a 4.5 mg  $O_2/l$ .

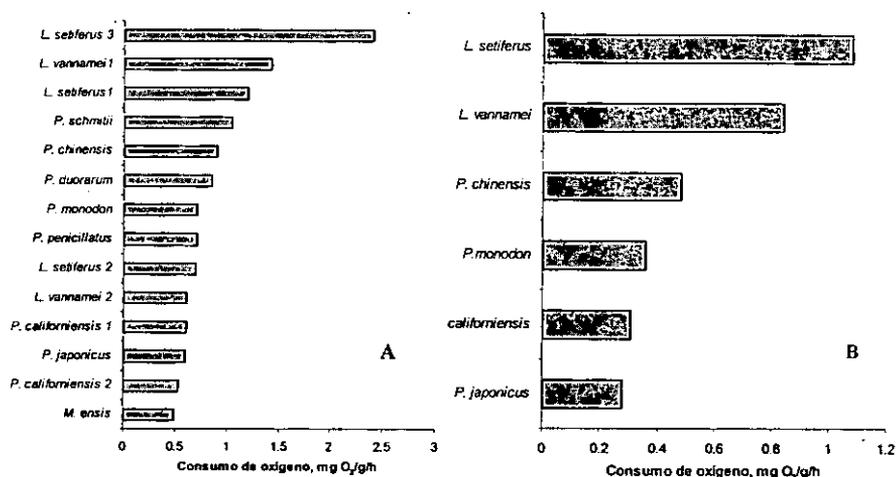


Fig. 11. Consumo de oxígeno en postlarvas (A) y juveniles (B) de varias especies de peneidos.

Cabe señalar que una concentración externa de oxígeno disuelto de 2 mg/l, determinada como punto crítico en el comportamiento respiratorio de las postlarvas de *L. setiferus*, ocasiona en un lapso de 48 h la muerte del 10% y 60% de las poblaciones de la especie evaluadas en 15%

y 38‰ de salinidad, respectivamente (Martínez, 1998). De tal manera, el nivel de oxígeno disuelto que compromete el metabolismo respiratorio de los organismos depende entre otros factores (temperatura, edad, fase en el ciclo de muda, salinidad, estado nutricional, estrés por manipulación) del tiempo de exposición a la reducción del gas (Herreid, 1980; Villarreal y Ocampo, 1993).

En los juveniles de *L. setiferus* (pl 40, 30 mg PH), el intervalo de oxi-independencia en la tasa respiratoria se observó de 5 a 3.1 mg O<sub>2</sub>/l, este último calculado como el punto crítico. Este comportamiento difiere del obtenido Rosas *et al.* (1998), quienes definen a los juveniles de la misma especie (pl 77, 523 mg PH) como “oxirreguladores limitados”, capaces de tolerar cambios sólo entre los 5 y los 4 mg O<sub>2</sub>/l en estudios de exposición crónica (60 d) a reducciones de oxígeno en el medio. Asimismo, Martínez (1998) reporta que en 3.15 mg O<sub>2</sub>/l los juveniles de *L. setiferus* (pl 64, 720 mg PH) la sobrevivencia se reduce en un 10% al término de 48 h de exposición. En contraste, Rosas *et al.* (1988) reportan que en juveniles (pl 77) de esta misma especie la exposición a concentraciones de oxígeno en el intervalo de 2 a 5.8 mg O<sub>2</sub>/l no modifica la sobrevivencia.

Los valores obtenidos en este estudio, nos permiten considerar que la capacidad de oxirregulación de *L. setiferus* es mayor en las postlarvas que en los juveniles de la especie.

En contraste, los juveniles de *L. vannamei* (pl 43, 82 mg PH), presentaron un comportamiento respiratorio oxiconformador en las concentraciones de oxígeno evaluadas (1 a 5 mg O<sub>2</sub>/l) y bajo condiciones de 28° C de temperatura, pH de 8.2 y salinidad de 25 ‰.

Maloef (1937) y Herreid (1980) sugieren que este tipo de resultados, donde se muestra una total dependencia del consumo de oxígeno respecto al oxígeno del medio, es sólo un fragmento del total de la curva y que un rango oxígeno-independiente aparecería cuando se presentara una mayor concentración de dicho gas. Este comportamiento se observa en *Cambarus bartonii* y *Procambarus clarkii*, con un consumo de oxígeno independiente de la concentración externa ubicado sobre el nivel de saturación del medio, aún cuando por debajo de este nivel su consumo de oxígeno es dependiente (Wolvekamp y Waterman, 1960).

De acuerdo a Vetter *et al.*, (1999), al analizar el comportamiento respiratorio de organismos obtenidos de un medio natural, la ubicación del PC se correlaciona con el estrés de oxígeno que probablemente se encuentra en sus hábitats, por lo que un PC bajo corresponde a la probabilidad de bajas concentraciones ambientales de oxígeno, y viceversa. De tal manera, la presencia de concentraciones hipóxicas en el medio sería tolerable por los organismos que presentan PC menores, mientras que aquellos con PC mayores tendrían que emigrar buscando un medio más oxigenado, lo que confiere una importante ventaja adaptativa a los primeros (Nielsen y Hagerman, 1998). Lo anterior ha sido corroborado por estos últimos autores, quienes realizaron en un estudio comparativo con *Palaemon adspersus* y *Palaemonetes varians*; esta última presenta un menor PC gracias a que fisiológicamente está mejor adaptada: posee mayor concentración de hemocianina, con una mayor afinidad por el oxígeno, y mayor capacidad de carga total de oxígeno que *P. adspersus*.

Así, considerando que un PC de valor bajo resulta adaptativamente ventajoso, *L. setiferus* es una especie con mayor tolerancia que *L. vannamei* al estrés ambiental ocasionado por una reducción en el oxígeno disuelto, lo cual le confiere ventajas en los sistemas de cultivo en los que la disminución de OD es un fenómeno frecuente. Sin embargo, esto es válido sólo si el costo energético asociado a la compensación de dicho estrés no compromete la sobrevivencia, el crecimiento o la producción de los organismos. Aún cuando *L. setiferus* es una especie aparentemente tolerante de acuerdo a su comportamiento oxirregulador, en niveles de 3 mg O<sub>2</sub>/l la mortalidad en sus postlarvas fue del 15% y se incrementó a 39% en niveles de hipoxia severa de 1 mg O<sub>2</sub>/l; en este mismo nivel de hipoxia severa la mortalidad en los juveniles fue del 80% mientras que en *L. vannamei* no se observó mortalidad alguna. Lo anterior sugiere que aún bajo condiciones de hipoxia moderada, el estrés impuesto por reducción del oxígeno disuelto en el medio es letal para *L. setiferus*.

Al respecto, Rosas *et al.*, señalan que en juveniles de *L. setiferus* los efectos colaterales inducidos por hipoxia moderada (4 mg O<sub>2</sub>/l) generalmente son compensados por un incremento en la eficiencia de producción, pese a que la eficiencia respiratoria se ve reducida.

La realización de estudios similares en postlarvas de *L. setiferus*, así como en postlarvas y

juveniles de *L. vannamei*, evaluando el impacto de la hipoxia sobre la producción en los camarones, permitiría disponer de elementos que adicionales, necesarios para determinar con mayor precisión la potencialidad de cultivo de cada una de las especies de peneidos consideradas en el presente trabajo.

Como consideración final, los resultados obtenidos en el presente estudio indican que *Litopenaeus vannamei* es una especie más resistente a las condiciones de cultivo que *L. setiferus*, ya que presentó menor sensibilidad al efecto tóxico del amonio y una mortalidad nula aún bajo condiciones de hipoxia severa. No obstante, *L. setiferus* posee resistencia al efecto tóxico del nitrito y de acuerdo a la literatura, buen rendimiento en la producción además de no ser un huésped natural del virus NHHI (Sandifer *et al.*, 1993). Estos factores le permiten mantenerse como una especie de gran potencial para el cultivo.

## V. CONCLUSIONES

- La tolerancia al amonio de *L. setiferus* y *L. vannamei* no presenta diferencias significativas a escala intraespecífica. Cabe señalar que las postlarvas de *L. vannamei* presentaron únicamente una CL<sub>50</sub> mayor que los juveniles de la especie a las 96 h de exposición. Asimismo, las postlarvas de *L. vannamei* son más tolerantes al efecto tóxico del amonio que las de *L. setiferus*, mientras que la sensibilidad de los juveniles de ambas especies es similar.
- De manera general, las postlarvas de *L. setiferus* son más sensibles al amonio que otras especies de peneidos y las de *L. vannamei* son, por el contrario, de tolerancia similar o mayor a la de varias especies. La resistencia a la toxicidad del amonio en los juveniles de ambas especies fue menor o similar a la de otros peneidos.
- La sensibilidad al nitrito de *L. setiferus* y *L. vannamei* no presenta diferencias intraespecíficas significativas, exceptuando la CL<sub>50</sub> a las 96 h de exposición en *L. vannamei*, la cual fue mayor en postlarvas que en juveniles. Sin embargo, la tolerancia a la toxicidad del nitrito de *L. vannamei* es similar a la de *L. setiferus* tanto en el estadio postlarval como en el juvenil.
- Ambas especies son más resistentes a la toxicidad del nitrito que otras especies de peneidos reportadas.
- Se proponen niveles de seguridad correspondientes a 0.09, 0.16 y 0.12 mg/l de N-NH<sub>3</sub> para los juveniles de *Litopenaeus setiferus* y postlarvas y juveniles de *L. vannamei*, respectivamente. Las postlarvas de *L. vannamei* mostraron un valor superior al referido para otras especies. A su vez, los valores estimados sugieren que los juveniles de *L. setiferus* son más sensibles al efecto tóxico del amonio que el resto de las especies

reportadas en la literatura, incluyendo *L. vannamei*. En contraste, el nivel de seguridad en los juveniles de *L. vannamei* es similar al de otros peneidos.

- Los niveles de seguridad para el nitrito propuestos en este estudio son de 13.73, 19.09 y 12.17 mg/l  $\text{N-NO}_2^-$ , para las postlarvas de *L. setiferus*, así como postlarvas y juveniles de *L. vannamei*, respectivamente. Estos niveles sugieren que tanto *L. setiferus* como *L. vannamei* son más resistentes al nitrito que el resto de las especies.
- En *L. setiferus* el efecto tóxico del amonio y del nitrito es similar en ambos estadios, mientras que en *L. vannamei* las postlarvas resultan más resistentes que los juveniles sólo a las 96 h de exposición, tanto en amonio como en nitrito. Esto nos sugiere que la relación entre la edad de los organismos y su sensibilidad a estos compuestos nitrogenados es especie-específica.
- En *L. setiferus* y en *L. vannamei* las postlarvas presentaron un mayor consumo de oxígeno que los juveniles de la especie. Las diferencias encontradas respecto a los valores de consumo de oxígeno reportados para otras especies, tanto en postlarvas como en juveniles de las dos especies experimentales son atribuibles a la desigualdad de los pesos.
- Los resultados en la tasa respiratoria de *L. setiferus* y de *L. vannamei* no evidencia un comportamiento que refiera una mayor actividad y por ende mayor uso energético en alguna de las especies.
- En las postlarvas de *L. setiferus* y *L. vannamei*, el punto crítico en el consumo de oxígeno se calculó en 2 y 3 mg  $\text{O}_2/\text{l}$ , respectivamente. Estos valores resultan, de manera general, inferiores a los reportados para otras especies de peneidos.
- El punto crítico en el consumo de oxígeno para el estadio juvenil de *L. setiferus* (pl 40, 30 mg PH) se ubicó en 3.1 mg  $\text{O}_2/\text{l}$ . La comparación con valores reportados para la

misma especie en edades ligeramente superiores, señalan que los juveniles de *L. setiferus* oxirregulan de manera más eficiente en edades más tempranas. En contraste, los juveniles de *L. vannamei*, presentaron un comportamiento respiratorio oxiconformador en las concentraciones de oxígeno evaluadas.

- De acuerdo a lo planteado en la discusión, *L. vannamei* resultaría una especie con mayor potencial de cultivo que *L. setiferus* ya que presenta mayor tolerancia al amonio y a los bajos niveles de oxígeno disuelto. Sin embargo, la tolerancia de *L. setiferus* al nitrito, su resistencia al virus NHHI reportada en la literatura y su rendimiento en la producción le confieren también un gran potencial de cultivo.
- La realización de estudios que evalúen el impacto de la hipoxia sobre la producción en los camarones, permitirá disponer de los elementos que aún hacen falta para determinar con mayor precisión la potencialidad de cultivo de cada una de las especies de penéidos consideradas en el presente trabajo.

## LITERATURA CITADA

- Alcaraz, G., Chiappa, X., Espinoza, V. and Vanegas, C. 1999a . Acute toxicity of ammonia and nitrite to white shrimp *Penaeus setiferus* postlarvae. *Journal of the World Aquaculture Society* 30:90-97.
- Alcaraz, G., V. Espinoza, C. Vanegas y X. Chiappa-Carrara. 1999b Acute effect of ammonia and nitrite on respiration of *Penaeus setiferus* postlarvae under different oxygen levels. *Journal of the World Aquaculture Society* 30:98-106.
- Alcaraz, G., X. Chiappa y C. Vanegas 1997c Temperature tolerance of *Penaeus setiferus* postlarvae exposed to ammonia and nitrite. *Aquatic Toxicology* 39:345-353.
- Allan, G.L. y G. B. Maguire. 1991. Lethal levels of low dissolved oxygen and effects of short-term oxygen stress on subsequent growth of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 94:27-37.
- Anthonisen, A. C., R. C Loehr., T. B. S Prakasam. and E.G. Shrinath, 1976 Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal WPCF* 48:835-847.
- APHA American Public Health Association 1985. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 16th Ed. Washington, DC, 1268 pp.
- Armstrong D. A., M.J. Stephenson and A.W. Knight. 1978. Acute toxicity of nitrite to larvae of the giant Malaysian prawn *Machrobrachium rosebergii*. *Aquaculture*, 9:39-46.
- Arredondo, S. 1990 Análisis del cultivo de camarón en México al término de 1989. p. 77-104. En: De la Lanza-Espino y S. Arredondo (eds). La acuicultura en México: de los conceptos a la producción. Instituto de Biología, UNAM, México.
- Bhavender S. and Ahlert, R.C. 1977 .Nitrification and nitrogen removal. *Water Res.* 11:897-925.
- Bower, C. E. y J. P. Bidwell, 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish. Res. Board Can.* 35:1012-1016.
- Buikema, A.L., B.R Niederlehner, J. Cairns, Jr. 1982. Biological Monitoring Part IV: Toxicity Testing. *Water Res.* 16:239-262.
- Campbell, J.W. 1973. Nitrogen excretion. En: C.L. Prosser (ED) Comparative Animal Physiology. Tercera edición W. D. Edition W.D. Saunders Toronto, Ont. 966 pp.
- Cavalli, R.O.; S.M. Peixoto y W. Wasielesky. 1998. Performance of *Penaeus paulensis* (Perez-Farfante) broodstock under long-term exposure to ammonia. *Aquaculture Research* 29: 815-822.

- Cech, J.J. 1995. Respirometry. p. 335-362. *En*: Scheck, C.B. y P.B. Moyle (Eds.). Methods for Fish Biology. *Am. Fish. Soc.* USA.
- Chang, W.Y.B. and Ouyang, H. 1988. Dynamics of dissolved oxygen and vertical circulation in fish ponds. *Aquaculture*, 74:263-276.
- Charmantier, G., C. Soyeux, Aquacop. 1994 Effect of molt stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 178:233-246.
- Chen, J. and Chen, S.F. 1992 . Accumulation of nitrite in the hemolymph of *Penaeus japonicus*. *Marine Ecology Progress Series* 83:305-308.
- Chen, J.C. y C.T. Chen. 1996. Changes of osmotic and electrolyte concentrations in the haemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Comp. Biochem Physiol.* 114C:35-38.
- Chen, J.C., Chen, C.T. y S.Y. Cheng. 1994. Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. *Marine Ecology Progress Series* 110:85-94.
- Chen, J.C. y S.Y. Cheng. 1993. Haemolymph osmolality, acid-base balance and shift of ammonotelic to ureotelic excretory pattern of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Comp. Biochem Physiol.* 106C:733-737.
- Chen, J.C. y S.Y. Cheng, 1994 Haemolymph oxygen content, oxyhemocyanin, protein levels and ammonia excretion in the shrimp *Penaeus monodon* exposed to ambient nitrite. *J. Comp. Physiol. B*:164:530-535.
- Chen, J. C. and Cheng, S. Y. 1995 . Changes of oxihemocianina and protein levels in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient nitrite. *Aquatic Toxicology* 33:215-226.
- Chen, J.C. y Chin, T.S. 1988. Acute toxicity of nitrite to tiger prawn, *Penaeus monodon*, larvae. *Aquaculture*, 69:253-262.
- Chen, J., Chin, T. and C. 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. Hosillos (eds.). The First Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Chen, J.C. y Y. Z. Kou. 1991. Accumulation of ammonia in the haemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Dis. Aquat. Org.* 11:187-191.

- Chen, J.C. y S.H. Lai. 1992. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus japonicus* adolescents exposed to ambient ammonia. *Comp. Biochem Physiol.* 102C:129-133.
- Chen, J.C. y Lei, S. C. 1990. Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* juveniles. *J. World Aquaculture Society* 21:300-306.
- Chen, J. C. y Lin, J.N. 1991. Lethal doses of ammonia on *Penaeus chinensis* larvae. *Bulletin of the Institute of Zoology, Academy Sinica* 30: 289-297.
- Chen, J.C. y C.Y. Lin. 1992a. Effect of ammonia on growth and molting of *Penaeus penicillatus* juveniles. *Comp. Biochem. Physiol.* 101C:443-447.
- Chen, J.C. y 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.* 102C:287-291.
- Chen, J.C., P.C. Liu, Y. T. Lin y C. K. Lee. 1988. Super intensive culture of red-tailed shrimp *Penaeus penicillatus*. *J. World Aquaculture Soc.* 19: 127-131.
- Chen, J.C., Liu, P.C. y Nan, F.H. 1990. Lethal effect of nitrite to juvenile *Metapenaeus ensis*. *J. Fish. Soc. Taiwan* 17:109-115.
- Chen, J., P.C. Liu, Y.T. Lin, and C.K. Lin. 1989. Highly intensive culture study of tiger prawn *Penaeus monodon* in Taiwan. in: *Aquaculture -a Biotechnology in Progress*, edited by N. de Pauw, E. Jaspers, H. Ackerfors and N. Wilkins. European *Aquaculture Society*. Bredene, Belgium. pp 377-382.
- Chen J, C. y Nan, F.H. 1991. Lethal effect of nitrite on *Metapenaeus ensis* larvae *J. World Aquaculture Society* 22:51-56.
- Chen, J.C. y F.H. Nan. 1992. Effects of temperature, salinity and ambient ammonia on lethal dissolved oxygen of *Penaeus chinensis* juveniles. *Comp. Biochem Physiol.* 101C:459-461.
- Chen, J.C. y F.H. Nan. 1994. Comparison of oxygen consumption and ammonia-N excretion of five penaeids. *Journal of Crustacean Biology* 14:289-294.
- Chen, J.C., Ting Y.Y, Lin, J.N. y Lin, M.N. 1990. Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus chinensis* juveniles. *Marine Biology* 107:427-431.
- Chen, J. C. y Tu, C.C. 1990. Acute toxicity of nitrite to larval *Penaeus japonicus*. *J. Fish. Soc. Taiwan* 17:277-287.

Cheng, S.Y. y J.C. Chen 1998. Effects of nitrite on the oxygen consumption and ammonia excretion of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *J. Fisheries Society of Taiwan* 25(3):209-218.

Cheng, S.Y. y J.C. Chen 1999. Hemocyanin oxygen affinity, and the fractionation of oxyhemocyanin and deoxyhemocyanin for *Penaeus monodon* exposed to elevated nitrite. *Aquatic Toxicology* 45:35-46.

Chin, T.S. y Chen, J.C. 1987. Acute toxicity of ammonia to larvae of the tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 66:247-253.

Clark, J.V. 1986. Inhibition in moulting of *Penaeus semisulcatus* (De Haan) by long-term hypoxia. *Aquaculture* 52:253-254.

Conte, F.S. 1978. Penaeid shrimp culture: current status and directions of research. Pages 333-343 en P. N. Kaul y C. J. Sindermann, editores. Drugs and food from the sea. The University of Oklahoma Press, Norman, Oklahoma, USA.

Egusa, S. 1961. Studies on the respiration of the "kuruma" prawn, *Penaeus japonicus* Bate II. Preliminary experiments on its oxygen consumption. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 27:650-659.

FAO Yearbook, Fishery Statistics, Aquaculture production 1999. Vol 88/2.

Franco-Nava, M.A. 1998. Diseño y evaluación de un sistema experimental para el tratamiento biológico del efluente de una granja camaronícola semi-intensiva. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Mazatlán de Acuicultura y Manejo Ambiental, Mazatlán, Sinaloa, México.

Frías-Espéricueta, M.G., M. Harfush-Meléndez, J.I. Osuna López, F. Páez-Osuna. 1999. Acute toxicity of ammonia to juvenile shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62:646-652.

Gallardo, P., J. Quiroz, G. Gaxiola, L.A. Soto and C. Rosas. 1995. Feeding schedule of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetocerrus cerastoporum*, *Tetraselmis chuii* and *Artemia* nauplii. *Aquaculture* (in press).

Gaxiola, G. 1994. Requerimientos nutricionales de postlarvas y juveniles de *Penaeus setiferus*. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, U.N.A.M.

Hampson, B.L. 1976. Ammonia concentration in relation to ammonia toxicity during a rainbow trout rearing experiment in a closed freshwater seawater system. *Aquaculture* 9:61-70.

Herreid, C.F. 1980. Hypoxia in invertebrates. *Comp. Biochem Physiol.* 67 A:311-320.

- Jayasankar, P. Y M.S. Muthu. 1983. Toxicity of ammonia to the larvae of *Penaeus indicus* H. Milne Edwards. *Indian J. Fish* 30:1-12.
- Jensen, F.B. 1990. Sublethal physiological changes in freshwater crayfish, *Astacus astacus*, exposed to nitrite: haemolymph and muscle tissue electrolyte status, and haemolymph acid-base balance and gas transport. *Aquatic Toxicology* 18:51-60.
- Jensen, F.B. 1996. Uptake, elimination and effects of nitrite and nitrate in freshwater crayfish (*Astacus astacus*). *Aquatic Toxicology* 34:95-104.
- León, T. 1995. Balance energético de hembras de *Penaeus setiferus* durante la maduración ovárica: condiciones para la optimización de la reproducción. Tesis de Maestría en Biología. Facultad de Ciencias, U.N.A.M.
- Lin, H.P.; Thuet, P; Trilles, J.-P.; Mounet-Guillaume, R. y Charmantier, G. 1993. Effects of ammonia on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus*. *Marine Biology*, 117:591-598.
- Liao, I.C. y T. Murai. 1986. Effects of dissolved oxygen, temperature and salinity on the oxygen consumption of the grass shrimp *Penaeus monodon*. En: McLean, J.L., L. B. Dizon y L. V. Hosillos (editores), First Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society. Manila, Phillipines, p. 641-646.
- Madenjian, C.M., Roger, G.L. and Fast, A.W. 1987. Predicting night-time oxygen loss in prawn ponds of Hawaii: Part I. Evaluation of traditional methods. *Aquacult. Eng.* 6:191-208.
- Martínez, E. 1996. Condiciones para el crecimiento del camarón blanco *Penaeus setiferus*: Modelos para su cultivo. Tesis Doctoral. Facultad de ciencias, U.N.A.M.
- Martinez-Evenor; Aguilar-Miguel; Trejo-Limber; Hernandez-Isaac; Diaz-Iglesia-Eugenio; Soto-Luis-A; Sanchez-Aldolfo; Rosas-Carlos. 1998. Lethal low dissolved oxygen concentrations for postlarvae and early juvenile *Penaeus setiferus* at different salinities and pH. *Journal-of-the-World-Aquaculture-Society*, 29:221-229.
- Martinez-Cordova-L-R, Pasten-Miranda-N; Barraza-Guardado-R 1998. Effect of fertilization on growth, survival, food conversion ratio, and production of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* in earthen ponds in Sonora, Mexico. *Progressive Fish Culturist* 60:101-108.
- Martinez-Cordova-Luis-R, Porchas-Cornejo-Marco-A; Villarreal-Colmenares-Humberto; Calderon-Perez-J-Antonio; Naranjo-Paramo-Jose 1998. Evaluation of three feeding strategies on the culture of white shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931 in low water exchange ponds. *Aquacultural Engineering*. Feb., 1998; 17:21-28.

Molina A., H. 1998. Alteraciones fisiológicas en postlarvas de *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda) por efecto del amonio. Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias, U.N.A.M. 55 p.

Montoya-Ruby-A; Lawrence-A-L; Grant-W-E {a}; Velasco-M. 1999 Simulation of nitrogen dynamics and shrimp growth in an intensive shrimp culture system: Effects of feed and feeding parameters. *Ecological-Modelling*. Oct. 1, 1999; 122: 81-95.

Moreno-Amezquita-Iovana; Newmark-Federico; Garcia-Camilo-B 1997 Temporal and geographical yield patterns of semi-intensive shrimp culture (*Penaeus vannamei* (Boone)) during the period 1991-1993 in the Caribbean Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. 1997; 26:5-15.

Needham, A. E. 1961 The problem of methaemoglobin. *Nature* 189:306-307.

Nielsen A. y L. Hagerman. 1998. Effects of short-term hypoxia on metabolism and haemoglobin oxygen transport in the prawns *Palaemon adspersus* and *Palaemonetes varians*. *Marine Ecology Progress Series* 167:177-183.

Orellana, M. 1993 . Efecto de la inclusión de *Artemia franciscana* sobre la composición bioquímica de hembras en maduración del camarón blanco *Penaeus setiferus*. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, U.N.A.M.

Ostrensky, A. y Poersch, L.H. 1992. Toxicidade aguda do nitrito na larvicultura do camarão rosa *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *Neritica, Curitiba* 1-2: 101-107.

Ostrensky, A. y Wasielesky, W. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Sao Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *Aquaculture* 132:339-347.

Palacios-E; Perez-Rostro-C-I; Ramirez-J-L; Ibarra-A-M; Racotta-I-S 1999 Reproductive exhaustion in shrimp (*Penaeus vannamei*) reflected in larval biochemical composition, survival and growth. *Aquaculture* 171 (3-4) 309-321.

Parker, J.C., F. S. Conte, W. S. McGrath and B. W. Miller. 1974. An intensive culture system for penaeid shrimp. *Proceedings of the World Mariculture Society* 5:65-79.

Rand, G.M. y S.R. Petrocelli. 1985. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Hemisphere Publishing Corporation, USA. p. 6.

Regnault, M. 1987 . Nitrogen excretion in marine and freshwater crustacea. *Biol. Rev.* 62:1-24.

Re-Regis, C. 1995. Biología reproductiva del camarón blanco *Penaeus setiferus* y del camarón rosado *Penaeus duorarum* de la Sonda de Campeche, México. Tesis de Doctorado en Ciencias, Biología. Facultad de Ciencias, U.N.A.M.

- Robles M., C. 1997. Alteraciones fisiológicas de postlarvas y juveniles del camarón blanco *Penaeus setiferus* (Crustacea: Decapoda) por efecto del amoníaco. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, U.N.A.M. 38 pp.
- Rodier, J. (Editor). 1989 . Análisis de las Aguas. Omega, Barcelona. p. 137-158.
- Rosas, C., A. Sánchez, M.E. Chimal, G. Saldaña, L. Ramos y L.A. Soto. 1993 . The effect of electrical stimulation on spermatophore regeneration in white shrimp *Penaeus setiferus*. *Aquatic Living Resources* 6:139-144.
- Rosas, C., A. Sánchez, E. Díaz-Iglesia, A. Soto, R. Brito, T. García, N. de Lima, M. Hidalgo y R. Pedroza. 1995. Oxygen consumption and ammonium excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmittii*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effect of protein level on substrate metabolism. *Aquatic Living Resources* 8:161-169.
- Rosas, C.; Sánchez, A.; Díaz-Iglesia E.; Brito, R.; Martínez, E. y L. Soto. 1997 . Critical dissolved oxygen level to *Penaeus setiferus* and *Penaeus schmittii* postlarvae (PL<sub>10-18</sub>) exposed to salinity changes. *Aquaculture* 152:259-272.
- Rosas, C., E. Martínez, G. Gaxiola, R. Brito, E. Díaz-Iglesia, L. A. Soto. 1998. Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. *Marine Ecology Progress Series* 174:67-75.
- Sandifer, P.A. Hopkings, J.S. Stokers, A.D. And Browdy, C.L. 1993 Preliminary comparisons of the native white shrimp, *Penaeus setiferus* and the pacific *P. vannamei* for pond culture in South Carolina, U.S.A. *J. World Aquac. Soc.* 24:295-303.
- Schmidt-Nielsen, K. 1983. Animal Physiology: Adaptation and Environment. Cambridge University Press, U.S.A. pp. 201-206.
- Seidman, E.R. and Lawrence, A.L. 1985. Growth, feed digestibility and proximate body composition of juveniles *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels. *J. World. Maricul. Soc.* 16:333-346.
- SEMARNAP 2000. Anuario Estadístico de Pesca 1999. P. 41-48. Editado por la Dirección General de Comunicación Social de la SEMARNAP. México.
- Shigueno, K. 1975 . Shrimp culture in Japan. Association For International Technical Promotion, Tokio. 153 pp.
- Spaargaren, D.H. 1999 Review of "World Shrimp Farming (Rosenberg, 1997)". *Crustaceana* 72(3):368.
- Sprague, J.B. 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish III. Sublethal effects and "safe" concentrations. *Water Research* 5:245-266.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

Vetter, R. H., H. Franke, F. Buchholz. 1999. Habitat-related differences in the responses to oxygen deficiencies in *Idotea baltica* and *Idotea emarginata* (Isopoda, Crustacea). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 239:259-272.

Villarreal, H. y L. Ocampo. 1993. Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis* (Holmes, 1990). *Comparative Biochemistry and Physiology* 106A:97-101.

Villarreal, H. y J.A. Rivera. 1993. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. *Comparative Biochemistry and Physiology* 106A:103-107.

Villarreal, H., Hinojosa, P. y J. Naranjo. 1994. Effect of Temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. *Comparative Biochemistry and Physiology* 108A:331-336.

Wolvekamp, H. P. y T.H. Waterman, 1960. Respiration. En: Waterman, T.H. The Physiology of Crustacea, Vol. I, Metabolismo y Crecimiento. Academic Press, U.S.A. p. 42-53.

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.

## ANEXO I. Tablas de Mortalidad.

Tabla 1. Mortalidad (%) obtenida en las postlarvas de *Litopenaeus setiferus* expuestas por 24, 48 y 72 h a diferentes concentraciones de amonio.

N-NH <sub>3</sub> , mg/l	n	Tiempo de exposición (h)		
		24	48	72
1	20	0	15	30
1.25	20	15	60	70
1.5	20	80	90	95
2	20	80	95	100.

Tabla 2. Mortalidad (%) obtenida en los juveniles de *Litopenaeus setiferus* expuestos por 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h a diferentes concentraciones de amonio.

N-NH <sub>3</sub> , mg/l		Tiempo de exposición (h)					
		24	48h	72	96	120	144
0	19	0	0	0	0	0	0
0.2	19	0	0	0	0	0	0
0.4	19	0	0	0	0	0	5
0.6	19	0	5	5	5	11	32
0.8	17	0	29	35	35	65	94
1.2	18	22	72	83	94	100	100
1.6	20	10	100	100	100	100	100
2	20	95	100	100	100	100	100
2.4	20	95	100	100	100	100	100
2.8	20	100	100	100	100	100	100

Tabla 3. Mortalidad (%) obtenida en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* expuestas por 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h a diferentes concentraciones de amonio.

N-NH <sub>3</sub> , mg/l	n	Tiempo de exposición (h)					
		24	48	72	96	120	144
0	19	0	0	0	5	5	5
0.5	19	0	0	0	0	5	5
1	20	0	0	0	5	10	20
1.25	19	0	5	5	5	16	21
1.5	20	0	0	15	40	65	85
1.75	20	5	25	45	60	75	85
2	19	11	68	89	95	95	95
2.5	19	37	63	95	100	100	100

Tabla 4. Mortalidad (%) obtenida en los juveniles de *Litopenaeus vannamei* expuestos por 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h a diferentes concentraciones de amonio.

N-NH <sub>3</sub> , mg/l	n	Tiempo de exposición (h)					
		24	48	72	96	120	144
0	18	0	0	0	0	0	0
0.3	15	0	0	0	0	7	33
0.7	18	0	0	0	6	11	17
1	17	0	0	18	18	24	35
1.3	17	12	12	35	59	76	88
1.5	19	21	53	63	84	100	100
2.5	19	32	89	100	100	100	100
3	17	71	100	100	100	100	100

Tabla 5. Mortalidad (%) obtenida en las postlarvas de *Litopenaeus setiferus* expuestas por 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h a diferentes concentraciones de nitrito.

N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/l	n	Tiempo de Exposición (h)		
		24	48	72
50	20	5	10	20
220	20	25	30	50
250	20	40	50	80
300	20	70	75	95

Tabla 6. Mortalidad (%) obtenida en los juveniles de *Litopenaeus setiferus* expuestos por 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h a diferentes concentraciones de nitrito.

N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/l	n	Tiempo de Exposición (h)					
		24	48	72	96	120	144
0	18	0	0	0	0	0	0
50	18	0	0	6	6	22	67
100	19	0	0	11	21	47	74
150	20	0	5	30	60	70	85
200	19	5	16	53	74	79	84
300	18	6	33	78	94	100	100
350	20	15	45	95	100	100	100

Tabla 7. Mortalidad (%) obtenida en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* expuestas por 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h a diferentes concentraciones de nitrato.

N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , mg/l	n	Tiempo de Exposición (h)					
		24	48	72	96	120	144
0	19	0	0	0	0	0	0
50	19	0	0	0	0	5	5
100	18	0	0	11	11	33	39
150	20	0	5	25	25	35	60
200	21	0	29	48	62	81	95
250	20	5	45	65	75	90	90
300	20	0	50	90	95	100	100
350	20	50	85	100	100	100	100

Tabla 8. Mortalidad (%) obtenida en los juveniles de *Litopenaeus vannamei* expuestos por 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h a diferentes concentraciones de nitrato.

N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , mg/l	n	Tiempo de Exposición (h)					
		24	48	72	96	120	144
0	18	0	0	0	0	0	0
50	18	6	6	17	17	28	28
100	14	0	14	36	43	50	79
150	19	37	42	63	68	68	79
200	19	32	37	63	89	89	100
250	19	37	53	63	79	84	95
300	17	18	47	94	94	100	100
350	17	53	71	88	100	100	100

## ANEXO 2. Modelos de toxicidad

Tabla 1. Valores de  $CL_{50} \pm ES$  de amonio (mg N-NH<sub>3</sub>/l) en postlarvas y juveniles de *L. setiferus*. Se incluyen los coeficientes de determinación y los valores de  $x^2$  del modelo Probit-X ( $x^2_o = x^2$  obtenido;  $x^2_e = x^2_{0.05, g}$ ).

T. Exp (h)	Postlarvas					Juveniles				
	CL <sub>50</sub>	ES	r <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> <sub>o</sub>	x <sup>2</sup> <sub>e</sub>	CL <sub>50</sub>	ES	r <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> <sub>o</sub>	x <sup>2</sup> <sub>e</sub>
24	1.49	0.04	0.964	0.007	3.841	1.37	0.06	0.86	2.749	3.841
48	1.21	0.06	0.820	4.899	5.991	1.01	0.06	0.97	0.604	3.841
72	1.12	0.05	1.000	0.008	3.841	0.94	0.05	0.97	0.725	3.841
96	nd	nd	nd	nd	nd	0.89	0.04	1.00	0.135	3.841
120	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
144	nd	nd	nd	nd	nd	0.64	0.03	0.98	0.973	3.841

Tabla 2. Valores de  $CL_{50} \pm ES$  de amonio (mg N-NH<sub>3</sub>/l) en postlarvas y juveniles de *L. vannamei*. Se incluyen los coeficientes de determinación y los valores de  $x^2$  del modelo Probit-X ( $x^2_o = x^2$  obtenido;  $x^2_e = x^2_{0.05, g}$ ).

T. Exp. (h)	Postlarvas					Juveniles				
	CL <sub>50</sub>	ES	r <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> <sub>o</sub>	x <sup>2</sup> <sub>e</sub>	CL <sub>50</sub>	ES	r <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> <sub>o</sub>	x <sup>2</sup> <sub>e</sub>
24	2.69	0.22	1.00	0.01	3.84	2.81	0.28	0.87	4.91	5.99
48	2.08	0.11	0.80	6.35	5.99	1.66	0.12	0.80	5.23	3.84
72	1.77	0.05	0.93	3.67	7.82	1.40	0.08	0.96	0.29	3.84
96	1.61	0.05	0.93	2.71	7.82	1.23	0.05	0.99	0.43	5.99
120	1.45	0.06	0.90	5.48	9.49	1.14	0.08	0.82	3.36	5.99
144	1.32	0.06	0.90	7.44	7.82	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla 3. Valores de  $CL_{50} \pm ES$  de nitrito (mg N-NO<sub>2</sub>/l) en postlarvas y juveniles de *L. setiferus*. Se incluyen los coeficientes de determinación y los valores de  $x^2$  del modelo Probit-X para las postlarvas y del modelo Probit-logX para los juveniles ( $x^2_o = x^2$  obtenido;  $x^2_e = x^2_{0.05, g}$ ).

T. Exp. (h)	Postlarvas					Juveniles				
	CL <sub>50</sub>	ES	r <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> <sub>o</sub>	x <sup>2</sup> <sub>e</sub>	CL <sub>50</sub>	ES	r <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> <sub>o</sub>	x <sup>2</sup> <sub>e</sub>
24	268.0	19.46	0.93	1.74	5.99	1124	1720	0.51	0.54	3.84
48	248.8	16.87	0.95	1.32	5.99	378.7	57.65	0.99	0.10	5.99
72	167.3	20.48	0.87	4.58	5.99	183.7	14.70	0.92	3.85	9.49
96	nd	nd	nd	nd	nd	137.3	11.54	0.98	0.99	7.82
120	nd	nd	nd	nd	nd	99.6	13.63	0.99	0.10	5.99
144	nd	nd	nd	nd	nd	20.7	23.53	0.89	23.53	5.99

Tabla 4. Valores de  $CL_{50} \pm ES$  de nitrito ( $mg\ N-NO_2/l$ ) en postlarvas y juveniles de *L. vannamei*. Se incluyen los coeficientes de determinación y los valores de  $x^2$  del modelo Probit-X ( $x^2_o = x^2$  obtenido;  $x^2_e = x^2_{0.05, n}$ ).

T. Exp. (h)	Postlarvas					Juveniles				
	$CL_{50}$	ES	$r^2$	$x^2_o$	$x^2_e$	$CL_{50}$	ES	$r^2$	$x^2_o$	$x^2_e$
24	389.6	86.82	0.49	8.00	9.48	nd	nd	nd	nd	nd
48	259.4	24.42	0.85	4.57	11.07	271.4	13.25	0.93	2.88	7.82
72	152.9	19.01	0.86	4.97	11.07	208.9	11.23	0.99	0.57	7.82
96	121.7	16.30	0.87	4.61	9.49	190.8	10.28	0.97	1.67	9.49
120	102.7	18.77	0.88	2.02	7.82	155.3	10.48	0.96	2.42	7.82
144	76.43	18.59	0.83	3.20	5.99	132.7	10.28	0.89	4.75	7.82

Tabla 5. Valores de  $TL_{50} \pm ES$  de amonio (h) en juveniles de *L. setiferus*. Se incluyen los coeficientes de determinación y los valores de  $x^2$  del modelo Probit-X ( $x^2_o = x^2$  obtenido;  $x^2_e = x^2_{0.05, n}$ ).

mg N-NH <sub>3</sub> /l	Juveniles				
	$TL_{50}$	ES	$r^2$	$x^2_o$	$x^2_e$
0.6	212.66	62.06	0.72	1.45	3.84
0.8	87.12	9.41	0.77	4.79	7.82
1.2	36.95	4.27	0.93	2.39	8.49

Tabla 6. Valores de  $TL_{50} \pm ES$  de amonio (h) en postlarvas y juveniles de *L. vannamei*. Se incluyen los coeficientes de determinación y los valores de  $x^2$  del modelo Probit-X ( $x^2_o = x^2$  obtenido;  $x^2_e = x^2_{0.05, n}$ ).

mg N-NH <sub>3</sub> /l	Postlarvas					mg N-NH <sub>3</sub> /l	Juveniles				
	$TL_{50}$	ES	$r^2$	$x^2_o$	$x^2_e$		$TL_{50}$	ES	$r^2$	$x^2_o$	$x^2_e$
1.00	192.1	50.0	1.00	0.01	3.84	0.3	169.5	24.0	0.76	0.60	5.99
1.5	105.3	4.0	0.98	0.80	15.50	1.30	85.4	7.0	0.99	0.28	9.49
1.75	86.0	4.9	nd	2.94	16.92	1.50	52.6	4.6	0.91	3.63	11.07
2.0	44.5	2.2	0.89	6.68	11.07	2.50	29.9	1.2	0.88	3.94	12.59
2.5	36.4	3.3	0.97	1.16	9.48	3	12.5	11.4	0.94	0.11	5.99

Tabla 7. Valores de TL<sub>50</sub> ± ES de nitrito (h) en juveniles de *L. setiferus*. Se incluyen los coeficientes de determinación y los valores de  $x^2$  del modelo Probit-X ( $x^2_o = x^2$  obtenido;  $x^2_e = x^2_{0.05,pt}$ ).

mg N-NO <sub>2</sub> /l	Juveniles				
	TL <sub>50</sub>	ES	r <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> <sub>o</sub>	x <sup>2</sup> <sub>e</sub>
50	135.6	7.5	0.92	1.49	3.84
100	122.0	6.3	0.99	0.19	5.99
150	96.5	5.7	0.94	2.18	7.81
200	82.8	5.6	0.93	4.46	11.07
300	57.1	4.2	0.99	0.18	5.99
350	45.7	3.6	0.93	3.78	9.49

Tabla 8. Valores de TL<sub>50</sub> ± ES de nitrito(h) en postlarvas y juveniles de *L. vannamei*. Se incluyen los coeficientes de determinación y los valores de  $x^2$  del modelo Probit-X ( $x^2_o = x^2$  obtenido;  $x^2_e = x^2_{0.05,pt}$ ).

mg N-NO <sub>2</sub> /l	Postlarvas					Juveniles					
	TL <sub>50</sub>	ES	r <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> <sub>o</sub>	x <sup>2</sup> <sub>e</sub>	mg N-NO <sub>2</sub> /l	TL <sub>50</sub>	ES	r <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> <sub>o</sub>	x <sup>2</sup> <sub>e</sub>
						50	177.1	57.4	0.97	0.08	3.84
100	22	2.9	0.87	5.10	11.07	100	105.8	10.1	0.92	1.12	7.82
150	50.5	3.5	0.92	3.89	7.82	150	49.9	14.5	0.88	1.15	7.82
200	60.6	5.1	0.94	3.12	7.82	200	53.0	5.3	0.93	1.95	11.07
250	77.1	5.0	0.97	1.88	14.07	250	50.9	5.8	0.89	4.93	15.51
300	129.4	6.7	0.95	1.98	12.59	300	46.7	3.2	0.95	2.08	11.07
350	156.9	12.2	0.97	0.34	5.99	350	30.0	3.1	0.90	6.82	15.51