



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

“ACTIVIDAD LOCOMOTORA Y METABOLISMO ENERGETICO  
EN JUVENILES DE *Litopenaeus setiferus*, (CRUSTACEA,  
DECAPODA), EXPUESTOS AL AMONIO.”

Entrego a la Dirección General de Bibliotecas de la  
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el  
contenido de mi trabajo recepcional.

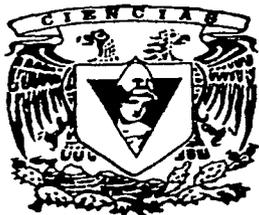
NOMBRE: Susana Alejandre

Grimaldo

FECHA: 28/8/02

FIRMA: [Firma]

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 :  
SUSANA ALEJANDRE GRIMALDO



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM

DIRECTOR DE TESIS: Dra. CECILIA VANEGAS PEREZ

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

2002



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

Comunico a usted que hemos revisado el trabajo escrito:  
ACTIVIDAD LOCOMOTORA Y METABOLISMO ENERGETICO EN JUVENILES DE  
Litopenaeus setiferus, (CRUSTACEA, DECAPODA), EXPUESTOS AL AMONIO.  
realizado por SUSANA ALEJANDRE GRIMALDO

con número de cuenta 9311629-3 , quién cubrió los créditos de la carrera de: BIOLOGIA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario

DRA. RUTH CECILIA VANEGAS PEREZ

Propietario

DR. MANUEL MIRANDA ANAYA

Propietario

DR. FRANCISCO XAVIER CHIAPPA CARRARA

Suplente

DRA. GUILLERMINA ALCARAZ ZUBELDIA

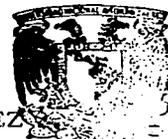
Suplente

BIOL. JULIO PRIETO SAGREDO

FACULTAD DE CIENCIAS  
U.N.A.M.

Consejo Departamental de Biología

M. en C. JUAN MANUEL RODRIGUEZ CHAVEZ



DEPARTAMENTO DE  
BIOLOGIA

**El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias, bajo la dirección de la Dra. Cecilia Vanegas Pérez y con apoyo del Proyecto PAPIIT IN 217999 (DGAPA, UNAM).**

## Agradecimientos

A mi directora de Tesis, Dra. Ruth Cecilia Pérez Vanegas, por toda su paciencia, esmero y dedicación en el desarrollo de mi tesis, por su amistad brindada, por el consejo asertivo y sobre todo por confianza.

A los miembros de mi jurado Dr. Manuel Miranda Anaya, Dr. Francisco Xavier Chiappa Carrara a la Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldia y al Biol. Julio Prieto Sagredo por sus comentarios y observaciones que permitieron darle un mejor enfoque a mi trabajo.

Al Dr. Xavier Chappa Carrara por el apoyo en el análisis estadístico.

Al Laboratorio de Biología Marina Experimental de la Facultad de Ciencias en Cd. del Carmen, Campeche por brindarnos espacio y ayuda en la captura de los organismos, a Nelda y Adrianita por proporcionarnos hospedaje.

A Jesus Saens Zea coordinador de servicios de la Facultad de Ciencias y al jefe del taller Mecánico Pablo López Mejía por la elaboración y reparación de las cámaras circulares de acrílico

Al proyecto PAPIIT IN 217999 (DGAPA, UNAM) de donde se origina mi trabajo, así como a PROBETEL por la beca otorgada para la realización de mi tesis.

A David Montaña de Purina por la donación del alimento camaronina.

A los integrantes del Laboratorio Katy, Lalo, Sebastian, Mary, por su apoyo, amistad y comprensión.

A Cecy Robles por iniciarme en el aprendizaje de las técnicas de laboratorio, por su gran paciencia e interés en mi, por ayudarme y sufrir con migo al inicio de mis experimentos.

A Rosa M<sup>a</sup> Nuñez por su gran amistad de manera incondicional por su carácter servicial y por los consejos otorgados

A Víctor López Gómez por ayudarme en la captura de los organismos, por sacar fotografías, preparar agua de sal, alimentar a los animales, por venirme a recoger al final de mis experimentos durante las vacaciones, por vivir conmigo mis alegrías y mis tristezas, por las palabras de aliento cuando las necesite. ¡¡gracias!!

A todos mis amigos Paty, Ivonnita, Elena, Jorge Limón, Daniel, Carlos Sandoval, Carlos Machuca, Juanito, Katy, Yadira, Rodrigo, Jorge Castillo, Alfredo, Aldo y Oscar por su amistad cariño y por todos los momentos gratos que hemos pasado juntos.

A Diana Zarco por la encuademación y grabado de mi tesis así como a Israel Flores y Diana por estos 10 años de amistad, apoyo y confianza otorgados; por todos los logros que hemos tenido juntos.

A Adrian Quintero Martínez, por haberme apoyado en la parte experimental.

Dedico este trabajo a toda mi familia, (Papás, hermanos y cuñados), como un gran logro realizado gracias al apoyo, amistad, consejo, alegrías y palabras alentadoras que me han dado.

A mis Papás por ser los pilares de la casa, que siempre se han mantenido en pie.

A mi sobrina Elizabeth por sus travesuras y alegrías.

A los dos hermosos retoños Abigail y Alejandro por deleitarme con sus sonrisas y poder disfrutar sus logros en el inicio de sus vidas

## INDICE

	Pag.
<b>Resumen</b>	
<b>1. Introducción</b>	1
1.1. Planteamiento del problema	6
1.2. Objetivos	7
1.3. Hipótesis	8
<b>2. Materiales y Métodos</b>	
2.1. Obtención y mantenimiento de los organismos	9
2.2. Evaluación del efecto subletal del amonio sobre la actividad locomotora y el consumo de oxígeno	10
2.3. Respuestas fisiológicas	11
2.3.a. Actividad locomotora	11
2.3.b. Consumo de oxígeno	12
2.3.c. Consumo de oxígeno y actividad locomotora	13
2.4. Análisis estadístico	14
<b>3. Resultados</b>	
3.1. Actividad locomotora	15
3.2. Consumo de oxígeno y actividad locomotora	19
3.3. Costo energético y actividad locomotora	21
<b>4. Discusión</b>	23
<b>5. Conclusiones</b>	31
<b>6. Recomendaciones</b>	32
<b>7. Literatura citada</b>	33

## INDICE DE FIGURAS

	Pag.
Fig.1. Cámara circular de flujo continuo. A. Bomba de agua, B. Registro de oxígeno disuelto de entrada, C. Registro de oxígeno disuelto de salida. D. Fotoceldas. R. Reservorio de agua.	12
Fig.2. Actividad locomotora (pulsos $\text{min}^{-1}$ ) y consumo de oxígeno ( $\text{VO}_2$ , $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ org}^{-1}$ ) en un ciclo de 24 h, de juveniles de <i>Litopenaeus setiferus</i> expuestos en 0.2, 0.4 y 0.7 $\text{mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ durante 1 y 15 días y evaluados en 17 ups. Grupo testigo = 0 $\text{mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ <u>                    </u> = fase oscura del fotoperiodo.	17
Fig.3. Actividad locomotora (pulsos $\text{min}^{-1}$ ) en el periodo diurno y nocturno de juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos en 0.2, 0.4 y 0.7 $\text{mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ durante 1 y 15 días y evaluados en 17 ups. Grupo testigo = 0 $\text{mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ . Se señalan valores promedios y error estandar.	19
Fig.4. Relación de la actividad locomotora (pulsos $\text{min}^{-1}$ ) y el consumo de oxígeno individual ( $\text{mg O}_2 \text{ org}^{-1}$ ) en juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos en 0.2, 0.4 y 0.7 $\text{mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ durante 1 y 15 días y evaluados en 17 ups.	20
Fig.5. Consumo de oxígeno ( $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ ua}^{-1}$ ) por unidad de actividad ( $\text{ua}$ , pulsos $\text{min}^{-1}$ ) en juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos en 0.2, 0.4 y 0.7 $\text{mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ durante 1 y 15 días en 17ups.	22

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividad locomotora (pulsos $\text{min}^{-1}$ ; $\bar{x} \pm \text{ES}$ ) durante el periodo diurno y nocturno de un ciclo de 24h en juveniles de <i>Litopenaeus setiferus</i> expuestos en concentraciones subletales de amonio y evaluados en diferentes tiempos de exposición. (Grupo testigo = 0 $\text{mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ ).	18
Tabla 2. Ecuaciones de la regresión lineal $\text{VO}_2 = m (\text{Ac}) + b$ , que describen la relación entre la actividad ( $\text{Ac}$ ; pulsos $\text{min}^{-1}$ ) y el consumo de oxígeno ( $\text{VO}_2$ ; $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ org}^{-1}$ ) de juveniles de <i>Litopenaeus setiferus</i> expuestos en concentraciones subletales de amonio y evaluados en diferentes tiempos de exposición. (Grupo testigo = 0 $\text{mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ ). Se incluye el coeficiente de correlación ( $\text{R}^2$ ) y P.	20
Tabla 3. Consumo de oxígeno ( $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ ua}^{-1}$ ) y costo energético ( $\text{cal h}^{-1} \text{ ua}^{-1}$ ) por unidad de actividad ( $\text{ua}$ ; pulsos $\text{min}^{-1}$ ) en juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos a concentraciones subletales de amonio y evaluados en diferentes tiempos de exposición. (Grupo testigo = 0 $\text{mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ ). Se señalan valores promedio ( $\bar{x} \pm \text{ES}$ ).	22

## RESUMEN

Los ritmos biológicos en los crustáceos decápodos pueden ser afectados por condiciones estresantes del medio, entre ellos los tóxicos. En granjas camaronícolas, el incremento en las concentraciones de amonio puede alterar la actividad y el metabolismo de los organismos, afectando su desempeño global e incluso causarles la muerte. En el presente estudio se evaluó el efecto subletal del amonio en la actividad locomotora y el metabolismo energético en juveniles de *L. setiferus* ( $1.22 \pm 0.31$  g PH). Se realizaron bioensayos a corto (1 día) y largo plazo (15 días) exponiendo a los camarones en 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>; un grupo sin exposición al tóxico se consideró como testigo. Durante las pruebas se mantuvieron constantes la temperatura, la salinidad, el pH, el oxígeno disuelto y el fotoperiodo en  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $17 \pm 1$  ups,  $8.2 \pm 0.2$ ,  $6.5 \pm 0.1$  mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> y 12:12 h L/O, respectivamente.

Los camarones del grupo testigo presentaron un ritmo diario de actividad locomotora, con una mayor actividad durante la noche. Los grupos expuestos al amonio presentaron un comportamiento similar excepto los expuestos a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> en 1 y 15 días de exposición, en los cuales la actividad diurna y nocturna fué similar. Al aumentar el tiempo de exposición y la concentración externa de amonio, se observaron modificaciones importantes en la actividad locomotora de los camarones incluyendo desplazamientos en el comportamiento nocturno de la actividad y la reducción significativa en la actividad locomotora tanto diurna como nocturna.

La relación entre el consumo de oxígeno y la actividad locomotora de los camarones no fué significativa. Sin embargo al 1º día de exposición, si bien el consumo de oxígeno no presentó alteraciones, la actividad locomotora tendió a disminuir conforme se incrementó el amonio externo; en contraste, a los 15 días de exposición al aumentar el tóxico se incrementó el consumo de oxígeno mientras que la actividad de los organismos se redujo.

Al evaluar el costo energético y la actividad de los camarones, tanto la exposición al amonio como el tiempo de exposición alteraron la respuesta. Los resultados obtenidos al 1º y 15º día de exposición, denotan un aumento en la inversión energética de los organismos para desempeñar una actividad similar al aumentar el tiempo y la concentración de exposición.

Los resultados obtenidos sugieren la probable acción neurotóxica del amonio en los juveniles de *L. setiferus* alterando el ritmo diario de actividad locomotora y reduciendo su intensidad. El incremento en el costo energético para desempeñar su actividad repercute adversamente en la alimentación de los juveniles y en sus mecanismos de protección y escape comprometiendo su sobrevivencia.

## 1. INTRODUCCION

El comportamiento de los animales se genera a partir de la interacción con su ambiente. La expresión de patrones conductuales depende de la información genética del individuo y del efecto del medio. Muchos de estos comportamientos, tales como el movimiento locomotor, la respiración, los cambios de color, la hibernación y la migración muestran ritmos repetitivos. Estos ritmos biológicos están controlados por un reloj biológico endógeno que determina las respuestas fisiológicas y conductuales del animal (Rand, 1985; Hill y Wyse, 1990; Randall *et al.*, 1997).

Los ritmos diarios controlados endógenamente son denominados circadianos (Randall *et al.*, 1997) y sus características principales son:

1. El ritmo se mantiene en condiciones ambientales constantes por varios días o semanas y presenta un periodo cercano a las 24 h.
2. El ritmo es independiente de la temperatura corporal del individuo.
3. Pueden entrar en arritmia, por factores como régimen de luz y niveles de oxígeno.
4. Se pueden sincronizar por ciclos ambientales tales como fotoperiodos iguales o cercanos a las 24h.

En crustáceos, la ritmicidad circadiana ha sido estudiada en diferentes respuestas de acuerdo con diversos factores ambientales. El ritmo biológico de la actividad locomotora ha sido abordado en numerosos trabajos incluyendo, la actividad locomotora de camarones en confinamiento (Porta *et al.*, 1996) y de *Penaeus duorarum* in situ y en laboratorio (Subrahmanyam, 1976); la actividad locomotora y cardíaca en *Carcinus maenas* (Aagaard *et al.*, 1995) y en *Astacus astacus* en relación a fluctuaciones ambientales de temperatura y de luz (Bojsen *et al.*, 1998); la actividad locomotora con relación a la luz en langostas (Aréchiga y Wiersma, 1969) y en acociles (Fanjul-Moles *et al.*, 1998) y en ciclos de salinidad en *Carcinus maenas* (Taylor y Naylor, 1977), así como diferencias ontogenéticas de la ritmicidad de la actividad locomotora en *Orchestoidea tuberculata* (Kennedy *et al.*, 2000). La ritmicidad cardíaca también ha sido evaluada en *Carcinus maenas* con relación a factores ambientales y condición fisiológica (Aagaard, 1996) y en *Astacus*

*astacus* (Styrishave *et al.*, 1995) en relación a la salinidad y metales pesados en el medio. A su vez el ritmo de la tasa respiratoria ha sido estudiado en el acocil *Cambarellus shofeldtii* (Fingerman, 1955), en el camarón café *Penaeus aztecus* (Díaz *et al.*, 1989), en el camarón rosado *Penaeus duorarum* (Subrahmanyam, 1976) y en el camarón blanco *Litopenaeus setiferus* (Robles, 2001), así como en diversos decápodos crustáceos del noreste de la costa del Golfo de México (Rosas *et al.*, 1992b).

Los ritmos circadianos en los organismos pueden ser afectados por condiciones estresantes del medio, entre ellos los tóxicos ambientales, los cuales pueden ocasionar a su vez cambios de conducta. Esta toxicidad conductual genera desordenes fisiológicos que pueden alterar el desempeño normal y reducir la sobrevivencia del animal (Marcucella y Abramson, 1978). Si bien la conducta ha sido considerada como un indicador sensible al efecto adverso de tóxicos ambientales, los estudios relacionados en organismos acuáticos no han recibido la importancia debida en toxicología acuática (Rand, 1985).

En el ambiente acuático, el amonio es considerado como uno de los contaminantes más importantes (Russo, 1985; Jobling, 1994; Páez, 2001). En estos ambientes, el amonio está presente en dos formas, una no ionizada ( $\text{NH}_3$ ) y una ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ), donde la proporción de estas dos moléculas depende del pH, la temperatura y la salinidad del medio (Bower y Bidwell, 1978; Russo, 1985; Jobling, 1994). Si bien en los sistemas acuáticos usualmente la mayor proporción se encuentra como ión amonio, el amoniaco es la forma más tóxica debido a su naturaleza lipofílica, a su pequeño tamaño y a su carencia de carga iónica, aspectos que determinan una mayor capacidad de difusión a través de las membranas celulares y por lo tanto a través de las branquias de los organismos (Wright, 1995).

El aporte de amonio en ambientes naturales puede ser debido a la descarga de desechos industriales, de aguas residuales y de afluentes agrícolas (Russo, 1985; Paéz, 2001), así como por la acumulación del producto final del metabolismo nitrogenado de los organismos amoniotéticos (Regnault, 1987). En estos ecosistemas, el amonio es rápidamente oxidado hasta productos menos tóxicos como el nitrito y el nitrato, por medio de la nitrificación, donde intervienen las

bacterias *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* (Russo, 1985; Jobling, 1994). Sin embargo, en sistemas de cultivo de camarones peneidos, el amonio puede alcanzar concentraciones tóxicas para los organismos debido a las altas densidades de siembra, a las elevadas cantidades de fertilizantes utilizados, a la amonificación de los residuos alimentarios en exceso y a la acumulación de los productos de excreción nitrogenada, aunado al inadecuado recambio de agua (Chen y Lin, 1991; Chen y Lin, 1992; Jobling, 1994).

En granjas camaronícolas semi-intensivas de Mazatlán y Sinaloa, en México, se han reportado niveles de amonio que van desde 0.20 a 0.80 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> (Franco, 1998). Si bien estas concentraciones son consideradas subletales en diversos estudios, ocasionan numerosas alteraciones bioquímicas y fisiológicas que comprometen el desarrollo y la sobrevivencia de los camarones en exposiciones prolongadas, alteraciones que se relacionan con la acumulación del amonio al interior de los organismos.

De acuerdo con Chen *et al.* (1991), Chen y Lin (1992), Jobling (1994) y Racotta y Hernández-Herrera (2000), el amonio puede incrementar la demanda de oxígeno, ocasionar daños celulares en los pigmentos respiratorios, afectar la habilidad del transporte de oxígeno a los tejidos debido a alteraciones en el epitelio branquial y reducir la capacidad de transporte de la molécula de oxígeno.

La exposición al amonio, también afecta la osmorregulación de los camarones peneidos, debido a alteraciones en la permeabilidad de las membranas del organismo modificando el transporte de Na<sup>-</sup> y NH<sub>4</sub><sup>-</sup> (Yuong *et al.*, 1991; Lin *et al.*, 1993; Rebelo *et al.*, 1999). En *P. japonicus* niveles externos en el medio de 1.14 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> ocasionan una disminución en la concentración de Na<sup>-</sup>, K<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> y Mg<sup>2+</sup> de la hemolinfa (Chen y Chen, 1996). En juveniles de *L. setiferus* se reportan alteraciones en el balance iónico y osmótico a partir de 0.4 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> a las 24h (Ríos, 2001) o de 0.2 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> a los 21 días de exposición (Robles, 2001).

El incremento de amonio en el ambiente acuático puede afectar a su vez la excreción nitrogenada en peneidos, reduciéndola y elevando en consecuencia los niveles tóxicos de este compuesto al

interior del organismo. Tales alteraciones han sido reportadas en postlarvas de *P. vannamei* (Molina, 1998) y en juveniles de la especie (Frias y Páez, 2001), así como en juveniles de *Penaeus chinensis* (Chen y Lin, 1992) y en juveniles de *L. setiferus* (Robles, 1997; 2001) expuestos de manera crónica a niveles subletales de amonio.

Ostrensky *et al.* (1995) reportan una reducción del porcentaje de muda y alteraciones de la conducta de nado durante el desarrollo larval de *Penaeus paulensis* por la exposición a 0.30 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>. Lin *et al.* (1993) señalan que la exposición crónica (20 días) a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> ocasiona una disminución en la frecuencia de muda y una reducción del crecimiento en las postlarvas de *Penaeus japonicus*. En *Penaeus monodom*, Chen *et al.* (1986) reportan una reducción del 50% del crecimiento en organismos expuestos en 0.59 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>. Así mismo, en *L. setiferus* niveles de 0.2 a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> reducen el crecimiento de postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus* (Robles, 1997; Robles, 2001), a su vez, exposiciones de 21 días en 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> ocasionan el 30% de mortalidad en los juveniles de la especie (Robles, 2001).

Alteraciones metabólicas han sido reportadas en peneidos por la exposición subletal al amonio. El consumo de oxígeno puede verse incrementado en postlarvas de *P. vannamei* a partir de 4 h de exposición en 0.4 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> (Molina, 1998) al igual que en juveniles de *P. vannamei* (Racotta *et al.*, 2000) y de *P. chinensis* (Chen *et al.*, 1991). En contraste, la exposición al amonio reduce la tasa metabólica en juveniles de *L. setiferus* a partir de 24 h y niveles de 0.4 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> (Robles, 1997). El aumento en el consumo de oxígeno se ha relacionado con el incremento energético asociado a mecanismos de desintoxicación (Robles, 2001). Otros autores han sugerido que este incremento puede deberse a una respuesta de escape y al consecuente aumento en los requerimientos energéticos de los organismos (Molina, 1998; Alcaraz, *et al.*, 1999).

En peces teleósteos, el amonio altera el sistema locomotor, ocasionando nado errático y la disminución de éste (Russo, 1984; Jobling, 1994). Tales alteraciones se asocian con la acción neurotóxica del amonio, ocasionando fallas de neurotransmisión e interfiriendo con la función normal del sistema nervioso central (Russo, 1984; Jobling, 1994). En las postlarvas de *P. vannamei* Molina, (1998) así como en juveniles de *L. setiferus* (Robles, 2001) se ha sugerido que

la actividad locomotora es reducida por la exposición al amonio, lo cual se refleja en una disminución en la alimentación. A su vez, Alcaraz *et al.* (1997) sugiere que el amonio interfiere en las respuestas al estrés térmico en postlarvas de *L. setiferus*. Los autores mencionan que es posible que el tóxico ocasione alteraciones nerviosas relacionadas con el comportamiento locomotor de los camarones. Sin embargo no se han efectuado estudios en crustáceos que aborden el efecto del amonio en los patrones de actividad o en desórdenes conductuales ni su relación con los procesos respiratorios de los organismos.

La actividad locomotora y/o de nado representa el mayor costo energético del metabolismo de los organismos (Lucas, 1996). En crustáceos, el incremento en las tasas ventilatorias (Arudpragasam y Naylor, 1964; Taylor, 1977; Dyer y Uglow, 1977), cardíacas (Aagaard *et al.*, 1995; Bojsen *et al.*, 1998) y respiratorias (Subrahmanyam, 1976; Harris y Morgan, 1984; Wallace, 1972) se han relacionado con el aumento en las demandas metabólicas de la actividad de los organismos.

Los estudios que abordan la relación entre la actividad locomotora y el consumo de oxígeno en crustáceos son escasos. Al respecto, se reporta que las modificaciones en la tasa metabólica pueden ser generadas por cambios en la actividad locomotora de los crustáceos en relación a la edad de los organismos. Wallace (1972), encontró que la tasa respiratoria de *Carcinus maenas* fue significativamente más elevada que la de los animales inactivos y mayor en los cangrejos menores de 1g que cangrejos de mayor peso. Harris y Morgan (1984), encontraron que animales pequeños y jóvenes del anfípodos *Corophium volutator*, consumen más oxígeno que individuos grandes y viejos variando el consumo de oxígeno de 0.40 ml O<sub>2</sub> g PS<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> durante la etapa inactiva, a valores de 2 a 8.00 ml g PS<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> durante la máxima actividad. A su vez, juveniles de *Penaeus duorarum*, presentan una mayor tasa metabólica durante el periodo de máxima actividad (Subrahmanyam, 1976).

No obstante, el incremento del consumo oxígeno no necesariamente es proporcional al incremento de la actividad ya que los animales difieren significativamente en su habilidad para usar la energía a partir de las diferentes rutas metabólicas (Prosser, 1990). En este sentido, en los juveniles de *P. duorarum* se observa un máximo en la tasa metabólica independientemente del

incremento de la actividad locomotora de los camarones, lo cual se relaciona con una adaptación metabólica que limita la demanda de oxígeno en periodos de actividad intensa (Subrahmanyam, 1976). Por otro lado, los cambios en la actividad locomotora espontánea de los organismos enmascaran a su vez el efecto de las variaciones ambientales, incluidos los tóxicos, sobre su metabolismo respiratorio (Jobling, 1994). En los camarones peneidos, se desconoce la relación existente entre las alteraciones sobre la actividad locomotora y las modificaciones en el metabolismo energético de los organismos por la exposición al amonio.

En México, en 1998 operaron 319 granjas camaroneras con unas 24,000 ha, localizándose la mayor parte en el Pacífico mexicano en los estados de Sinaloa, Sonora y Nayarit. La mayor producción es sustentada por el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* y el camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Paéz, 2001). En el Golfo de México, el camarón blanco *Litopenaeus setiferus* es considerado una especie adecuada para el cultivo debido a diversas características, entre ellas presenta gran tolerancia a temperaturas bajas; puede ser fácilmente cultivada y debido a su rápido crecimiento, alcanza una talla comercial adecuada (Sandifer *et al.*, 1993). Asimismo, hay disponibilidad de crías y reproductores silvestres, por lo que no hay necesidad de importación de especies alóctonas y no es hospedero del virus IHHN (Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética). No obstante, para la producción exitosa en los estanques de engorda se requiere de un adecuado suministro y mantenimiento de las etapas juveniles de la especie que garantizan el éxito en la cosecha del recurso (Gracia, 2001).

### **1.1. Planteamiento del Problema.**

El ritmo biológico diario del consumo de oxígeno ha sido reportado en el camarón blanco *Litopenaeus setiferus*, tanto en pre-adultos de la plataforma continental del Golfo de México (Rosas *et al.*, 1992b) como en juveniles de la Laguna de Términos, Campeche (Robles 1997; 2001); los camarones exhiben un comportamiento respiratorio bimodal diario, con una mayor actividad nocturna que diurna lo cual se ha relacionado con patrones de alimentación y migración.

En postlarvas y juveniles de la especie, se ha demostrado el efecto subletal del amonio sobre el consumo de oxígeno, donde de acuerdo al tiempo y nivel de exposición se observan alteraciones en el patrón respiratorio, en la tasa metabólica y en la amplitud metabólica de los organismos (Robles 1997; Alcaraz *et al.*, 1999; Robles, 2001). Asimismo la exposición subletal al amonio en las postlarvas reduce su tolerancia al estrés térmico (Alcaraz *et al.*, 1997). Estas alteraciones fisiológicas se han relacionado con la probable acción neurotóxica del amonio en los camarones ocasionando fallas en la neurotransmisión normal, alterando en consecuencia su actividad locomotora y/o de nado.

Sin embargo, no se han efectuado estudios que aborden el efecto del amonio en los patrones de actividad de crustáceos y en particular de *L. setiferus*, ni la relación existente entre el consumo de oxígeno y la actividad locomotora de los camarones así como el costo energético de esta actividad, aspectos en los cuales se centra la presente investigación.

El camarón blanco *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) presenta un gran potencial para su cultivo en el Golfo de México (Sandifer *et al.*, 1993). No obstante su producción exitosa requiere del conocimiento de los factores que limitan su cultivo, como es el caso de la acumulación del amonio en los sistemas de cultivo.

## 1.2. Objetivos

El **objetivo general** del presente trabajo fué evaluar el efecto de la exposición a corto (1 día) y largo plazo (15 días) de concentraciones subletales de amonio sobre la actividad locomotora y su relación con el metabolismo energético en los juveniles de *L. setiferus*, en ciclos de 24 h.

### Objetivos particulares:

1. Estimar los cambios en el ritmo diurno de actividad locomotora de los camarones por efecto de las concentraciones subletales de amonio.
2. Correlacionar la actividad locomotora y el consumo de oxígeno de los camarones y determinar si ésta es modificada por la exposición al amonio.

3. Evaluar si hay cambios significativos en el costo energético relacionado con la actividad locomotora de los organismos por la exposición a concentraciones subletales de amonio.

### 1.3. Hipótesis

#### Hipótesis general

Dado que el efecto neurotóxico del amonio ocasiona la alteración de la actividad de nado de los organismos acuáticos, además de causar numerosas modificaciones fisiológicas que puede reflejarse en la tasa metabólica, la exposición al amonio en los juveniles de *L. setiferus* puede modificar tanto la actividad locomotora y/o de nado, como el consumo de oxígeno de los camarones. Ya que la actividad locomotora representa uno de los mayores gastos energéticos del metabolismo de los organismos, las modificaciones en la actividad locomotora de los camarones por la exposición al amonio se verán reflejados en el consumo de oxígeno.

#### Hipótesis particulares:

1. La actividad de los camarones se incrementará en los primeros periodos de exposición al amonio como una respuesta de escape. Al incrementarse el tiempo de exposición y la concentración externa del amonio, su efecto neurotóxico se verá reflejado en la reducción del movimiento de los camarones
2. Durante la exposición subletal al amonio, los camarones incrementarán su tasa metabólica aeróbica, como mecanismo compensatorio para eficientizar la obtención, transporte y suministro de oxígeno a los tejidos y para reducir el efecto tóxico del amonio.
3. Dado que la actividad representa uno de los mayores costos energéticos de los organismos los cambios en la actividad locomotora se reflejarán en el consumo de oxígeno de los camarones.

## 2. MATERIALES Y METODOS

### 2.1. Obtención y mantenimiento de los organismos

Los juveniles de *L. setiferus* de 1-2 g fueron capturados en la Laguna de Términos, Campeche. La captura se realizó por la mañana con una red de arrastre llamada "Chango". La duración de cada arrastre fue de 3-5 minutos, con el objeto de permitir la recuperación completa de los animales debido al estrés ocasionado por la captura (Vanegas, 1996). La temperatura del agua durante la captura osciló de 26 a 30°C, la salinidad de 4 a 15 ups (unidades prácticas de salinidad) y el oxígeno disuelto de 4 a 6 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>. Los camarones se transportaron, en contenedores de plástico con agua del sitio de captura y con oxígeno disuelto a saturación, al laboratorio de Biología Marina Experimental, en Ciudad del Carmen, Campeche.

Una vez en el laboratorio, los organismos se mantuvieron a temperatura ambiente, con agua de mar a la salinidad del sitio de captura y se alimentaron dos veces al día con camarónina (35% proteína; Purina S. A.) Posteriormente, se transportaron al laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias en bolsas de polietileno con agua de mar a la salinidad del sitio de captura, a 20°C de temperatura y atmósfera saturada de oxígeno. En el laboratorio los camarones se mantuvieron durante tres días en las mismas condiciones que las del transporte, en acuarios de 200 l de capacidad (filtro biológico incorporado en los acuarios) y en una densidad de 1 organismo por 2.2 l. Posteriormente la temperatura se ajustó 2°C d<sup>-1</sup> y la salinidad 2 ups d<sup>-1</sup> hasta alcanzar 28°C y 17 ups, salinidad correspondiente al punto isosmótico de los juveniles de la especie (Ríos, 2001). El fotoperiodo se mantuvo en 12 h luz / 12 h oscuridad (LO 12:12; lamparas Philips, 75 Watts). El oxígeno se mantuvo a saturación (6.5 ± 0.05 mg l<sup>-1</sup>) y el pH de 8.2 a 8.5.

Los camarones se alimentaron con una ración diaria de alimento peletizado (35% proteína; Purina, S.A.) al 5% de su peso corporal. En estas condiciones, los organismos permanecieron una semana previo al inicio de los bioensayos. Diariamente se midió la salinidad, la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto con un refractómetro óptico (Atago S/Mill-E; ± 0.5 ups), un termómetro

de inmersión (Brannan  $-20$  a  $50^{\circ}\text{C}$ ;  $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ), un potenciómetro digital (Trans Instrument, Walk Lab;  $\pm 0.005$ ) y un oxímetro con sensor polarográfico (YSI 51B  $\pm 0.05$  mg  $\text{O}_2$   $\text{l}^{-1}$ ), respectivamente. De igual manera se evaluaron los niveles de amonio y nitrito en los acuarios, por medio de las técnicas colorimétricas de azul de indofenol y sulfanilamida respectivamente (Rodier, 1981).

## **2.2. Evaluación del efecto subletal del amonio sobre la actividad locomotora y el consumo de oxígeno.**

El efecto subletal del amonio sobre la actividad locomotora y el consumo de oxígeno en los juveniles de *L. setiferus* ( $1.22 \pm 0.31$ g peso húmedo  $\bar{x} \pm \text{ES}$ ) se evaluó a corto (1 día) y largo plazo (15 días).

Las concentraciones subletales de amonio utilizadas (0.2, 0.4 y 0.7 mg N- $\text{NH}_3$   $\text{l}^{-1}$ ), correspondientes a niveles de 2, 5, y 8 mg N-AT  $\text{l}^{-1}$  (N-amonio total) respectivamente, fueron definidas a partir de estudios previos de toxicidad aguda (Robles, 1997; Alcaraz *et al.*, 1999), aunado a que son niveles que se registran regularmente en sistemas de cultivo (Franco, 1998). Las concentraciones experimentales se prepararon a partir de soluciones madre de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; Baker, 99.7% pureza) con las respectivas diluciones de agua de mar. Para obtener las concentraciones deseadas de amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) se tomó en cuenta la salinidad, el pH y la temperatura del agua de los acuarios (Bower y Bidwell, 1978).

Previo a la exposición del amonio, para cada condición experimental se transfirieron 15 juveniles de los acuarios de mantenimiento a acuarios de 40 l, con divisiones de malla de polietileno, un camarón por división, y se dejaron por un lapso de 96 h. Posteriormente, los juveniles de *L. setiferus* se expusieron al amonio a concentraciones de 0.2, 0.4 y 0.7 mg N- $\text{NH}_3$   $\text{l}^{-1}$  (N-amoniaco); se consideró un grupo de organismos testigo sin exposición al amonio. Durante el transcurso de las pruebas, los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron de manera similar a los de la etapa de mantenimiento, así como el patrón de alimentación señalado. El alimento remanente en los acuarios se eliminó diariamente y se efectuaron recambios del 30 al 60% del

volumen de agua de los acuarios manteniendo los respectivos niveles de concentración amoniacaal.

Una vez transcurrido cada tiempo de exposición al amonio (1 y 15 días), 5 camarones de cada concentración experimental se transfirieron al sistema respirométrico y de registro de actividad locomotora en el que se mantuvo la concentración de amonio correspondiente. Cabe mencionar que la actividad locomotora y el consumo de oxígeno se evaluaron en organismos con ayuno previo de 24 h y en etapa de intermuda. El periodo de intermuda se estableció de acuerdo al criterio señalado por Robertson *et al.* (1987).

A lo largo de las pruebas las concentraciones experimentales de amonio se mantuvieron constantes. Las concentraciones reales de amonio total ( $\text{mg NAT l}^{-1}$ ) se determinaron con la técnica de azul de indofenol (Rodier, 1981). Los niveles de  $\text{NH}_3^+$  ( $\text{mg l}^{-1}$ ) se calcularon a partir de la ecuación de Bower y Bidwell (1978) considerando la temperatura, la salinidad y el pH del medio.

### **2.3. Respuestas fisiológicas**

#### **2.3.a. Actividad locomotora**

La actividad locomotora de los camarones se registró de manera individual en cámaras circulares de acrílico de 200 ml, con flujo continuo de agua y aditados con 3 fotoceldas que registraron el movimiento de los camarones (diseño modificado de Evans, 1990) (Fig. 1). La distancia promedio entre cada fotocelda es de 13.45 cms y la distancia circular total, de 40.35 cms.

En las cámaras se mantuvo la concentración experimental de amonio respectiva, así como la temperatura y la salinidad del medio. Para cada concentración experimental de amonio, la actividad de nado se evaluó en 5 organismos; una cámara sin organismo, se consideró como testigo. El registro de la actividad locomotora se inició 3 horas después de colocados los organismos para evitar interferencia por la manipulación de los camarones.

Los registros de la actividad locomotora se efectuaron a lo largo de un ciclo de 24 h. El sistema de registro nado se acopló a una computadora y mediante un programa de computo diseñado *ex profeso* (NAFRI S. A. de C. V., México) se capturaron los registros de nado de los organismos. El programa de cómputo registró cada "corte de fotocelda" como 0.5 pulsos y los agrupó cada 30 min. De tal manera la actividad de nado de los camarones se obtuvo como pulsos  $30 \text{ min}^{-1}$  y se expresó como pulsos  $\text{min}^{-1}$ , para su correspondiente análisis.

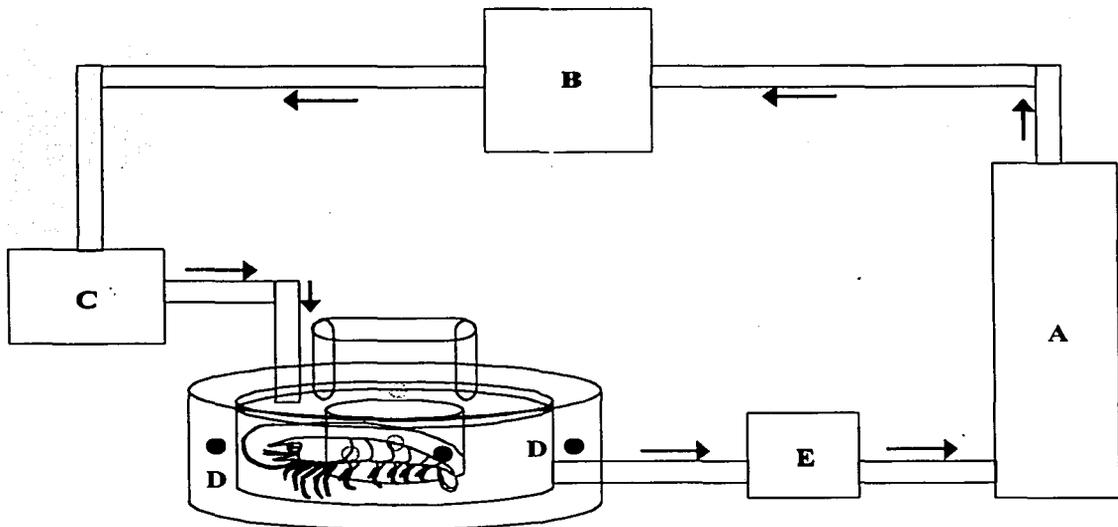


Fig. 1. Cámara circular de flujo continuo. A. Bomba de agua, B. Reservorio de agua, C. Registro de oxígeno de entrada. D. Fotoceldas, E. Registro de oxígeno disuelto de salida.

### 2.3.b. Consumo de oxígeno

En las cámaras circulares descritas previamente y de manera simultánea a la actividad locomotora, se evaluó el metabolismo de rutina de los camarones a través del consumo de oxígeno. Se tomaron registros cada 2 h (14, 16, 18, y 20 h y a las 10, 12, 14 h. del día siguiente) a lo largo del ciclo de 24 h. En cada periodo se tomó una muestra de agua a la entrada de las cámaras, así como a la salida de cada cámara y se determinó la concentración del oxígeno

disuelto con un oxímetro de sensor polarográfico (YSI 51B  $\pm$  0.05 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>). De manera paralela se midió el flujo de agua (l h<sup>-1</sup>).

El consumo de oxígeno individual (VO<sub>2</sub>; mg O<sub>2</sub>·h<sup>-1</sup>·org<sup>-1</sup>) se calculó de acuerdo a la fórmula de Cech (1990):

$$VO_2 = ([O_2]_e - [O_2]_s) F$$

donde [O<sub>2</sub>]<sub>e</sub> es la concentración de oxígeno disuelto del agua a la entrada de las cámaras y [O<sub>2</sub>]<sub>s</sub> a la salida, y F el flujo del agua en las cámaras (l h<sup>-1</sup>). Los valores se corrigieron por los valores obtenidos en la cámara control sin organismo. Al termino de las pruebas, los camarones se sacrificaron y se registró el peso húmedo (g PH) en una balanza analítica (Sartorius BP105  $\pm$  0.00005g).

### 2.3.c. Consumo de oxígeno y actividad locomotora.

Con la finalidad de relacionar el consumo de oxígeno con la actividad locomotora de los organismos, para cada registro del consumo de oxígeno se agruparon los 3 datos anteriores de la actividad correspondientes a registros continuos de actividad de 1.5 h. Este tiempo se consideró tomando en cuenta la corrección propuesta por Cech (1990) y que a el tiempo máximo requerido para hacer el recambio total de agua de las cámaras de flujo continuo fué calculado en 1.5 h a partir de la fórmula:

$$t = 4.6 V/F$$

donde V es el volumen del la cámara (200 ml) y F el flujo de agua en las cámaras (ml min<sup>-1</sup>). Cabe señalar que el análisis se efectuó sólo con los registros diurnos tanto de la actividad locomotora como del consumo de oxígeno.

A fin de estimar el gasto energético aerobio relacionado con la actividad individual de los organismos, la tasa respiratoria de los camarones de cada condición experimental se transformó en valores calóricos utilizando el coeficiente oxicalórico de 3.32 cal mg O<sub>2</sub><sup>-1</sup> (Elliot y Davison, 1975). Los resultados obtenidos (cal h<sup>-1</sup>) se relacionaron con la actividad de los organismos expresadas en pulsos min<sup>-1</sup>, obteniéndose el costo energético por unidad de actividad (ua; pulso

$\text{min}^{-1}$ ) de los camarones en cada condición experimental ( $\text{cal h}^{-1} \text{ua}^{-1}$ ); esto es, la cantidad de energía que el organismo invierte en desplegar una actividad por unidad de tiempo.

#### 2.4. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de la actividad locomotora (pulsos  $\text{min}^{-1}$ ), el consumo de oxígeno ( $\text{mg O}_2 \text{h}^{-1} \text{org}^{-1}$ ) y el costo energético de la actividad locomotora ( $\text{cal h}^{-1} \text{ua}^{-1}$ ) fueron sometidos inicialmente al Análisis Exploratorio de Datos para detectar datos atípicos (Statistica Ver 5.0). Para cada condición experimental, las diferencias significativas de la actividad de nado de los organismos entre el periodo diurno y nocturno se establecieron mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (Zar, 1999).

En cada periodo de exposición, el efecto del amonio sobre la actividad locomotora (pulsos  $\text{min}^{-1}$ ) y el costo energético por unidad de actividad ( $\text{cal h}^{-1} \text{ua}^{-1}$ ) de los camarones se determinó mediante la Prueba No Paramétrica de Kruskal-Wallis; las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) se establecieron mediante la prueba de Newman-Keuls (Zar, 1999).

### 3. RESULTADOS

La mayoría de los juveniles de *L. setiferus* utilizados en el presente estudio se encontraron en periodo de intermuda (75%) considerando las etapas desde posmuda tardía hasta finales de la intermuda, de acuerdo a Robertson *et al.* (1987). Los juveniles utilizados en este estudio ( $1.22 \pm 0.31$  g PH;  $\bar{x} \pm ES$ ) tuvieron una longitud total de  $7.09 \pm 0.44$  cms ( $\bar{x} \pm ES$ ) y una longitud patrón de  $5.03 \pm 0.23$  cms ( $\bar{x} \pm ES$ ).

#### 3.1. Actividad locomotora

Los valores obtenidos de la actividad locomotora (pulsos  $\text{min}^{-1}$ ) se convirtieron, para fines comparativos, en unidades de distancia (cms  $\text{min}^{-1}$ ) tomando en consideración que 1.5 pulsos (0.5 pulsos por "corte" de fotocelda) corresponden a 40.35 cms de distancia circular total de cada cámara circular. De tal manera, 1 pulso  $\text{min}^{-1}$  correspondió a 26.9 cms  $\text{min}^{-1}$  recorridos por los camarones. Es importante acotar que los valores calculados pueden subestimar la distancia real recorrida por unidad de tiempo, dado el comportamiento locomotor discontinuo de los organismos.

La actividad locomotora de los camarones en el grupo testigo presentó un ritmo diario similar en los dos tiempos experimentales (1 y 15 días) con una mayor actividad durante la noche que durante el día (Fig. 2). Un ritmo diario similar se presentó en los organismos expuestos 1 y 15 días a las menores concentraciones subletales de amonio, con registros máximos de actividad durante la noche. Sin embargo, en todos los grupos experimentales, tanto las horas de registro de mayor actividad locomotora nocturna como la intensidad de ésta fueron modificados por la exposición al amonio.

En el grupo testigo, al inicio y al término de las pruebas (1 y 15 días) la mayor actividad nocturna se registró alrededor de las 21:00 h. En contraste, en  $0.2$  mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> al 1º día de exposición al amonio, la mayor actividad se desplazó hacia las 6:00 h registrándose nuevamente ésta a las 21:00 h en los camarones expuestos 15 días. En  $0.4$  mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>, el registro de mayor actividad

se desplazó hacia la madrugada en los dos periodos de exposición al amonio. De igual manera en  $0.7 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$  la mayor actividad locomotora se observó en la madrugada a partir de las 2:00 h y 24:00 h en los camarones expuestos 1 y 15 días al amonio, respectivamente. Es importante resaltar que los desplazamientos de las horas en las que se observó la mayor actividad de nado de los camarones no estuvieron relacionados con el encendido y el apagado de luz (Fig. 2).

La ritmicidad de la actividad máxima nocturna de los camarones fue modificada por la exposición al amonio. En el primer día de exposición a  $0.2 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ , la mayor actividad nocturna de  $7 \text{ pulsos min}^{-1}$  ( $188.3 \text{ cms min}^{-1}$ ) fue 40% mayor que en el grupo testigo ( $5 \text{ pulsos min}^{-1}$ ;  $134.5 \text{ cms min}^{-1}$ ); en contraste, al aumentar la concentración externa de amonio en  $0.4$  y  $0.7 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$  se observó la disminución en la máxima actividad de los camarones ( $3$  y  $2 \text{ pulsos min}^{-1}$ ;  $80.7$  y  $53.8 \text{ cms min}^{-1}$ ) correspondientes a una reducción del 40 y 60% respectivamente respecto al grupo testigo. A los 15 días de exposición al compuesto nitrogenado, la actividad locomotora de los camarones disminuyó de manera gradual conforme aumentó la concentración externa de amonio, desde niveles de máxima actividad de  $9 \text{ pulsos min}^{-1}$  ( $242.1 \text{ cms min}^{-1}$ ) en el grupo testigo, a valores máximos de  $4$ ,  $3$  y  $2 \text{ pulsos min}^{-1}$  ( $107.6$ ,  $80.7$  y  $53.8 \text{ cms min}^{-1}$ ) en los organismos expuestos a  $0.2$ ,  $0.4$  y  $0.7 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ , correspondiendo a una reducción del 55, 66.7 y 78% respecto al grupo testigo (Fig. 2).

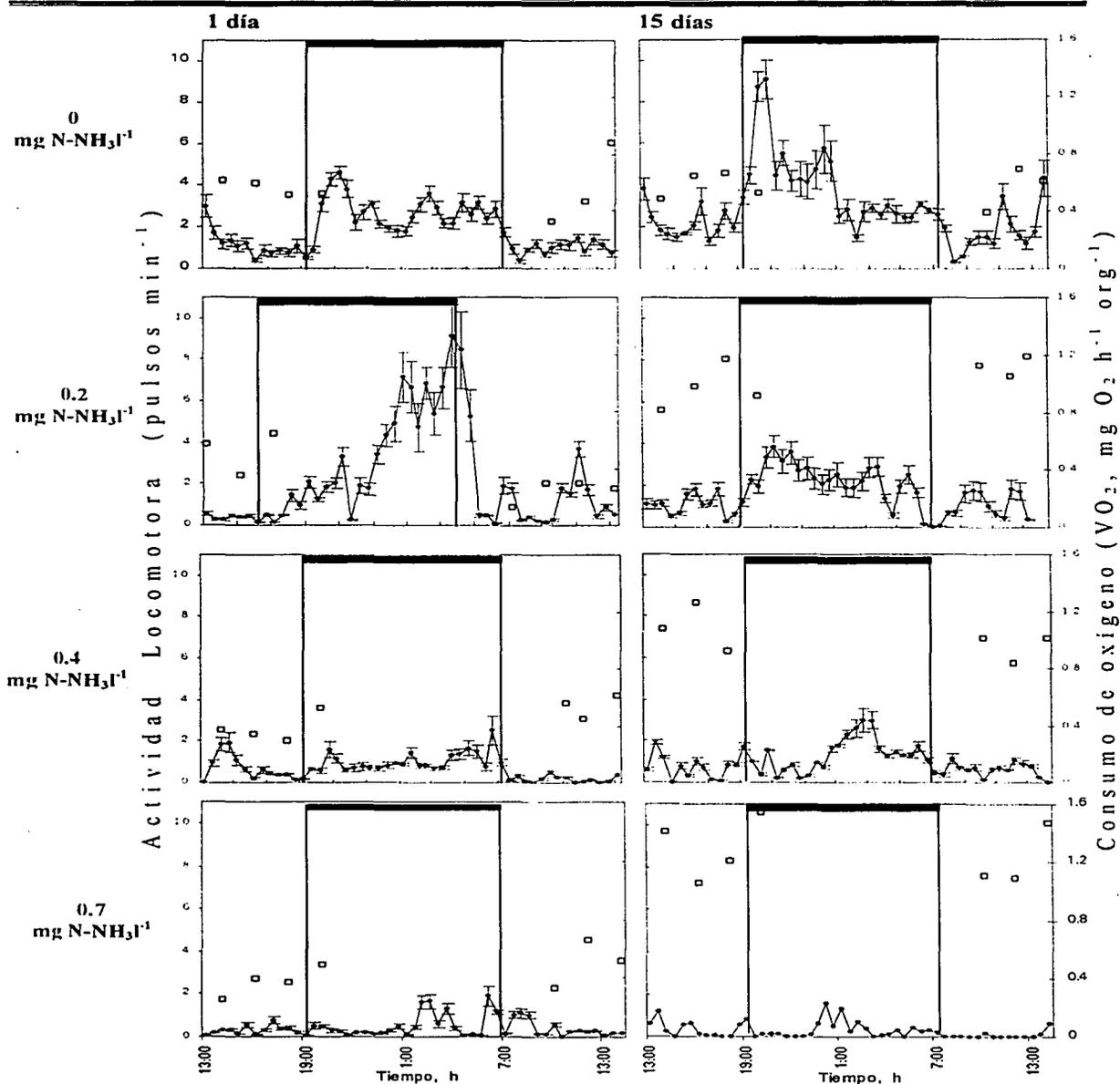


Fig. 2. Actividad locomotora (—▲—; pulsos min<sup>-1</sup>;  $\bar{x} \pm ES$ ) y consumo de oxígeno (—■—; VO<sub>2</sub>, mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> org<sup>-1</sup>) en un ciclo de 24h. de juveniles de *Litopenaeus setiferus* expuestos en 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> durante 1 y 15 días y evaluados en 17 ups. Grupo testigo = 0 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>. ██████████ = fase oscura del fotoperiodo.

Al agrupar la actividad de los camarones durante la fase de luz (7:30 a 19:30 h) y la fase de oscuridad (19:30 a 7:30 h), se mantuvo el comportamiento de la actividad locomotora de los camarones descrito previamente con una mayor actividad nocturna que diurna ( $P < 0.05$ ), a excepción de los grupos expuestos 1 y 15 días a 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> en los que la actividad diurna y nocturna fue similar ( $P > 0.05$ ) (Tabla 1; Fig. 3). En los camarones del grupo testigo, la actividad nocturna fue 154 y 100% mayor que la diurna ( $P < 0.05$ ) al 1º y 15º día del bioensayo, respectivamente. En los camarones expuestos a 0.2 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>, la actividad nocturna fue 281 y 107% mayor que la diurna ( $P < 0.05$ ) al 1º y 15º día de exposición respectivamente. En 0.4 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>, en los camarones expuestos 1 y 15 días, la actividad nocturna fue 149 y 81% mayor que la diurna ( $P < 0.05$ ).

Tabla 1. Actividad locomotora (pulsos min<sup>-1</sup>; cms min<sup>-1</sup>;  $\bar{x} \pm ES$ ) durante el periodo diurno y nocturno de un ciclo de 24 h, en juveniles de *Litopenaeus setiferus* expuestos en concentraciones subletales de amonio y evaluados en diferentes tiempos de exposición. Grupo testigo = 0 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>.

mg N-NH <sub>3</sub> l <sup>-1</sup>	Tiempo de exposición, d	Actividad, pulsos min <sup>-1</sup>		Actividad, cms min <sup>-1</sup>	
		Día	Noche	Día	Noche
0	1	1.05 ± 0.095 <sup>a</sup>	2.68 ± 0.173 <sup>b</sup>	28.2 ± 2.6	72.1 ± 37.4
	15	1.96 ± 0.19 <sup>a</sup>	3.93 ± 0.39 <sup>b</sup>	52.7 ± 5.1	105.7 ± 69.7
0.2	1	0.79 ± 0.19 <sup>a</sup>	3.02 ± 0.38 <sup>b</sup>	21.3 ± 5.1	81.2 ± 79.1
	15	1.06 ± 0.11 <sup>a</sup>	2.19 ± 0.19 <sup>b</sup>	28.5 ± 3.0	58.9 ± 68.6
0.4	1	0.41 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.03 ± 0.10 <sup>b</sup>	11.0 ± 2.4	27.7 ± 34.7
	15	0.72 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.31 ± 0.16 <sup>b</sup>	19.4 ± 2.2	35.2 ± 24.2
0.7	1	0.34 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.52 ± 0.11 <sup>a</sup>	9.10 ± 1.6	14.0 ± 13.2
	15	0.19 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.08 <sup>a</sup>	5.11 ± 1.6	8.30 ± 10.8

Letras diferentes en cada fila (por tiempo de exposición) denotan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

En cada tiempo de exposición, tanto la actividad nocturna como la diurna se redujeron significativamente ( $P < 0.05$ ) al aumentar la concentración de amonio en el medio siendo la actividad nocturna de los camarones la que presentó las mayores modificaciones por la exposición al amonio. Al primer día de exposición a 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> la actividad diurna de los organismos se redujo 25, 61 y 68% respectivamente en relación al grupo testigo ( $P < 0.05$ ). En el periodo nocturno la actividad de los camarones expuestos a 0.2 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> fue similar al grupo testigo ( $P > 0.05$ ); sin embargo la exposición a 0.4 y 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> redujo la actividad de los camarones 63 y 81% respecto al grupo testigo ( $P < 0.05$ ) (Tabla 1; Figura 3).

Al aumentar el tiempo de exposición al amonio a 15 días, se observó una mayor alteración en la actividad locomotora que al primer día de exposición ( $P < 0.05$ ). En los organismos expuestos a 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> la actividad diurna disminuyó 46, 63 y 90% respectivamente en relación al grupo testigo ( $P < 0.05$ ) mientras que la actividad nocturna se redujo 44, 67 y 92% respectivamente en relación al grupo testigo ( $P < 0.05$ ) (Tabla 1; Figura 3).

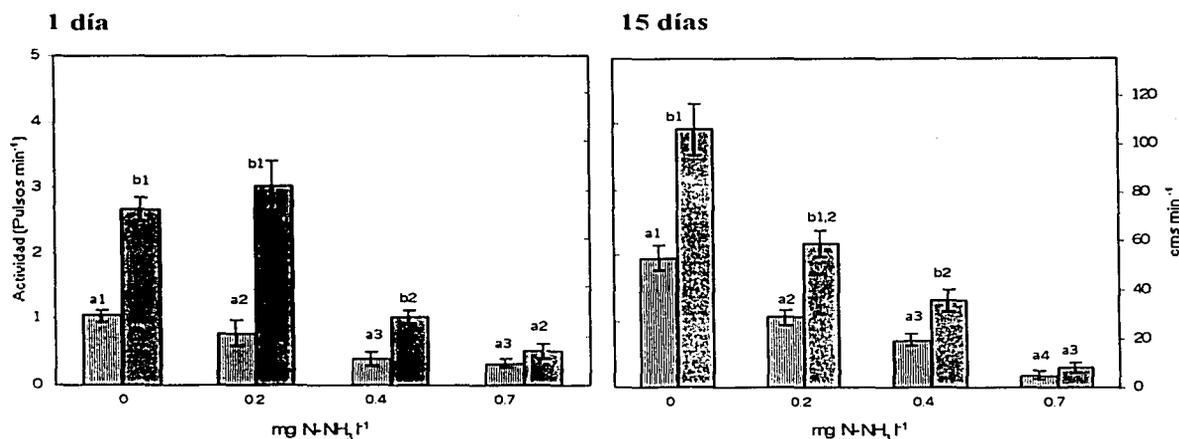


Fig. 3. Actividad locomotora (pulsos min<sup>-1</sup>; cms min<sup>-1</sup>;  $\bar{x} \pm ES$ ) en el periodo diurno (▨) y nocturno (■) de juveniles de *L. setiferus* expuestos en 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> durante 1 y 15 días y evaluados en 17 ups. Grupo testigo = 0 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>.

Letras diferentes denotan diferencias dia-noche ( $P < 0.05$ ).

Números diferentes tanto el periodo diurno como nocturno, denotan diferencias entre las concentraciones subletales de amonio. ( $P < 0.05$ ).

### 3.2. Consumo de oxígeno y actividad locomotora

Las ecuaciones de las regresiones lineales que relacionan la actividad locomotora y el consumo de oxígeno de los juveniles de *L. setiferus* se presentan en la figura 4 y en la tabla 2. Los resultados obtenidos denotan que las relaciones obtenidas no son significativas ( $P > 0.05$ ), con coeficientes de correlación ( $R^2$ ) muy bajos, reflejo a la vez de la elevada dispersión de los datos. No obstante, se observan tendencias que son importantes resaltar (Tabla 2; Fig. 4).

Tabla 2. Ecuaciones de la regresión lineal  $VO_2 = m(Ac) + b$ , que describen la relación entre la actividad (Ac; pulsos  $min^{-1}$ ) y el consumo de oxígeno ( $VO_2$ ;  $mg O_2 h^{-1} org^{-1}$ ) de juveniles de *Litopenaeus setiferus* expuestos en concentraciones subletales de amonio y evaluados en 1 y 15 días de exposición. (Grupo testigo = 0  $mg N-NH_3 l^{-1}$ ). Se incluye el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) y la significatividad de la relación (P).

1 día

mg N-NH <sub>3</sub> l <sup>-1</sup>	Tiempo. d	VO <sub>2</sub> = m (Ac)+b	R <sup>2</sup>	P
0	1	0.069 (Ac) + 0.477	0.214	0.644
0.2	1	0.217 (Ac) + 0.228	0.310	0.499
0.4	1	-0.217 (Ac) + 0.538	0.702	0.078
0.7	1	-0.290 (Ac) + 0.512	0.277	0.547

15 días

mg N-NH <sub>3</sub> l <sup>-1</sup>	Tiempo. d	VO <sub>2</sub> = m (Ac)+b	R <sup>2</sup>	P
0	15	0.010 (Ac) + 0.548	0.071	0.880
0.2	15	0.045 (Ac) + 0.985	0.083	0.860
0.4	15	0.005 (Ac) + 1.017	0.0127	0.981
0.7	15	0.244 (Ac) + 1.209	0.409	0.362

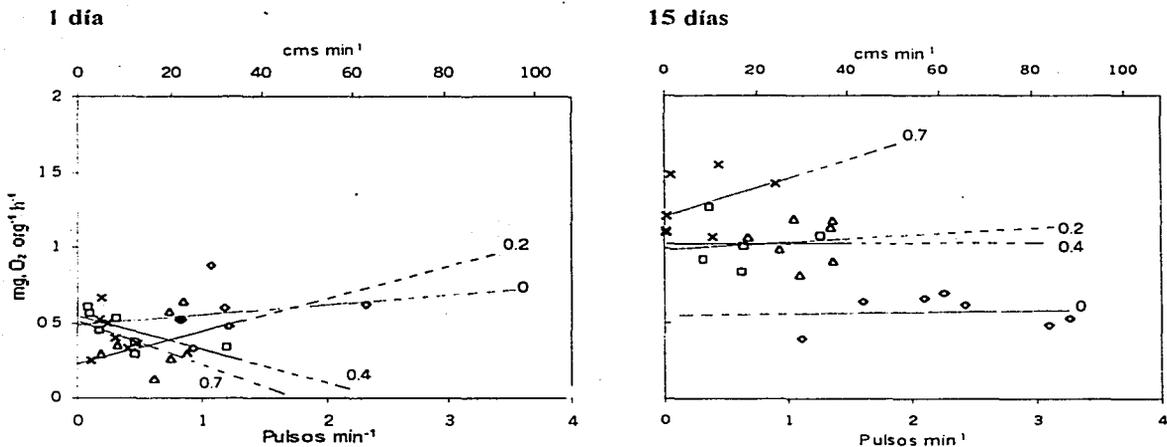


Fig. 4. Relación de la actividad locomotora (pulsos  $min^{-1}$ ;  $cms min^{-1}$ ) y el consumo de oxígeno ( $mg O_2 org^{-1} h^{-1}$ ) en juveniles de *L. setiferus*, expuestos en 0.2 ( $\Delta$ ), 0.4 ( $\square$ ) y 0.7 ( $\times$ )  $mg N-NH_3 l^{-1}$  durante 1 y 15 días y evaluados en 17 ups. Grupo testigo = 0  $mg N-NH_3 l^{-1}$  ( $\diamond$ ).

A lo largo del bioensayo (1 y 15 días) la actividad locomotora espontánea de los camarones del grupo testigo osciló entre 0.1 y 3.3 pulsos  $min^{-1}$  equivalentes a valores de 2.7 a 88.8  $cms min^{-1}$ , intervalo en el cual la tasa promedio del metabolismo de rutina permaneció constante de 0.4 a 0.5  $mg O_2 h^{-1} org^{-1}$ .

Al primer día de exposición se observan tasas metabólicas similares en todas las concentraciones de amoniaco; sin embargo la actividad locomotora tiende a disminuir conforme aumenta el amoniaco externo hasta registros de, por ejemplo,  $0.117 \text{ pulsos min}^{-1}$  ( $3.1 \text{ cms min}^{-1}$ ) en  $0.7 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$ . A los 15 días de exposición se observa un comportamiento aparentemente similar al 1º día, donde al aumentar la concentración de amonio hay una disminución evidente de la actividad locomotora; no obstante se observa un aumento del consumo de oxígeno conforme aumenta el amonio externo hasta valores cercanos a  $1.5 \text{ mg O}_2 \text{ org}^{-1}$  en  $0.7 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$  (Tabla 2; Fig. 4).

### 3.3. Costo energético y actividad locomotora

En los camarones del grupo testigo en el 1º día del bioensayo el costo energético promedio por unidad de actividad fue de  $1.69 \text{ cal. h}^{-1} \text{ ua}^{-1}$ , el cual aumentó gradualmente conforme se incrementaron las concentraciones subletales de amonio. Si bien la exposición a  $0.2$  y  $0.4 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$  incrementó el gasto energético promedio respecto al grupo testigo en  $1.4$  y  $2.3$  veces respectivamente, las diferencias no fueron significativas ( $P > 0.05$ ). Lo anterior es producto de la amplia dispersión de los resultados obtenidos. No obstante, el costo energético por unidad de actividad en los camarones expuestos en  $0.7 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$  fue  $3.7$  veces mayor que el grupo testigo ( $P < 0.05$ ) (Tabla 3; Fig. 5).

El aumento en el gasto energético por unidad de actividad conforme se incrementó la concentración externa de amonio, se volvió a presentar a los 15 días de exposición al tóxico. El grupo testigo presentó un valor promedio de  $0.92 \text{ cal h}^{-1} \text{ ua}^{-1}$ ,  $46\%$  menor al observado el 1º día ( $P < 0.05$ ). En los camarones expuestos a  $0.2$ ,  $0.4$  y  $0.7 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$  la energía invertida por unidad de actividad se incrementó  $3.5$ ,  $7$  y  $125.26$  veces respecto al grupo testigo. Dada la dispersión de los valores no se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos expuestos al amonio ( $P > 0.05$ ) pero sí difirió el grupo testigo con los expuestos en  $0.4 \text{ mg N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$  ( $P < 0.05$ ) (Tabla 3; Figura 5).

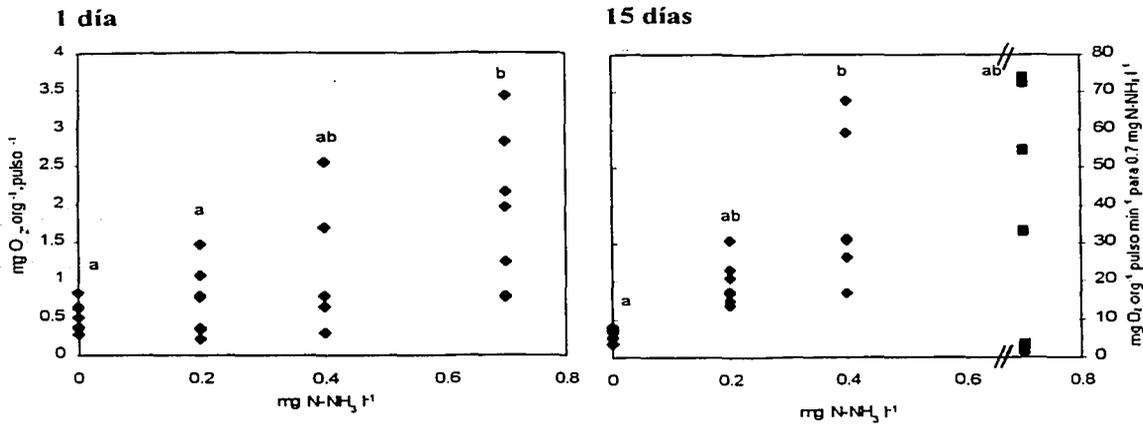


Fig. 5. Consumo de oxígeno (mg O<sub>2</sub> · h<sup>-1</sup> · ua<sup>-1</sup>) por unidad de actividad (pulsos min<sup>-1</sup>) en juveniles de *Litopenaeus setiferus*, expuestos a 0.2, 0.4 y 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> durante 1 y 15 días en 17 ups. Letras diferentes denotan diferencias entre las concentraciones subletales de amonio ( $P < 0.05$ ). Nota: La escala del segundo eje y de la gráfica 15 días de exposición, corresponde a la concentración de 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>.

Tabla 3. Consumo de oxígeno (mg O<sub>2</sub> · h<sup>-1</sup> · ua<sup>-1</sup>) y costo energético (cal h<sup>-1</sup> · ua<sup>-1</sup>) por unidad de actividad (ua: pulsos min<sup>-1</sup>) en juveniles de *L. setiferus* expuestos a concentraciones subletales de amonio y evaluados en diferentes tiempos de exposición 1 y 15 días. Grupo testigo = 0 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup>). Se señalan valores promedio ( $\bar{x} \pm ES$ ).

1 día			
mg N-NH <sub>3</sub> l <sup>-1</sup>	Tiempo. d	mg O <sub>2</sub> · h <sup>-1</sup> · ua <sup>-1</sup>	cal. h <sup>-1</sup> · ua <sup>-1</sup>
0	1	0.51 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.69 ± 0.26 <sup>a</sup>
0.2	1	0.70 ± 0.17 <sup>a</sup>	2.34 ± 0.56 <sup>a</sup>
0.4	1	1.18 ± 0.41 <sup>ab</sup>	3.92 ± 1.36 <sup>ab</sup>
0.7	1	1.87 ± 0.38 <sup>b</sup>	6.20 ± 1.26 <sup>b</sup>

15 días			
mg N-NH <sub>3</sub> l <sup>-1</sup>	Tiempo. d	mg O <sub>2</sub> · h <sup>-1</sup> · ua <sup>-1</sup>	cal O <sub>2</sub> · h <sup>-1</sup> · ua <sup>-1</sup>
0	15	0.28 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.11 <sup>a</sup>
0.2	15	0.98 ± 0.11 <sup>ab</sup>	3.25 ± 0.36 <sup>ab</sup>
0.4	15	1.93 ± 0.40 <sup>b</sup>	6.42 ± 1.33 <sup>b</sup>
0.7	15	34.57 ± 12.40 <sup>ab</sup>	114.78 ± 41.16 <sup>b</sup>

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

#### 4. DISCUSION

En el presente estudio, los juveniles de *Litopenaeus setiferus* presentaron una ritmicidad diaria locomotora desplegando una mayor actividad en la noche que en el día ( $P < 0.05$ ), comportamiento observado tanto en el grupo testigo como en los expuestos a las concentraciones subletales de amonio. Este patrón de mayor actividad nocturna que diurna puede relacionarse con los hábitos nocturnos de los juveniles de la especie en su medio natural, los cuales realizan sus actividades de alimentación y migración principalmente en la noche (Rosas *et al.*, 1992a); así mismo, representan una estrategia para evitar depredadores nocturnos y para disminuir la competencia interespecífica por los recursos alimentarios con otras especies de crustáceos que se encuentran en el mismo hábitat, como ha sido sugerido por Rosas *et al.* (1992b) y Bojsen *et al.* (1998).

Resultados similares de una mayor actividad locomotora nocturna que diurna han sido reportados ampliamente en la literatura en los cangrejos intermareales *Helice crassa* (Palmer y Williams, 1986a), *Macrophthalmus hirtipis* (Palmer y Williams, 1986b) y *Carcinus maenas* (Bolt y Naylor, 1986; Aagaard *et al.*, 1995; Aagaard, 1996); en el camarón *Penaeus duorarum* (Subrahmanyam, 1976) y en los crustáceos dulceacuícolas *Astacus astacus* (Bojsen *et al.*, 1998), *Pseudothelphusa americana* (Ramírez, 2002) en *Procambarus clarki* (Fernández de Miguel y Aréchiga, 1994) y en *Orchestoidea tuberculata* (Kennedy *et al.*, 2000). En particular, los crustáceos marinos, estuarinos e intermareales presentan un comportamiento bimodal de la actividad la cual sincroniza con los ciclos mareales, con los ciclos de luz diurnos o con ambos y en los que se ha descrito el ritmo circadiano y circamareal de la actividad locomotora (Subrahmanyam, 1976; Palmer y Williams, 1986b; Aagaard, 1996).

En los juveniles de *L. setiferus*, el ritmo diario de actividad fue sincronizado exclusivamente por el ciclo diario de luz ya que el estudio se efectuó en organismos mantenidos en condiciones de laboratorio aproximadamente durante 30 días, periodo en el cual el estímulo mareal exógeno no existe. La pérdida del ritmo mareal de la actividad en organismos mantenidos en condiciones de laboratorio y por ausencia del estímulo de las mareas ha sido documentado en *P. duorarum* (Subrahmanyam, 1976) y en *Carcinus maenas* (Naylor, 1960; Bolt y Naylor, 1985).

De manera general, la exposición subletal al amonio no alteró el ritmo diario de la actividad locomotora de los camarones, manteniéndose una mayor actividad nocturna que diurna, de manera similar al observado en los grupos testigo. No obstante, importantes modificaciones en la actividad locomotora se observaron a medida que se incrementó tanto el tiempo de exposición como la concentración del compuesto en el medio, incluyendo desplazamientos en el comportamiento nocturno de la actividad y la disminución en la actividad tanto diurna como nocturna de los camarones, con reducciones hasta del 90 al 92% en los organismos expuestos 15 días a la más alta concentración del tóxico.

La reducción de la actividad locomotora de los juveniles de *L. setiferus* puede ser consecuencia de tres posibles mecanismos, los cuales son abordados subsecuentemente en el presente estudio: La reducción de la actividad locomotora por el probable efecto neurotóxico del amonio; la reducción de la actividad como un mecanismo compensatorio para limitar la acumulación corporal del amonio y por lo tanto disminuir su efecto tóxico y, la reducción de la actividad como un mecanismo de ahorro energético.

Es conocido que los actos del comportamiento y por lo tanto de la actividad, son generados por las respuestas motoras del sistema nervioso que controla la contracción de los músculos (Randall, 1997) En peces, la acción neurotóxica del amonio ocasiona interferencias en la función normal del sistema nervioso central (Russo, 1984; Jobling, 1994) ocasionando alteraciones en diversas respuestas conductuales. En la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Shingles *et al.*, 2001) y en la carpa *Cyprinus carpio* (Israeli-Wenstein y Kimmel, 1998) la exposición al amonio reduce significativamente la actividad de nado; en la carpa se observó a su vez la compactación del cardúmen e indiferencia por el alimento. De manera similar, es posible suponer un efecto neurotóxico del amonio en los camarones como responsable de las modificaciones en la actividad, alterando tanto el ritmo como la intensidad de la actividad locomotora de los juveniles de *L. setiferus*.

Cabe señalar que en los camarones expuestos a las mayores concentraciones de amonio se observó también una disminución en la búsqueda e ingestión del alimento, si bien no se efectuó

una cuantificación de éste. Estos resultados reafirman a su vez la reducción general de la actividad física inducida por el amonio. Resultados similares han sido reportados en otros estudios, donde la disminución en la actividad de nado de postlarvas de *Penaeus vannamei* (Molina, 1998) y en postlarvas y juveniles de *L. setiferus* (Alcaraz, 1997; Robles, 2001) expuestos en niveles subletales de amonio, se refleja en el incremento del alimento remanente, no consumido.

En los crustáceos se ha planteado que al menos 2 órganos son responsables del mantenimiento de los ritmos circadianos: el pedúnculo óptico y el ganglio supraesofágico; el primero incorpora el sistema glándula sinusal-órgano X que contiene la hormona neurodepresora (NDH), factor inhibitorio de la actividad, la cual disminuye la respuesta sensorial y motora de las neuronas y el disparo espontáneo de las motoneuronas (Aréchiga *et al.*, 1992). Es probable que estos órganos sean sitios blanco del efecto tóxico del amonio y que por lo tanto la alteración de la actividad de los juveniles de *L. setiferus* por efecto del amonio, sea resultado de su acción tóxica en los componentes endógenos que controlan este ritmo biológico a nivel neuroendócrino. No obstante se requiere profundizar en los mecanismos de la acción neurotóxica del amonio los cuales no se han establecido.

Por otro lado, estudios efectuados en peces relacionan la reducción en la actividad de nado con la acumulación del amonio a nivel muscular. Beaumont *et al.* (1995) y Shingles *et al.* (2001), encontraron que durante el ejercicio los niveles de amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) pueden acumularse en el tejido muscular por arriba de concentraciones que interfieren la función del músculo. Esta acumulación dentro de las células musculares ocasiona una elevación del pH (Ross y Boron, 1981) que despolariza al músculo impidiendo el reclutamiento y la contribución de esas fibras al nado (Coon *et al.*, 1990; Shingles *et al.*, 2001). Otra forma de inhibición de la actividad muscular es mencionada por Binstock y Lecar (1969) en calamares, donde el ión amonio es capaz de sustituir al  $\text{K}^+$  en mecanismos de intercambio iónico lo cual ocasiona una despolarización en las neuronas.

Sin embargo, en estudios previos en juveniles de *L. setiferus* expuestos 1 y 21 días a las mismas concentraciones subletales de amonio empleadas en este estudio, no se observó su acumulación en el tejido muscular a lo largo del periodo de exposición (Robles, 2001). De tal manera las alteraciones observadas en la actividad locomotora en los juveniles de *L. setiferus*, no se relacionan con la acumulación del amonio a nivel muscular lo cual sugiere nuevamente su probable efecto neurotóxico. La acción neurotóxica del amonio sobre la ritmicidad diaria del consumo de oxígeno ha sido sugerido en juveniles de *L. setiferus*, donde el patrón bimodal de la tasa respiratoria normal es modificado a uno unimodal, por la exposición de 1 y 21 días a 0.4 y 0.7 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> (Robles, 2001).

Las primeras reacciones de la exposición al amonio en peces son la hiperventilación y la hiperexcitabilidad las cuales a su vez se reflejan en el incremento del consumo de oxígeno de los organismos (Smart, 1981). En peneidos se desconoce el efecto del amonio sobre las tasas cardíacas y ventilatorias y es limitado su conocimiento en los crustáceos en general. En el langostino *Nephtrops norvegicus* las tasas cardíacas y ventilatorias se incrementan significativamente a partir de la exposición de 3 h a niveles extremos de amonio de 40.8 mg l<sup>-1</sup> (2400 μmol l<sup>-1</sup> amonio total; AT) mientras que la acumulación de amonio en hemolinfa se presenta desde concentraciones externas de 8.5 mg l<sup>-1</sup> (500 μmol l<sup>-1</sup>AT); así, la acumulación corporal de amonio en *N. norvegicus* ocurre de manera independiente a los cambios en las tasas ventilatorias y cardíacas (Schmitt y Uglow, 1997).

En estudios previos, las alteraciones fisiológicas observadas en los juveniles de *L. setiferus* (regulación iónica, consumo de oxígeno y excreción nitrogenada) expuestos 1 y 21 días a concentraciones subletales similares a las utilizadas en el presente estudio, se relacionaron con la acumulación corporal del amonio; la acumulación del amonio en la hemolinfa de los camarones se observó a las 24 h y 15 días por la exposición de 0.7 y 0.2 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> respectivamente, mientras que la acumulación del amonio en branquias y hepatopáncreas se observó a partir de 0.2 mg N-NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup> desde el primer día de exposición (Robles, 2001). En el presente estudio, la actividad locomotora en los juveniles de *L. setiferus*, se redujo al aumentar tanto el tiempo de exposición como la concentración externa de amonio. De tal manera es posible inferir que la

reducción en la actividad locomotora de los camarones no representa una estrategia para reducir la acumulación corporal del amonio en éstos y reafirma el probable carácter neurotóxico del amonio en los juveniles de *L. setiferus*.

El consumo de oxígeno ha sido utilizado como un indicador metabólico indirecto de la actividad locomotora y/o de nado de los organismos acuáticos (Jobling, 1994, Prosser, 1990). En los juveniles de *L. setiferus*, el consumo de oxígeno se evaluó solo durante el periodo diurno, partiendo de resultados previos en los cuales la mayor alteración en la tasa respiratoria por la exposición al amonio, se observa en el periodo diurno (Robles, 2001). El consumo de oxígeno en el periodo diurno se relaciona con el requerimiento energético para funciones metabólicas de rutina asociadas con la menor actividad de nado (Subrahmanyam, 1976). De tal manera, es en la fase diurna donde se puede visualizar los efectos de la exposición al amonio, evitando o reduciendo algún enmascaramiento debido a la mayor actividad de nado nocturna de los camarones. No obstante, a pesar de no haberse evaluado la tasa metabólica nocturna en los juveniles de *L. setiferus* es posible inferir un incremento en el consumo de oxígeno relacionado con la mayor actividad locomotora nocturna observada en los camarones. Al respecto Rosas *et al* (1992b) y Robles (2001), reportan en *L. setiferus* un mayor consumo de oxígeno durante la noche, comportamiento similar al descrito para *Penaeus aztecus* (Díaz *et al.*, 1989), donde la mayor tasa metabólica se observó entre las 21:00 y 3:00 h; es en este periodo en el cual se presentó en el presente estudio la mayor actividad locomotora de los juveniles de *L. setiferus* la cual podría asociarse con un incremento en el consumo de oxígeno de los camarones.

La relación directa entre la actividad locomotora y/o de nado y el consumo de oxígeno, ha sido documentado en juveniles del camarón rosado *P. duorarum* (Subrahmanyam 1976), en el anfípodo *Corophium volutator* (Harris y Morgan, 1984) y en el cangrejo *Carcinus maenas* (Wallace, 1972). No obstante, Subrahmanyam (1976), señala que en *P. duorarum* la tasa metabólica tiende a un máximo independientemente del incremento en la actividad de los organismos lo cual sugiere una adaptación metabólica que limita la demanda de oxígeno en periodos de intensa actividad, comportamiento bajo probable control endógeno. En peces, también la relación directamente proporcional entre la actividad de nado y la tasa respiratoria ha

sido reportada en *Carassius auratus* (Spoor, 1946). Así mismo la relación directa entre la actividad locomotora y la tasa cardiaca ha sido obtenida en el cangrejo intermareal *Carcinus maenas* (Aagaard *et al.*, 1995) y en el crustáceo dulceacuícola *Astacus astacus* (Bojsen *et al.*, 1998), al igual que la relación directa entre la actividad y la tasa ventilatoria en *Carcinus maenas* (Arudpragasam y Naylor, 1964; Taylor, 1977) y en *Crangon crangon* (Dyer y Uglow, 1977). De acuerdo a los autores, el aumento en las tasas respiratorias, circulatorias y ventilatorias observadas, obedece al incremento en las demandas metabólicas de la actividad locomotora y/o de nado de los organismos.

El hecho de que en los juveniles de *L. setiferus* no se haya obtenido una relación directa entre la actividad locomotora y el consumo de oxígeno sugiere que la tasa metabólica no es un indicador adecuado para valorar la acción tóxica del amonio en el periodo diurno, de actividad espontánea de los camarones. El comportamiento obtenido puede obedecer a que se estableció la relación con los valores obtenidos solo durante el periodo diurno, de menor actividad, y a la gran dispersión de los datos lo cual impidió obtener una relación evidente. Sin embargo, se observaron tendencias importantes de resaltar.

Por un lado, en los camarones del grupo testigo la actividad locomotora espontánea diurna durante el transcurso de los bioensayos osciló de 0.1 a 0.33 pulsos  $\text{min}^{-1}$ , correspondientes a un recorrido de 2.7 a 88.8  $\text{cms min}^{-1}$ ; independientemente del incremento de 33 veces en la actividad de los camarones, la tasa respiratoria promedio permaneció constante de 0.4 a 0.5  $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ org}^{-1}$ . Estos resultados sugieren que en este intervalo de actividad, no hay una inversión metabólica significativa en el movimiento de los camarones y a la vez permite establecer que el metabolismo de rutina no es modificado significativamente por la actividad espontánea de los organismos y por lo tanto esta actividad no representa un costo energético evidente.

Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Subrahmayam, (1976) en juveniles de *Penaeus duorarum* (1.68 g PH) donde a pesar de reportarse una relación directa entre la actividad de los camarones (registros  $\text{min}^{-1}$ ) y el consumo de oxígeno, incrementos de 210 veces en la actividad locomotora de los camarones (0 a 210 registros  $\text{min}^{-1}$ ) representan un incremento de

sólo 1.8 veces en la tasa metabólica ( $0.49$  a  $0.86 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ org}^{-1}$ ). De igual manera en la trucha *Salvelinus fontinalis*, el costo de nado sostenido libre, espontáneo, no representa una inversión energética importante, en contraste con los movimientos activos de la aceleración y los giros, cuyos costos son significativos (Krohn y Boisclair, 1994).

Por otro lado, a diferencia de lo observado en los camarones expuestos 1 día al amonio, a los 15 días de exposición la disminución en la actividad de nado se asocia con un aumento en el consumo de oxígeno a medida que se incrementa el nivel de amonio externo. Esto es, hay un aparente aumento en la energía metabólica asociada con la reducción en la actividad al aumentar el tiempo y la concentración externa de amonio. De acuerdo a Israeli-Wenstein y Kimmel (1998), la disminución de la actividad de nado en la carpa *Cyprinus carpio* expuesta al amonio puede interpretarse como una respuesta de agotamiento de los organismos y un ahorro en la energía necesaria para superar la condición estresante, siendo una estrategia compensatoria. En contraste en los juveniles de *L. setiferus* la reducción en la actividad de nado no se relaciona con una estrategia de ahorro energético a la acción tóxica del amonio.

El efecto significativo del amonio en la demanda energética de la actividad de los camarones se observó al calcular el costo energético por unidad de actividad de los organismos ( $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ ua}^{-1}$ ) durante el curso de intoxicación al amonio, donde los resultados sugieren una mayor inversión energética para realizar la misma actividad a medida que se incrementa el tiempo y el nivel de exposición al amonio. No obstante, el aumento en el costo metabólico por unidad de actividad de los camarones al incrementar la concentración externa de amonio, (1<sup>o</sup> y 15<sup>o</sup> día de exposición) puede ser consecuencia de la acción tóxica del amonio en los centros de control neuroendócrino de la actividad, así como a los efectos adversos globales en el desempeño de los organismos. De tal manera el aumento en la energía metabólica por unidad de actividad podría enmascarar a la vez, el incremento en las demandas energéticas para procesos de compensación y desintoxicación al amonio.

El incremento en la energía metabólica ocasionado por la exposición subletal al amonio ha sido documentado en estudios previos en juveniles de *L. setiferus* (Robles, 2001) así como en

juveniles de *Penaeus chinensis* (Chen *et al.*, 1991; Chen y Lin, 1992; Chen y Nan, 1993), en juveniles de *Penaeus japonicus* (Chen y Lai, 1992) y en juveniles de *Penaeus vannamei* (Racotta y Hernández-Herrera, 2000). De acuerdo a los autores el aumento en la tasa metabólica es reflejo de los costos energéticos de los mecanismos de compensación y desintoxicación para contrarrestar la acción tóxica del amonio.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio el aumento en el costo metabólico de la actividad de los juveniles de *L. setiferus* aunado a la disminución en la incorporación del alimento al aumentar el tiempo y la concentración externa de amonio, limita la energía disponible de los organismos para desplegar mecanismos eficientes de compensación y desintoxicación lo cual en ultima instancia compromete su desarrollo y sobrevivencia. A la vez el aumento en la demanda energética por unidad de actividad relacionada con la disminución locomotora de los camarones, sugiere que en los sistemas de cultivo, en los cuales son comunes las concentraciones de amonio evaluadas (Franco, 1998), los organismos pueden ser presa fácil de sus depredadores (cangrejos, peces y aves) al reducirse sus respuestas de escape aunado a la limitación en la competencia por la adquisición del alimento, aspectos adversos en la producción del recurso.

## 5. CONCLUSIONES

1. Los juveniles de *L. setiferus* presentan un ritmo diario de actividad locomotora con una mayor actividad de nado durante la noche.
2. El amonio no altera el ritmo diario de la actividad locomotora de los camarones; sin embargo ocasiona alteraciones en la expresión de la actividad de nado a medida que se incrementa el tiempo y la concentración de exposición como el desplazamiento de las horas de máxima actividad y severas reducciones en la actividad locomotora. Tales alteraciones son de mayor magnitud en el periodo nocturno.
3. La reducción en la actividad de los camarones sugiere el efecto neurotóxico del amonio y no obedece a un mecanismo de ahorro energético o a procesos compensatorios para reducir la acumulación corporal de amonio.
4. La tasa respiratoria no es un indicador adecuado para valorar la acción tóxica del amonio sobre la actividad de nado de los camarones.
5. Se presenta una relación evidente en el costo metabólico por unidad de actividad, sugiriendo una mayor inversión energética en los organismos para realizar la misma actividad locomotora al aumentar el tiempo de exposición y la concentración externa de amonio.
6. Los resultados obtenidos sugieren que la alteración locomotora en los camarones por la exposición al amonio aunada a la disminución en la incorporación de alimento puede repercutir adversamente en los juveniles y comprometer su sobrevivencia.

## 6. RECOMENDACIONES

- En futuros trabajos relacionados con este tema, se sugiere la evaluación del consumo de oxígeno de los organismos en horas nocturnas y diurnas, para de este modo, realizar las comparaciones pertinentes con el periodo de la mayor actividad locomotora de los camarones.
- Información adicional se obtendría al cuantificar la cantidad de ácido láctico a nivel muscular en los organismos, ya que se ha reportado que bajo una intensa actividad de nado, éstos pueden utilizar la ruta del metabolismo anaerobio.
- Se recomienda aumentar el número de organismos evaluados en cada condición experimental a fin de reducir la dispersión obtenida en los resultados.
- Finalmente se sugiere abordar estudios encaminados a discernir el efecto neurotóxico del amonio en los camarones peneidos así como su probable efecto estresante sobre el ritmo circadiano de la actividad locomotora y la tasa metabólica de los organismos.

## 7. LITERATURA CITADA

- Aagaard A. 1996. In situ variation in heart rate of the shore crab *Carcinus maenas* in relation to environmental factors and physiological condition. *Mar. Biol.* 125: 765-772.
- Aagaard A., C. G. Warman, M. H. Depledge and E. Naylor. 1995. Dissociation of heart rate and locomotor activity during the expression of rhythmic behaviour in the shore crab *Carcinus maenas*. *Mar. Fresh. Behav. Physiol.* 26: 1-10.
- Alcaraz G., V. Espinoza, C. Vanegas and X. C. Carrara. 1999. Acute effect of ammonia and nitrite on respiration of *Penaeus setiferus* postlarvae under different oxygen levels. *J. World. Aquac. Soc.* 30 (1): 98-106.
- Alcaraz G., X. C. Carrara and C. Vanegas. 1997. Temperature tolerance of *Penaeus setiferus* postlarvae exposed to ammonia and nitrite. *Aquat. Toxic.* 39: 345-353.
- Aréchiga H. and C. A. G. Wiersma. 1969. Circadian rhythm of responsiveness in crayfish visual units. *J. Neurobiol.* 1: 71-85.
- Aréchiga H., F. Fernández-Quiróz, F. Fernández de Miguel and L. Rodríguez-Sosa. 1992. The circadian system of crustaceans. *Cronobiology International*, 9 (6): 1-16.
- Arudpragasam K. D. and E. Naylor. 1964. Gill ventilation volumes, oxygen consumption and respiratory rhythms in *Carcinus maenas* (L.). *J. Exp. Biol.* 41: 309-321.
- Beaumont M.W., P. J. Butler and E. W. Taylor. 1995. Plasma ammonia concentration in brown trout in soft acidic water and its relationship to decreased swimming performance. *J. Exp. Biol.* 198: 2213-2220.
- Binstock L. and H. Lecar. 1969. Ammonium ion currents in the squid giant axon. *J. Gen. Physiol.* 53: 342-361.
- Bojsen B. H., H. Witthoff, B. Styrihave and O. Andersen. 1998. In situ studies on heart rate and locomotor activity in the freshwater crayfish, *Astacus astacus* (L.) in relation to natural fluctuations in temperature and light intensity. *Freshwat. Biol.* 39: 455-465.
- Bolt S. R.L. and E. Naylor. 1985. Interaction of endogenous and exogenous factors controlling locomotor activity rhythms in *Carcinus* exposed to tidal salinity cycles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 85: 47-56.
- Bolt S. R.L. and E. Naylor. 1986. Entrainability by salinity cycles of rhythmic locomotor activity in normal and eyestalk ablated *Carcinus maenas* (L.). *Mar. Behav. Physiol.* 12: 257-267.
- Bower C. E. and J. P. Bidwell. 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish Res. Board Can.*, 35: 1012-1016.
- Chen J. C. and C. T. Chen. 1996. Changes of osmotic and electrolyte concentration in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.* 114 (1): 35-38.
- Chen J. C. and S. H. Lai. 1992. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus japonicus* adolescents exposed to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 102(1): 129-133.

- Chen J. C. and C. Y. Lin. 1992. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* juveniles exposed to ambient ammonia at different salinity levels. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 102 (2): 287-291.
- Chen J.C. and J. N. Lin. 1991. Lethal doses of ammonia on *Penaeus chinensis* larvae. *Bull. Inst. Zool. Acad. Sin.* 30 (4): 289-297.
- Chen J. C., F. H. Nan and C. M. Kuo. 1991. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of Prawns (*Penaeus chinensis*) exposed to ambient ammonia. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21: 377-382.
- Chen J. C., T. S. Chin and C. K. Lee. 1986. Effects of Ammonia and Nitrite on Larval Development of the Shrimp *Penaeus monodon*, p 657-662. In J. L. Maclean; L. B. Dizon and L. V. Hosillos (eds) The First Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Chen J.C. and F. H. Nan. 1993. Effects of ammonia on oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* after prolonged exposure to ammonia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 122-129.
- Cech J. J. 1990. Respirometry, p 335-362. In: Schreck, C. B. y P. B. Moyle (Eds) Methods for Fish Biology. Am. Fish. Soc. USA.
- Coon S. L., M. Walch, W. K. Fitt, R. M. Weiner and D. B. Bonar. 1990. Ammonia induces settlement behavior in oyster larvae. *Biol. Bull.* 179: 297-303.
- Díaz F., S. Espina, C. Rosas, A. Sánchez, C. Vanegas y E. D. Iglesia. 1989. Ritmo respiratorio y amplitud metabólica del camarón café *Penaeus aztecus* (Tamiagua, México) con ablación de los pedúnculos oculares. *Rev. Invest. Mar.* X (1): 27-39.
- Dyer M. F. and R. F. Uglow. 1977. On a technique for monitoring heart and scaphognathite activity in natantia. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 27: 117-124.
- Elliott J.M., and W. Davison. 1975. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. *Oecologia (Berl.)* 19: 195-201.
- Evans D. O. 1990. Metabolic thermal compensation by rainbow trout. Effects on standard metabolic rate and potential usable power. *Trans. Am. Fish. Soc.* 119: 585-600.
- Fernández de Miguel F. and H. Aréchiga. 1994. Circadian locomotor activity and its entrainment by food in the crayfish *Procambarus clarkii*. *J. Exp. Biol.* 190: 9-21.
- Fanjul-Moles M. L., T. Bosques-Tistler, J. Prieto-Sagredo, O. Castañón-Cervantes and L. Fernández-Rivera-Río. 1998. Effect of variation in photoperiod and light intensity on oxygen consumption, lactate concentration and behavior in crayfish *Procambarus clarkii* and *Procambarus digueti*. *Comp. Biochem. Physiol.* 119A (1): 263-269.
- Fingerman M. 1955. Factors influencing the rate of oxygen consumption of the dwarf crawfish *Cambarellus shufeldtii*. *Tulane Stud. Zool.* 3: 103-116.
- Franco N. 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 en Ciencias. CIAD, A. C. Mazatlán, México, 121 pp.

- Gracia A. 2001. Interacción entre la Utilización de Postlarvas Silvestres para Cultivo y las Pesquerías de Camarón, p 397-409 *En: Camaronicultura y Medio Ambiente*. Paez, O. F. (Ed). Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Programa Universitario de Alimentos y el Colegio de Sinaloa. México D. F.
- Harris G. J. and E. Morgan. 1984. Rhythms of locomotion and oxygen consumption in the estuarine amphipod *Corophium volutator* (Crustacea:Amphipoda). *Cronobiology International*. 1 (1): 21-25.
- Hill R. W. and G. A. Wyse. 1990. *Animal Physiology*. Harper Collins Publishers. USA: 656 pp.
- Israeli-Weinstein D and E. Kimmel. 1998. Behavioral response of carp (*Cyprinus carpio*) to ammonia stress. *Aquaculture*. 165: 81-93.
- Jobling M. 1994. *Fish Bioenergetics*. Chapman & Hall. London. G. B. 309 pp.
- Kennedy F., E. Naylor and E. Jaramillo. 2000. Ontogenetic differences in the circadian locomotor activity rhythm of the talitrid amphipod crustacean *Orchestoidea tuberculata*. *Mar. Biol.* 137: 511-517.
- Krohn M. M. and D. Boisclair. 1994. Use of a stereo-video system to estimate the energy expenditure of free-swimming fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 1119-1127.
- Lin H. P., P. Thuet, J. P. Trilles, R. Mounet-Guillaume and G. Charmantier. 1993. Effects of ammonia on survival and osmoregulation of various development stages of the shrimp *Penaeus japonicus*. *Mar. Biol.* 117: 591-598.
- Lucas A. 1996. *Bioenergetics Of Aquatic Animals* Taylor & Francis. London. 169pp.
- Marcuella y Abramson. 1978. Behavioral toxicology and teleost fish. p 37-77. *In: The Behaviour of Fish and other Aquatic Animals*. Edited by D.I. Mostofky, New York.
- Molina A. H. R. 1998. Alteraciones fisiológicas en postlarvas de *Penaeus vannamei* (Crustacea:Decapoda) por efecto del amonio. Tesis maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM, México D. F. 55 pp.
- Naylor E. 1960. Locomotory rhythms in *Carcinus maenas* (L.) from non-tidal conditions. *J. Exp. Biol.* 37: 481-488.
- Ostrensky A., and W. Wasielesky. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Sao Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *Aquaculture* 132: 339-347.
- Páez O. F. 2001. La Interacción Camaronicultura y Medio Ambiente, p 15-21 *En: Camaronicultura y Medio Ambiente*. Páez, O. F. (Ed). Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Programa Universitario de Alimentos y el Colegio de Sinaloa. México D. F.
- Palmer J.D. and B.G. Williams. 1986(a). Comparative studies of tidal rhythms I. The characterization of the activity rhythm of the Pliant-Pendulum Crab, *Helice crassa*. *Mar. Behav. Physiol.* 12: 197-207.
- Palmer J.D. and B.G. Williams. 1986(b). Comparative studies of tidal rhythms II. The dual clock control of the locomotor rhythms of two decapod crustaceans. *Mar. Behav. Physiol.* 12: 269-278.

- Porta M. A., E. Rubio, J. Cervantes and J. L. Fernández. 1996. Locomotive activity of shrimp in confinement. *Aquacult. Eng.* 15 (3): 215-224.
- Prosser L. 1990. *Environmental and metabolic animal physiology, Comparative Animal Physiology*, Fourth Edition. Wiley-liss. New York. 577 pp.
- Racotta I. S., y R. Hernández-Herrera. 2000. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 125: 437-443.
- Ramírez, L. E. Estudio del sistema circadiano que regula el ritmo de actividad locomotora en el cangrejo de río *Pseudohelofusa americana*. Tesis de Maestría Facultad de Ciencias UNAM. *En proceso*.
- Rand G. M. 1985. Behavior, p 221-263. *In: Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications*. Rand G. M. and S. R., Petrocelli (Eds) Hemisphere Publishing Corporation, USA.
- Randall D., W. Burggren and K. French. 1997. *Eckert. Animal Physiology: Mechanisms and Adaptations*. Fourth Edition. W. H. Freeman and Company. New York. 728 pp.
- Rebelo M.F., E.A. Santos and J.M. Monserrat. 1999. Ammonia exposure of *Chasmagnathus granulata* (Crustácea, Decápoda) Dana, 1851: acumulation in haemolymph and effects on osmoregulation. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 122 (4): 429-435.
- Regnault M. 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. *Biol. Rev.* 62: 1-24.
- Rios T. H. E. 2001. Efecto del amonio en la osmorregulación de juveniles de *Litopenaeus setiferus* (Crustácea, Decápoda). Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 68 pp.
- Robertson L., W. Bray, J. Leung-Trujillo and A. Lawrence. 1987. Practical molt staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris*. *J. World Aquac. Soc.* 18 (3): 180-185.
- Robles M. C. 1997. Alteraciones fisiológicas de postlarvas y juveniles del camarón blanco *Penaeus setiferus* (Crustácea: Decápoda) por efecto del amoniaco. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM. 38 pp.
- Robles M. C. 2001. Efecto subletal del amonio sobre juveniles de *Litopenaeus setiferus* (Crustácea: Decápoda). Tesis Maestría. Facultad de Ciencias UNAM. 58 pp.
- Rodier J. 1981. *Análisis de las agua*. Omega. Barcelona. 504 pp.
- Roos A. and W. F. Boron. 1981. Intracellular pH. *Physiol. Rev.* 61: 296-434.
- Rosas C., A. Sanchez, E. Escobar, L. Soto and A. Bolongaro-Crevenna. 1992(a). Daily variations of oxygen consumption and glucose hemolymph level related to morphophysiological and ecological adaptations of crustacea. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 101 (2): 323-328.
- Rosas C., A. Sanchez, L. Soto, E. Escobar and A. Bolongaro-Crevenna. 1992(b). Oxygen consumption and metabolic amplitude of decapod crustaceans from the northwest continental shelf of the gulf of México. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 101 (3): 491-496.
- Russo R. C. 1985. Ammonia, Nitrite and Nitrate., p. 455-476 *In: Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications*. Rand G. M. and S. R., Petrocelli (Eds) Hemisphere Publishing Corporation, USA.

- Sandifer P. A., J. S. Hopkins, A. D. Stokes and C. L. Browdy. 1993. Preliminary comparisons of the native *Penaeus setiferus* and pacific *P. vannamei* white shrimp for pond culture in South Carolina, USA. *J. World. Aquac. Soc.* 24 (3): 295-303.
- Schmitt A. S., R. F. Uglow. 1997. Effects of ambient ammonia levels on blood ammonia, ammonia excretion and heart and scaphognathite rates of *Nephrops norvegicus*. *Mar. Biol.* 127: 411- 418.
- Shingles A., D. J. Mckenzie, E. W. Taylor, A. Moretti, P. J. Butler and S. Ceradini. 2001. Effects of sublethal ammonia exposure on swimming performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.* 204: 2691-2698
- Smart G. 1981. Aspects of Water Quality Producing Stress in Intensive Fish Culture. 277-293 p. *In: Stress and Fish*. Pickering A. D. (Ed) Academic Press Inc. New York.
- Spoor W. A. 1946. A quantitative stud of the relationship between the activity and oxygen consumption of the goldfish, and its application to the measurement of respiratory metabolism in fishes. *Biol. Bull.* 91: 312-325.
- Styrishave B., A. D. Rasmussen and M. H. Depledge. 1995. The influence of bulk and trace metals on the circadian rhythm of heart rates in freshwater crayfish, *Astacus astacus*. *Mar. Pollut. Bull.* 31: 87-92.
- Subrahmanyam C.B. 1976. Tidal and diurnal rhythms of locomotory activity and oxygen consumption in the pink shrimp, *Penaeus duorarum*. *Contrib. Mar. Sci.* 20: 123-132.
- Taylor A. C. 1977. The respiratory responses of *Carcinus maenas* (L). to changes in environmental salinity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 29: 197-210.
- Taylor A. C. and E. Naylor. 1977. Entrainment of the locomotor rhythm of *Carcinus* by cycles of salinity change. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 57: 273-277.
- Vanegas C. 1996. Efectos subletales del cadmio y zinc en *Penaeus setiferus*. Tesis Doctorado (Doctorado en Ciencias, Biología). Facultad de Ciencias UNAM: 118 pp.
- Wallace J. C. 1972. Activity and metabolic rate in the shore crab, *Carcinus maenas* (L). *Comp. Biochem. Physiol. A.* 41: 523-533.
- Wright P. A. 1995. Nitrogen excretion: Three and products, many physiological roles. *J. Expl. Biol.* 198: 273-281.
- Young W.W., M. Charmantier and G. Charmantier. 1991. Effect of ammonia on survival and osmoregulation in different life stages of the lobster *Homarus americanus*. *Mar. Biol.* 116: 293-300.
- Zar J. 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall. N. Y. 663 pp.