

00366

10



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



U N A M

**EFECTO LETAL Y SUBLETAL DE UN FLUIDO DE
PERFORACION POLIMERICICO EN POSTLARVAS Y
JUVENILES DE *Litopenaeus setiferus* (CRUSTACEA
DECAPODA)**

T E S I S

que para obtener el grado académico de

Maestra en Ciencias
(Biología Marina)

presenta

ROSA MARIA NUÑEZ GARCIA.

Director de Tesis: DRA. CECILIA VANEGAS PEREZ

Comité Tutorial: DR ALFONSO VAZQUEZ BOTELLO
DRA. MA. ESTHER DE LA ROSA DUQUE

México, D.F., 2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS

Quiero dedicar este trabajo a distintas personas, parte fundamental de mi existencia:

Con todo lo que soy y lo que nace a cada momento por ti, te dedico esta tesis, que fue semilla y ahora es un fruto de nuestro mutuo amor, comprensión y apoyo: Alberto Montoya Márquez.

A mis padres: Eva Garcia Arce y Maximiliano Núñez Uc⁺, con mucho cariño y respeto. Gracias también a todos y cada uno de mis hermanos.

A mi hermano Lino, con amor, agradecimiento y admiración, base de mi formación humana y académica. Por este reencuentro.

Bibiana, estás como siempre en mi corazón, tu amistad me da una alegría de vivir.

“Quien da una enseñanza de vida, merece nuestra gratitud por siempre”

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad que me brindó de estudiar una Maestría en Ciencias del Mar y Limnología.

A la Dra. R. Cecilia Vanegas Pérez por su excelente dirección de este trabajo y en especial por su invaluable apoyo a mi formación académica.

A los sinodales: Dr. Vázquez Botello, Dra. Ma. Esther De la Rosa, Dr. Gilberto Díaz y Dr. Carlos Rosas por que me enseñaron que la calidad académica debe ir ligada con la calidad humana.

Al Instituto Mexicano del Petróleo, por el espacio físico y el apoyo económico brindado a través del proyecto FIES-96-49-VI.

A CONACYT por la beca –crédito otorgada para la realización de este trabajo y por su apoyo económico para mi formación académica.

A mis compañeros: Susana Alejandre Grimaldo, Eduardo Ríos Torres y Sebastian Zúñiga Lagunes por su valiosa ayuda en la parte experimental de este trabajo. En especial a Susi por su amistad. Quiero agradecer también al Dr. Xavier Chiappa, por su importante apoyo en la parte estadística de este trabajo.

Al todo el personal del Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental. En la Unidad de Cd. Del Carmen, Campeche; por enseñarnos a sonreir mientras trabajamos; en especial al Dr Carlos Rosas Vazquez, Dra. Gabriela Gaxiola, Adriana Paredes, Tomas García y Gabriela Palomino, por su invaluable ayuda en la obtención del material biológico y el alimento.

A la M. en C. Ma. Cristina González Lozano, por su desinteresado apoyo y amistad.

A Ma. Eugenia Márquez Calderón por su apoyo y enorme corazón ¡definitivamente sin su ayuda no lo hubieramos logrado!

A todas aquellas personas que participaron en la realización de este trabajo.

INDICE

	Pág.
Resumen	
I. Introducción.....	1
Objetivos.....	7
II. Materiales y Método	
A. Obtención y mantenimiento de organismos.....	8
B. Preparación y caracterización del fluido de perforación.....	8
C. Fase experimental	
1. Pruebas de Toxicidad aguda.....	9
a. Dodecil sulfato de sodio.....	9
b. Fluido polimérico base agua.....	11
2. Pruebas de Toxicidad crónica.....	13
2.1. Respuestas fisiológicas aisladas.....	14
a. Balance hídrico.....	15
b. Respiración.....	15
c. Excreción nitrogenada.....	16
d. Relación atómica O/N.....	17
e. Crecimiento.....	17
2.2. Balance energético.....	18
a. Energía Absorbida.....	18
b. Energía Ingerida.....	18
3. Análisis estadístico.....	19
III. Resultados	
A. Caracterización de los fluidos de perforación.....	20
B. Pruebas de toxicidad aguda.....	20
1. Tóxico de referencia Dodecil sulfato de sodio.....	20
2. Fluido de perforación polimérico.....	24
C. Pruebas de Toxicidad crónica.....	30

1. Mortalidad.....	31
2. Respuestas fisiológicas aisladas.....	31
a. Balance Hidrico.....	31
b. Consumo de oxígeno.....	32
c. Excreción nitrogenada.....	32
d. Relación atómica O/N.....	34
e. Crecimiento absoluto y relativo.....	35
3. Balance energético.....	37
a. Energía Absorbida.....	37
b. Energía Ingerida.....	39
IV. Discusión.....	
A. Toxicidad aguda.....	42
1. Tóxico de referencia Dodecil sulfato de sodio.....	42
2. Fluido de perforación polimérico.....	43
B. Pruebas de Toxicidad crónica.....	
1. Respuestas fisiológicas aisladas.....	
Balance Hidrico.....	48
Consumo de oxígeno.....	49
Excreción nitrogenada.....	51
Relación atómica O/N.....	52
Crecimiento absoluto y relativo.....	53
Contenido calórico.....	56
2. Balance energético.....	
Energía Absorbida-Eficiencia de Absorción.....	58
Energía Ingerida.....	60
V. Conclusiones.....	65
VI. Anexos.....	
A. Composición del alimento.....	68
B. Contenido calórico.....	68
VII: Literatura citada.....	69

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Lista de Tablas.

	Pág.
Tabla 1. Composición del fluido base agua: Polimérico.....	9
Tabla 2.- Concentraciones (%; ppm) de la fase de partículas suspendidas empleadas en el bioensayo de toxicidad aguda en postlarvas de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen los volúmenes (L) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y del agua de mar (AM) utilizada	11
Tabla 3.- Concentraciones (%; ppm) de la fase de partículas suspendidas empleadas en el bioensayo de toxicidad agudo en juveniles de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen los volúmenes (L) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y del agua de mar (AM) utilizada.....	12
Tabla 4.- Concentraciones (%; ppm) de la fase disuelta empleada en el bioensayo de toxicidad agudo en postlarvas de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen los volúmenes (L) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y del agua de mar (AM) utilizada	12
Tabla 5.- Concentraciones (%; ppm) de la fase disuelta empleada en el bioensayo de toxicidad agudo en juveniles de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen los volúmenes (L) de la fase disuelta (FD) y del agua de mar (AM) utilizada	12
Tabla 6.- Volumen (ml) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y de la fracción disuelta (FD) (ml) empleados para preparar 1L de agua de mar (28 ups) a las concentraciones experimentales seleccionadas.	14
Tabla 7. Caracterización reológica y densidad del fluido polimérico (lodo total) en base agua.....	20
Tabla 8. Variaciones de los parámetros fisicoquímicos, durante el transcurso de las pruebas de toxicidad aguda del Dodecil sulfato de sodio en postlarvas de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen valores mínimos y máximos (min-max) así como valores promedio, y error estándar ($X \pm ES$).....	21
Tabla 9. Variaciones de los parámetros fisicoquímicos, durante el transcurso de las pruebas de toxicidad aguda del Dodecil sulfato de sodio en juveniles de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen valores mínimos y máximos (min-max) así como valores promedio, y error estándar ($X \pm ES$).....	21
Tabla 10. Mortalidad acumulada de las postlarvas de <i>L. setiferus</i> expuestos por 96 h a diferentes concentraciones de Dodecil sulfato de sodio. n = número de organismos expuestos.....	21
Tabla 11. Mortalidad acumulada de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos por 96 h a diferentes concentraciones de Dodecil sulfato de sodio n = número de organismos expuestos.....	22
Tabla 12. Ecuaciones que describen la mortalidad en postlarvas y juveniles a las 96h de exposición al Dodecil sulfato de sodio (DDS) a partir del modelo $y = b + mx$. $Y = \% \text{ mortalidad (transformado por } \arccos \text{eno } \bar{Y} \text{)}$; X = concentración, ppm; m y b = constantes r = coeficiente de correlación	22
Tabla 13. Concentración letal (10 a 90 % mortalidad) del DSS a las 96h de exposición, en las postlarvas y juveniles de <i>L. setiferus</i> . Se señalan valores promedio e Intervalo de confianza ($X \pm IC$).....	23
Tabla 14. Variaciones de los parámetros fisicoquímicos durante el transcurso de las pruebas de toxicidad aguda de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD), en postlarvas de <i>L. setiferus</i> , respectivamente. Se incluyen valores mínimos y máximos (min-máx) y valores promedio ($X \pm ES$).....	24
Tabla 15. Variaciones de los parámetros fisicoquímicos, durante el transcurso de las pruebas de toxicidad aguda de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD) en juveniles <i>L. setiferus</i> , respectivamente. Se incluyen valores mínimos y máximos (min-max) y valores promedio ($X \pm ES$).....	24

Tabla 16. Mortalidad acumulada de las postlarvas de <i>L. setiferus</i> expuestos por 96 h a la FPS del fluido polimérico. n = número de organismos expuestos.....	25
Tabla 17. Mortalidad acumulada de las postlarvas de <i>L. setiferus</i> expuestos por 96 h a la FD del fluido polimérico. n = número de organismos expuestos.....	25
Tabla 18. Mortalidad acumulada de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos por 96 h a la FPS del fluido polimérico. n = número de organismos expuestos.....	25
Tabla 19. Mortalidad acumulada de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos por 96 h a la FD del fluido polimérico. n = número de organismos expuestos.....	26
Tabla 20. Ecuaciones que describen la mortalidad en postlarvas y juveniles de <i>L. setiferus</i> a las 96h de exposición a las diferentes fases del fluido de perforación polimérico a partir del modelo $y = b + mx$. Y = % mortalidad (transformado por $\sqrt{\arccoseno Y}$); X= concentración, ppm; r = coeficiente de correlación; FPS = fase de partículas suspendidas; FD = fase disuelta.....	26
Tabla 21. Concentración letal media (CL_{50} 96h \pm IC) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD) del fluido de perforación para las postlarvas y juveniles de <i>L. setiferus</i> . IC Intervalo de confianza ($\alpha = 0.05$).....	27
Tabla 22. Concentración letal (10 a 90 % mortalidad; ppm) de la FPS y de la FD (ppm) en las postlarvas de <i>L. setiferus</i> , a las 96h de exposición. Se señalan valores promedio e intervalo de confianza $CL \pm IC$	28
Tabla 23. Concentración letal (10 a 90 % mortalidad) de la FPS y de la FD (ppm) en los juveniles de <i>L. setiferus</i> , a las 96 h de exposición. Se señalan valores promedio e intervalo de confianza $CL \pm IC$	
Tabla 24. Variaciones de los parámetros físicoquímicos durante el transcurso de las pruebas de toxicidad crónica de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD) en juveniles de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen valores mínimos y máximos (mín-máx), valores promedio y el error estándar.....	31
Tabla 25. Mortalidad (%) de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico.....	31
Tabla 26. Contenido corporal de agua (%) así como relación de pesos al inicio (húmedo, gPH; seco; gPS) y al término (PHf; PSf) de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm E.S.$).....	32
Tabla 27. Tasas de consumo de oxígeno y de excreción nitrogenada de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm E.S.$).....	33
Tabla 28. Relación O/N de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm E.S.$).....	35
Tabla 29. Tasa de crecimiento absoluto (C; mg PS d^{-1}) y crecimiento relativo (CR %) de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm E.S.$).....	36

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 30. Absorción ($Ab \text{ cal d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$) de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. $A = R + N + C$; R = Respiración, N = Excreción de amonio y C = Crecimiento. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm E.S.$).....	39
Tabla 31. Eficiencia de absorción (E Ab.; %) de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y error estándar ($X \pm E.S.$).....	39
Tabla 32. Energía ingerida (I; $\text{cal d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$) de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y error estándar. ($X \pm E.S.$).....	41
Tabla 33. Concentración letal media (CL_{50-96h}) en distintos crustáceos expuestos al tóxico de referencia dodecil sulfato de sodio. Se incluyen los respectivos tiempos de exposición (t, h) y el estadio evaluado A-Adulto, J-Juvenil y P-Postlarva.....	43
Tabla 34. Valores de Cl_{50} de distintos tipos de fluidos de perforación base agua en diferentes especies de crustáceos. Se incluye el tiempo de exposición (t,h) y el estadio de vida (pl = postlarva; j = juvenil; a = adulto).....	46
Tabla 35. Balance energético de juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan los valores calóricos de cada componente del balance energético y el porcentaje de la energía ingerida (I), pérdida en heces (H), absorbida (Ab), eliminada en la excreción nitrogenada (N), invertida en la respiración (R) y canalizada al crecimiento (C).....	61

Lista de Figuras.

	Pág.
Fig 1. Toxicidad aguda del dodecil sulfato de sodio (DSS; mg/l) en postlarvas (-) y juveniles (---) de <i>Litopenaeus setiferus</i> . Se incluyen las ecuaciones de regresión lineal y los valores correspondientes de CL ₅₀ -96h.....	23
Fig 2. Toxicidad aguda de la fase de partículas suspendidas (FPS; ppm) en postlarvas (-) y juveniles (---) de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen las ecuaciones de regresión lineal y los respectivos valores de CL ₅₀ -96h.....	27
Fig 3. Toxicidad aguda de la fase disuelta (FD; ppm) en postlarvas (-) y juveniles (---) de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen las ecuaciones de regresión lineal y los valores respectivos de las CL ₅₀ -96h.....	28
Fig.4. Toxicidad aguda de la fase de partículas suspendidas FPS;(-) y la fase disuelta:(---) en postlarvas de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen las respectivas ecuaciones de regresión lineal y los valores de CL ₅₀ -96h.....	29
Fig 5. Toxicidad de la FPS (-) y la FD (---) en los juveniles de <i>L. setiferus</i> . Se incluyen las ecuaciones respectivas de regresión lineal y los respectivos valores de CL ₅₀ -96h.....	30
Fig. 6 Contenido corporal de agua (%) de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar.....	32
Fig.7 Consumo de Oxígeno (mgO ₂ d ⁻¹ g ⁻¹ PS) de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar.....	33
Fig 8 Excreción nitrogenada (mg N-NH ₄ ⁺ d ⁻¹ mg ⁻¹ PS) de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar.....	34
Fig. 9 Relación atómica O/N de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar.....	35
Fig. 10 Crecimiento absoluto (mg PS d ⁻¹) relacionado al peso seco de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio.....	36
Fig. 11 Crecimiento relativo (%) relacionado al peso seco de los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio.....	37
Fig.12. Absorción (cal d ⁻¹ g ⁻¹ PS) de los juveniles de <i>L.setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio.....	38
Fig.13. Eficiencia de absorción (%) de los juveniles de <i>L.setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar.....	40
Fig 14. Energía ingerida (I; cald ⁻¹ g ⁻¹ PS) por los juveniles de <i>L. setiferus</i> expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar.....	41

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Fig 15. Relación entre el crecimiento absoluto (C; mgPSd^{-1}) y el contenido calórico corporal (c; $\text{cal d}^{-1} \text{ind}^{-1}$) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico..... 57

Fig 16 Balance energético de juveniles de *L. setiferus* expuestos 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señala el porcentaje de la energía ingerida (I), pérdida en heces (H), absorbida (Ab), eliminada en la excreción nitrogenada (N), invertida en la respiración (R) y canalizada al crecimiento (C)..... 62

RESUMEN

En este estudio se evaluó la toxicidad aguda y crónica de un fluido de perforación polimérico base agua utilizado en la extracción de petróleo de la Sonda de Campeche, México. La toxicidad aguda de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD) del fluido fue evaluada a través de bioensayos estáticos de 96h en postlarvas (PL21) y juveniles (PL43) de *Litopenaeus setiferus*. Como tóxico de referencia se utilizó el Dodecil Sulfato de Sodio (DSS). En las postlarvas la CL_{50-96h} de la FPS fue de 587 464 ppm y de 535 081 ppm para la FD; en los juveniles la CL_{50-96h} fue de 302 019 ppm y 114 458 ppm, para la FPS y la FD respectivamente. Los resultados obtenidos denotan que la tolerancia de las postlarvas a las dos fases del fluido fue similar ($P>0.05$); en contraste, en los juveniles el efecto tóxico de la FD fue 38% mayor que la FPS ($P<0.05$). Las pruebas de toxicidad aguda permiten concluir que los juveniles de *L. setiferus* fueron más sensibles al fluido de perforación (FPS y FD) que las postlarvas ($P<0.05$). Las diferencias en la tolerancia a la FD y a la FPS del fluido de perforación en las postlarvas y los juveniles, puede relacionarse con patrones conductuales y respuestas fisiológicas particulares de cada estadio.

Las pruebas de toxicidad crónica se realizaron en juveniles de *L. setiferus*. Los organismos fueron expuestos durante 15 días a dos concentraciones subletales (10 000 y 50 000 ppm) de la FPS y la FD del fluido de perforación. Al término de la exposición crónica se evaluó el balance hídrico, el consumo de oxígeno, la excreción nitrogenada y el crecimiento así como la razón atómica O/N de los organismos. Las respuestas fisiológicas aisladas se integraron en la ecuación de balance energético, calculando la energía ingerida y la energía absorbida. En los camarones, el contenido corporal de agua se incrementó ($p<0.05$) por la exposición a la FPS. El consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada se incrementó ($P<0.05$) sólo por la exposición a 50 000 ppm de la FPS, reflejando un incremento en la demanda energética y en el catabolismo proteico. El estrés nutricional se confirmó por las alteraciones observadas en la razón atómica O/N. El crecimiento de los organismos expuestos a 10 000 y 50 000 ppm FPS y 50 000 ppm FD no fue alterado significativamente ($p>0.05$), sin embargo se incrementó de manera significativa en los juveniles expuestos en 50 000 ppm FD, lo cual se relacionó con un fenómeno hormético. La integración de las respuestas fisiológicas aisladas en el balance energético denotó una disminución significativa ($P<0.05$) en la energía absorbida del alimento ingerido en los organismos expuestos a 10 000 ppm de la FPS y FD y a 50 000 ppm de la FPS; en contraste, la eficiencia de absorción del alimento se incrementó en los organismos indicando mecanismos de estrés nutricional.

La mayor alteración en el balance energético se observó en la distribución de energía de los camarones expuestos a 10 000 y 5000 ppm FPS, presentándose un aumento significativo en la energía canalizada a la respiración (61 y 128%). La alteración más drástica se observó en los camarones expuestos a 50 000 ppm que presentaron valores negativos en la energía canalizada al crecimiento (-6.1%), grupo en el que se presentó mortalidad (9.5%) Se concluye que el balance energético en los camarones es un índice integral adecuado para evaluar la condición fisiológica de los organismos ante el estrés ocasionado por la exposición a los fluidos de perforación.

1. INTRODUCCION

En México, la actividad petrolera que incluye la explotación y el transporte de crudos es considerada una de las actividades económicas de mayor importancia en el país. Actualmente, las actividades de perforación se encuentran localizadas en su mayor parte en el Suroeste del país, en las zonas delimitadas por los estados de Campeche, Tabasco y Chiapas, siendo los yacimientos marinos de la Sonda de Campeche y sus extensiones en la franja continental los de mayor producción (Botello *et al.*, 1996).

El rápido incremento en la demanda y utilización de petróleo y sus derivados petroquímicos ha tenido como consecuencia un aumento en los problemas referentes a la contaminación en el ambiente marino y costero del Golfo de México debido a la explotación de yacimientos profundos fundamentalmente en la operación de perforación marina. Son ampliamente reconocidos y es sin duda alguna en el empleo de los fluidos de perforación en donde se ha generado una amplia polémica sobre su efecto en el ambiente acuático ya que están constituidos por una amplia gama de aditivos de diversa naturaleza química con un potencial tóxico elevado para la biota acuática (API 1989; Gaetz *et al.*, 1986).

En la perforación de pozos petroleros, los fluidos de perforación comúnmente denominados lodos de perforación, son de vital importancia para llevar a cabo tal actividad. Estos fluidos circulantes permiten acarrear los recortes del fondo del pozo hacia la superficie, estabilizar química y mecánicamente las paredes del pozo, controlar las presiones subsuperficiales, enfriar y lubricar la barrena de perforación y permitir una adecuada evaluación de la formación perforada, entre otras funciones. De acuerdo con el fluido base, los lodos se clasifican en base agua (no inhibidos o inhibidos), en base aceite (base aceite y de emulsión inversa) y en inyección de aire (API, 1989).

La evaluación del impacto de los fluidos de perforación a los organismos en el ambiente acuático y en particular en crustáceos se ha hecho de manera general considerando tanto las características fisicoquímicas de los lodos y su composición (Derby y Atema, 1981; Derby y Capuzzo, 1984) como a partir de estudios de toxicidad aguda empleando la totalidad del fluido (mezcla compleja) (Derby y Capuzzo, 1984; Conklin *et al.*, 1983; Tagatz *et al.*, 1982) o bien componentes y

elementos aislados constitutivos (Bland *et al.*, 1987; Kasymov y Velikhanov, 1992) Asimismo, se ha evaluado el efecto tóxico de las fases características de los lodos de perforación: una fase líquida (continua) en la que el material particulado es removido; una fase de partículas en suspensión (dispersa) compuesta por una fracción soluble y fases particuladas ligeras; y una fase sólida constituida fundamentalmente por partículas densas y complejos “pesados” de rápida sedimentación (API 1989; EPA 1987; Jones *et al.*, 1986; Bland, 1987; Derby y Capuzzo, 1985).

Las pruebas de toxicidad aguda de los fluidos de perforación se han realizado considerando fundamentalmente la fase de partículas suspendidas. De acuerdo a la reglamentación de la EPA-Federal Register (1999) las descargas de los fluidos de perforación no deben contener una concentración mayor a las 30 000 ppm en la fase de partículas suspendidas basados en pruebas de toxicidad aguda (CL₅₀-96 h) en *Mysidopsis bahia*

El efecto tóxico de los fluidos de perforación está determinado por la composición del fluido, por el tiempo de permanencia de estos componentes en la columna de agua y consecuentemente en los sedimentos y en los organismos (Payne *et al.*, 1995; Stromgten *et al.*, 1993; Derby y Capuzzo, 1985) y por su bioacumulación (Libes, 1992; Rand, 1995 y Gettleson, 1980) A su vez depende de la sensibilidad de los organismos al igual que de factores abióticos del medio (temperatura, salinidad, alcalinidad, pH, oxígeno disuelto) (Derby y Capuzzo, 1985). En los organismos la bioacumulación de los tóxicos depende de la relación entre las tasas de incorporación y de eliminación así como de mecanismos propios de desintoxicación (Randall y Petrocelli, 1985; Walker y Livingston, 1992).

El impacto de los fluidos de perforación sobre los sistemas marinos se ha evaluado principalmente en experimentos controlados de laboratorio (Tagatz, 1982; Alldredge, 1986; Benka y Olumagin, 1996; Dodge, 1982 y Kelly *et al.*, 1987) de manera muy escasa en mesocosmos (Powell *et al.*, 1984, Parker *et al.*, 1984); y de manera prácticamente nula en gradientes de campo parcialmente controlados y a diversas distancias de los sitios de extracción de petróleo considerando un gradiente de contaminación. (Espina y Vanegas en Botello, 1996). Sin embargo la información generada respecto al efecto adverso de los lodos sobre los organismos y los sistemas acuáticos, es confusa y en ocasiones contradictoria. Monaghan *et al.*

(1980) menciona la inocuidad de los fluidos de perforación debido a la dispersión y dilución de sus componentes en el mar. A su vez, Gettleson (1980) no encontró diferencias significativas en la acumulación de los metales pesados e hidrocarburos derivados de petróleo (componentes de los lodos) en varias especies de crustáceos decápodos, estomatópodos y equinodermos, colectados en sitios cercanos antes y después de las actividades de perforación.

En contraste, el efecto tóxico agudo de los fluidos de perforación en invertebrados dulceacuícolas, estuarinos y marinos (microalgas, bivalvos, poliquetos, crustáceos entre otros) ha sido ampliamente documentado. Se han determinado algunas especies marinas sensibles a la toxicidad aguda de los lodos y se han analizado cuales de los constituyentes de los fluidos ejercen un efecto adverso mayor. Tales estudios se han realizado en copépodos marinos y estuarinos (*Centropages typicus*, *Acartia tonsa*), en estadios larvales del bivalvo *Plackopecten magellanicus* y el cangrejo de roca *Cancer irroratus* (Gilbert, 1982). A su vez, se ha reportado el incremento en la toxicidad aguda de los lodos por la presencia de componentes alifáticos en *Mysidopsis bahia* (Gaetz *et al.*, 1986). Resultados similares se han obtenido en *Palaemonetes pugio* (Conklin *et al.*, 1983) y larvas de *Homarus americanus* (Capuzzo *et al.*, 1981).

De manera general, se ha establecido que los fluidos en base aceite ocasionan un mayor daño a los sistemas acuáticos debido a la fase externa continua que forman en los sistemas en los que son emitidos. Sin embargo, debe tomarse en consideración que los fluidos en base agua presentan en su constitución diversos aditivos para que adquieran las características "ideales" de su aplicación, muchos de los cuales son complejos químicos tóxicos (API, 1984 y Jones, 1986).

Al respecto, se ha determinado que los combustibles diesel empleados en la manufactura de los lodos de perforación son 20 veces más tóxicos que los aceites minerales utilizados, debido a su alto contenido de compuestos aromáticos (polinucleares), de aquí que tales fluidos no son utilizados en los Estados Unidos desde inicios de la década pasada y en el Mar del norte desde 1987, excepto en situaciones extraordinarias (Lummis, 1993). Estudios realizados en *Mysidopsis bahia* con dos fluidos genéricos y seis aditivos evaluados de manera aislada y en combinación demostraron que la toxicidad de la mezcla fue menor que la evaluación aislada (Parrish *et al.*, 1986).

Por otra parte, Jones (1986) efectuaron una recopilación del efecto tóxico de diferentes aditivos y fluidos de perforación en base agua en *Mysidopsis bahia*. Los resultados señalan valores de toxicidad muy bajos en todos los casos donde sólo 2 de las 51 evaluaciones efectuadas cumplen con la normatividad norteamericana; asimismo, los autores proporcionan una clasificación del grado de toxicidad de los fluidos de perforación de prácticamente no tóxica (mayor de 10 000 ppm) hasta muy tóxica (menor de 1 ppm).

En nuestro país, se carece de una normatividad específica que reglamente y regule la emisión de los fluidos de perforación en los sistemas acuáticos. La única referencia relacionada esta dada por la Norma Oficial Mexicana (NOM-001-ECOL) en donde se establecen límites máximos permisibles de descargas de aguas residuales (SEMARNAP, 1997). De tal manera la evaluación del impacto de los fluidos de perforación presenta un rezago considerable en relación a los estudios y a las reglamentaciones establecidas en Estados Unidos, Canadá, Inglaterra y diversos países de Europa. Por lo tanto surge la necesidad inminente de efectuar investigaciones encaminadas a evaluar el impacto de la emisión de fluidos de perforación sobre el ambiente marino y los sistemas estuarinos adyacentes a la zona de perforación de los pozos petroleros y en particular en la Sonda de Campeche.

Los estudios realizados en México se refieren fundamentalmente a los aspectos analíticos de composición y de características reológicas y fisicoquímicas de los fluidos de perforación. Se ha evaluado en adultos de *Mysidopsis bahia* y en postlarvas de *Litopenaeus setiferus*, la toxicidad aguda (CL₅₀-96h) de la fase de sedimentos en suspensión (SPP) de ocho lodos genéricos utilizados por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y de seis fluidos de perforación empleados por PEMEX en actividades de perforación y extracción de petróleo de la Sonda de Campeche (Duke *et al.*, 1984). Los resultados obtenidos demuestran que, para ambas especies, sólo un lodo de perforación (EPA-001) presentó características tóxicas de acuerdo a los criterios señalados por Jones (1986).

Bland *et al.* (1987) realizaron un estudio comparativo entre *Photobacterium phosphoreum* (por el sistema de Microtox) y *M bahia* (CL₅₀-96h) con fluidos y aditivos de perforación obteniendo resultados similares con los dos métodos; sin embargo en las pruebas con Microtox se presentó

interferencia en la prueba al evaluar la SPP. A su vez Moynihan *et al.* (1988) efectuaron un estudio comparativo de la toxicidad de los fluidos base agua en *Salmo gairdneri* (CL₅₀-96h) y en *P. phosphoreum* (sistema Microtox) obteniendo una mayor sensibilidad en ésta última, sin embargo en las pruebas efectuadas por Microtox se observó interferencia por la turbidez y coloración de la muestra. Dadas las interferencias obtenidas frecuentemente al evaluar la toxicidad de los fluidos de perforación por el sistema Microtox, la USEPA no acepta la validez de estas pruebas si bien los resultados se obtienen en menor tiempo y a un costo de realización más bajo.

Recientemente Muñoz *et al.* (2000) evaluaron la toxicidad aguda de fluidos de perforación genéricos en el camarón blanco del Golfo de México *Litopeneus setiferus*, encontrando que únicamente el fluido genérico EPA-83-001 fue tóxico, con una CL₅₀ de 27 000 ppm.

Si bien las pruebas de mortalidad proporcionan información acerca de la letalidad en relación a la concentración de los contaminantes, usualmente en los sistemas acuáticos marinos las concentraciones de los tóxicos son subletales ante las cuales los organismos están expuestos de manera prolongada o permanente. De tal manera las pruebas de toxicidad denominadas subletales son una herramienta útil en la evaluación del efecto crónico de bajas concentraciones de cualquier contaminante y aportan información de las alteraciones a diferentes niveles de organización biológica (desde el nivel molecular hasta el de comunidad y ecosistema). A nivel organismo, las respuestas fisiológicas son reflejo de los procesos que se llevan a cabo a niveles celulares y subcelulares a su vez las alteraciones bioquímicas, fisiológicas y conductuales reducen la capacidad de crecimiento y sobrevivencia de los organismos y puede repercutir a largo plazo en la estabilidad de las poblaciones (Espina y Vanegas en Botello *et al.*, 1996). La trascendencia de estos estudios es evidente ya que se podrían explicar y predecir probables impactos en cualquier población, a la vez que permitirían identificar las especies más vulnerables a la utilización de fluidos de perforación.

El conocimiento sobre los efectos biológicos y fisiológicos de la biota acuática en los sistemas marinos y estuarinos debido a la exposición crónica subletal de los fluidos de perforación, es escaso. Al respecto, se han reportado en larvas de *Homarus americanus* la reducción en la tasa de

ingestión de alimento, la tasa respiratoria, la frecuencia de muda, la eficiencia de crecimiento por la exposición subletal a diversos lodos; así como un cambio en el metabolismo energético de los organismos producto del incremento de la razón proteína: lípidos mediante la razón O:N (Capuzzo *et al.*, 1981, Derby *et al.*, 1984).

Asimismo, se ha detectado la alteración en el establecimiento de larvas de *Mercenaria mercenaria* (Gilbert, 1981) y en la recolonización de sedimentos por diversos invertebrados marinos (New England Aquarium, 1984) al igual que la interferencia en la eclosión y sobrevivencia de estadios tempranos de *Cancer anthony* y *C. magister* (McDonald *et al.*, 1988) por los metales pesados constituyentes de los fluidos de perforación.

Si bien el estudio de las respuestas fisiológicas individuales, aisladas es importante, la integración de estas repuestas permite obtener medidas globales indicadoras de la adecuación de los organismos al ambiente (Vanegas, 1996). El balance energético constituye una medida integrativa de la cuantificación de los intercambios y la transformación de la energía y materia entre los organismos y su medio (Beamish, 1990). De tal manera cualquier alteración en alguna respuesta fisiológica por el efecto de tóxicos ambientales puede modificar el equilibrio y la distribución de energía en los organismos reduciendo la capacidad de respuesta de los individuos y comprometiendo su sobrevivencia a largo plazo (Pickering, 1981; Rice, 1990; Vanegas, com. Pers. 2002). Tales modificaciones pueden a su vez repercutir de manera adversa en la estabilidad de las poblaciones (Marshall, 1990)

En este contexto, el Instituto Mexicano del Petróleo y el Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias, UNAM han iniciado estudios conducentes a evaluar la toxicidad de los fluidos de perforación en el camarón blanco *Litopenaeus setiferus*. La especie fue seleccionada tomando en consideración su amplia distribución en la zona afectada por las actividades de extracción petrolera y su sensibilidad al efecto de contaminantes ambientales (Vanegas, 1996; Alcaraz *et al.*, 1999) además de constituir uno de los recursos de mayor importancia comercial pesquera para el país (Gracia y Soto, 1990).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

El presente estudio se enfocó a evaluar el efecto letal y subletal del fluido de perforación polimérico base agua en postlarvas y juveniles del camarón blanco *Litopenaeus setiferus*.

Objetivos particulares

1. Evaluar en las postlarvas y juveniles de *L. setiferus* la toxicidad aguda del Dodecil sulfato de sodio como tóxico de referencia.
2. Estimar el efecto tóxico agudo letal de la fase de partículas suspendidas y la fase disuelta sobre las postlarvas y juveniles de *L. setiferus*.
3. Determinar en estudios crónicos el efecto tóxico subletal de la fracción de partículas suspendidas (FPS) y la fracción disuelta (FD) del fluido Polimérico sobre diversas respuestas fisiológicas de los juveniles de *L. setiferus*: consumo de oxígeno, excreción nitrogenada y crecimiento.
4. Estimar el efecto de la exposición crónica al fluido polimérico sobre el sustrato energético utilizado por los juveniles de *L. setiferus* mediante la estimación de la razón atómica O/N.
5. Estimar el efecto subletal de la FPS y la FD del fluido polimérico sobre el balance hídrico de los juveniles de *L. setiferus*.
6. Establecer las probables alteraciones en el balance energético de los juveniles de *L. setiferus* por la exposición crónica de las dos fases del fluido polimérico, a partir de la integración de las respuestas fisiológicas evaluadas.

II. MATERIALES Y METODOS.

A. Obtención y mantenimiento de organismos.

Los organismos de *Litopenaeus setiferus* fueron obtenidos en estadio de postlarva (PL) y son producidos a partir del desove artificial de camarones adultos capturados del medio natural por el grupo camarón-UNAM del laboratorio de Ecofisiología de Cd. del Carmen, Campeche. Los camarones en estadio de postlarva (PL6) se transportaron al laboratorio del Dpto. de la Línea de Investigación y Perforación del IMP en bolsas de polietileno con agua del medio de cultivo de 35 ups, temperatura ambiente y saturación de O₂. Una vez en el laboratorio se mantuvieron en tales condiciones durante tres días en acuarios de 400l de capacidad, acondicionados con filtro mecánico, de luz ultravioleta y biológico.

Posteriormente la temperatura y salinidad se ajustaron diariamente hasta obtener $28 \pm 1^\circ \text{C}$ y 28 ± 1 ups salinidad, condiciones que son consideradas óptimas para el buen desarrollo de las postlarvas de esta especie (Gaxiola,1994). En estas condiciones los camarones se mantuvieron durante tres días adicionales. Durante el período de mantenimiento, el oxígeno se mantuvo a saturación (5.0 ± 0.5 mg/L) y el pH de 8.2 a 8.5. El fotoperíodo fue de 12 horas luz, 12 horas oscuridad.

Las postlarvas se alimentaron tres veces al día (8:00 h, 12:00 h, y 16:00 h) al 100% de su peso corporal con alimento balanceado peletizado y particulado, con un contenido proteínico del 50%; a las 20:00 h se les suministró nauplios de *Artemia sp* como complemento alimenticio a razón de 40 n/organismos. A los juveniles se les suministró el mismo alimento excepto los nauplios de *Artemia sp*.

B. Preparación y caracterización del fluido de perforación.

El fluido de perforación Polimérico base agua fue seleccionado en el presente estudio considerando que es uno de los principales fluidos utilizados por PEMEX en las actividades de Perforación y Extracción petrolera en la Sonda de Campeche (com. pers.). La constitución compleja de dicho fluido se señala en la tabla 1.

La formulación y preparación del fluido a utilizar se realizó acorde a los procedimientos señalados por el American Petroleum Institute (API, 1984; Método EPA 3050) y considerando que sus componentes cumplieran con la norma para tal efecto.

Tabla 1 Composición del fluido base agua: Polimérico.

COMPONENTES	FUNCIÓN	CONCENTRACIÓN (g)
Agua de perforación	Base del fluido	980
Bentonita	Coloide	10
Polivinilamida sulfonada	Red de filtrado y viscosificante.	10
Sosa cáustica	Alcalinizante	0.5
Asfalto sulfonado	Estabilizador	2
Lubricante	Disminución del torque	4
Poliacrilato de Sodio.	Defloculante	5

Previo a las pruebas de toxicidad aguda y crónica se realizó la caracterización fisicoquímica y reológica del fluido de perforación Polimérico de acuerdo a los métodos señalados por PEMEX.

C. Fase experimental.

1. Pruebas de Toxicidad aguda.

En las pruebas de toxicidad aguda, se utilizaron postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus* de 21 y 43 días de edad, respectivamente y con pesos de 1.30 a 5.8 mg y de 3.4 a 8.90 mg en cada estadio.

a. Dodecil sulfato de sodio.

Previo a las pruebas de toxicidad aguda del fluido de perforación polimérico se realizaron bioensayos agudos de 96h para evaluar el efecto tóxico del dodecil sulfato de sodio como tóxico de referencia, de acuerdo a la Environmental Protection Series (1990).

Para evaluar la toxicidad aguda del tóxico de referencia dodecil sulfato de sodio en las postlarvas y en los juveniles de *L. setiferus*, se efectuaron en cada caso, bioensayos estáticos, sin recambio, de 96 hrs. Se preparó una solución madre de 10g/l de Dodecil Sulfato de Sodio (DSS) a partir de la cual se prepararon las concentraciones experimentales con agua de mar (28 ups; 28°C). Las

concentraciones evaluadas (ppm) fueron 5,10,15,20,25,50 y 5,10,20,30,40,50,60 ppm para postlarvas y juveniles respectivamente. En cada bioensayo se consideró un grupo testigo, sin adición del tóxico de referencia.

Para cada bioensayo se colocaron grupos de 10 organismos en acuarios conteniendo 1.5 y 2.5L (postlarvas y juveniles respectivamente) en las distintas concentraciones experimentales a ser evaluadas. Los organismos se pesaron (mg PH) antes de su colocación en los acuarios. Cada bioensayo se realizó por duplicado. Se utilizaron postlarvas y juveniles con ayuno previo de 12 h; así mismo, los organismos permanecieron en ayuno durante las pruebas.

La mortalidad de los organismos se registró a las 12, 24, 48, 72 y 96 h de exposición. La muerte se estimó por la falta de respuesta al ser estimulados con un pincel. En el transcurso de las pruebas se registró diariamente la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto y el pH, y se mantuvieron en niveles similares a los descritos durante la etapa de mantenimiento. La temperatura se reguló con baño María utilizando un termostato de 100W (Thermopac). El oxígeno disuelto se mantuvo con aireación constante, controlada.

Los organismos muertos durante las pruebas así como los sobrevivientes al término de éstas, se lavaron con agua destilada, se secaron y se pesaron (mg PH).

A partir de los resultados de mortalidad obtenidos se estimó la concentración letal media (CL_{50-96h}) del tóxico estándar dodecil sulfato de sodio a las 96 h de exposición, mediante un análisis de regresión lineal (Zar, 1996) y a partir del modelo $y = b + mx$ donde; Y = % mortalidad transformado $\cdot \overline{\arccos enoY}$; X = concentración del dodecil sulfato de sodio, ppm; a y b son las constantes del modelo. Las diferencias entre la CL_{50-96h} obtenidas se realizaron mediante los intervalos de confianza obtenidos.

b. Fluido polimérico base agua.

Se efectuaron bioensayos estáticos sin recambio de 96h para evaluar la toxicidad aguda de la fracción de partículas suspendidas (FPS) y la fracción disuelta (FD) del fluido polimérico en base agua.

La fase de partículas suspendidas se preparó de acuerdo al procedimiento señalado por API (1984), en donde a partir de la preparación del fluido polimérico se efectuó una dilución con agua de mar (28 ups, 28°C) en una proporción 1:9 (fluido: agua de mar). Esta se consideró como la mayor concentración (100%) a partir de la cual se efectuaron diversas diluciones correspondientes a las concentraciones experimentales consideradas (Tablas 2 y 3).

La fracción disuelta (FD) del fluido polimérico se preparó de acuerdo al método API (1984), modificado. La fase de partículas suspendidas se centrifugó 2 veces a 3500 rpm durante 10 min. El sobrenadante final se consideró como la fase disuelta, y este correspondió a la concentración del 100% a partir del cual se prepararon las concentraciones experimentales a ser evaluadas efectuando las diluciones correspondientes con agua de mar (28 ups; 28°C). Las concentraciones experimentales de la FD se señalan en las Tablas 4 y 5.

Para cada bioensayo se colocaron grupos de 10 organismos en acuarios conteniendo 1.5 y 2.5L (postlarvas y juveniles respectivamente) de las distintas concentraciones experimentales de las fases a ser evaluadas. Los organismos se pesaron (mg PH) antes de su colocación en los acuarios experimentales. En cada bioensayo se consideró un grupo testigo, sin adición del fluido polimérico. Cada bioensayo se realizó por duplicado. Se utilizaron postlarvas y juveniles con ayuno previo de 12 h, los cuales no se alimentaron durante las pruebas.

Tabla 2.- Concentraciones (%; ppm) de la fase de partículas suspendidas empleadas en el bioensayo de toxicidad aguda en postlarvas de *L. setiferus*. Se incluyen los volúmenes (L) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y del agua de mar (AM) utilizada.

Volumen (L)	Concentración, % (ppm)							
	0 (0)	2.5 (25 000)	5 (50 000)	10 (100 000)	20 (200 000)	40 (400 000)	60 (600 000)	80 (800 000)
FPS	0	0.0375	0.075	0.15	0.30	0.60	0.90	1.20
AM	1.5	1.4625	1.425	1.35	1.20	0.90	0.60	0.30
TOTAL	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

Tabla 3 - Concentraciones (%; ppm) de la fase de partículas suspendidas empleadas en el bioensayo de toxicidad agudo en juveniles de *L. setiferus*. Se incluyen los volúmenes (L) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y del agua de mar (AM) utilizada

Volumen (L)	Concentración, % (ppm)							
	0 (0)	2.5 (25 000)	5 (50 000)	10 (100 000)	20 (200 000)	40 (400 000)	60 (600 000)	80 (800 000)
FPS	0	0.0625	0.125	0.25	0.5	1	1.5	2
AM	2.5	2.437	2.375	2.25	2	1.5	1	0.5
TOTAL	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

Tabla 4.- Concentraciones (%; ppm) de la fase disuelta empleada en el bioensayo de toxicidad agudo en postlarvas de *L. setiferus*. Se incluyen los volúmenes (L) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y del agua de mar (AM) utilizada.

Volumen (L)	Concentración, % (ppm)							
	0 (0)	1 (10 000)	2.5 (25 000)	5 (50 000)	10 (10 000)	20 (20 000)	40 (40 000)	60 (60 000)
FD	0	0.015	0.0375	0.075	0.15	0.30	0.60	0.90
AM	1.5	1.485	1.4625	1.425	1.35	1.20	0.90	0.60
TOTAL	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

Tabla 5.- Concentraciones (%; ppm) de la fase disuelta empleada en el bioensayo de toxicidad agudo en juveniles de *L. setiferus*. Se incluyen los volúmenes (L) de la fase disuelta (FD) y del agua de mar (AM) utilizada.

Volumen (L)	Concentración, % (ppm)						
	0 (0)	0.05 (5 000)	2.5 (25 000)	5 (50 000)	10 (100 000)	15 (150 000)	20 (200 000)
FD	0	0.00125	0.0625	0.125	0.25	0.375	0.5
AM	2.5	2.49875	1.5	2.375	2.25	2.125	2.0
TOTAL	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

La mortalidad de los organismos se registró a las 12, 24, 48, 72 y 96 h de exposición. Durante las pruebas se registró y reguló diariamente la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto y el pH, de manera similar a la descrita previamente. Los organismos muertos durante las pruebas así como los sobrevivientes al término de éstas se lavaron con agua destilada, se secaron y se pesaron (mg PH).

A partir de los resultados de mortalidad obtenidos se estimó la concentración letal media (CL_{50-96h}) de la fase de partículas suspendidas y la fase disuelta a las 96 h de exposición, mediante el análisis de regresión lineal (Zar, 1996) y a partir del modelo $y = b + mx$ donde; Y = % mortalidad

transformado $\sqrt{\arccoseno Y}$; X = concentración de las fases estudiadas, ppm; a y b son las constantes del modelo.

2. Pruebas de Toxicidad crónica.

Para evaluar el efecto crónico de niveles subletales del fluido polimérico base agua, se utilizaron juveniles de *L. setiferus* de 4.3 a 42.5 mg PH, 19.08 ± 0.64 (X \pm ES), los cuales de acuerdo a las pruebas de toxicidad aguda fue el estadio más sensible al efecto tóxico del fluido en estudio.

Los juveniles utilizados en las pruebas crónicas tuvieron el mismo origen y mantenimiento similar que los utilizados en las pruebas de toxicidad aguda, previamente descritos.

La evaluación del efecto subletal tanto de la fase de partículas suspendidas (FPS) como de la fase disuelta (FD) del fluido de perforación en los juveniles de *L. setiferus* se realizó mediante bioensayos crónicos, semiestáticos, con recambio. Los camarones fueron expuestos durante 15 días en dos niveles subletales tanto de la FPS como de la FD 1 y 5% (10 000 y 50 000 ppm, respectivamente). Así mismo se consideró un grupo testigo, sin adición del fluido de perforación. Cabe señalar que las concentraciones de la FPS y FD se seleccionaron a partir de los resultados obtenidos en las pruebas de toxicidad aguda.

La preparación y formulación del lodo polimérico en base agua y las fases analizadas (FPS y FD) fue similar al realizado en las pruebas anteriores EPA (1987). En cada caso, la fase de partículas suspendidas y la fracción disuelta fueron consideradas las soluciones madre a partir de las cuales se prepararon las concentraciones seleccionadas. Las cantidades de la FPS y FD por litro de agua marina (25 ups ; 28°C) empleados se señalan en la tabla 6.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 6.- Volumen (ml) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y de la fracción disuelta (FD) (ml) empleados para preparar 1L de agua de mar (28 ups) a las concentraciones experimentales seleccionadas.

	Concentración, % (ppm)		
	0 (0)	1 (10 000)	5 (50 000)
FPS o FD (ml)	0	10	50
AM (L)	1	1	1

En cada bioensayo por cada condición experimental se consideraron acuarios de vidrio de 20 l de capacidad, divididos en 8 compartimentos similares, interconectados, con malla plástica fina, en cada uno de los cuales se colocaron 3 juveniles. Previo a su colocación se obtuvo el peso húmedo (mg PH) de los camarones con una balanza analítica Sauter (± 0.05 mg).

Durante el transcurso de las pruebas, los parámetros fisicoquímicos (temperatura, pH, salinidad y oxígeno disuelto) se mantuvieron similares a las condiciones de mantenimiento. La temperatura se mantuvo regulada con termostatos de inmersión de 100 watts. Los organismos se alimentaron una vez al día con alimento particulado (50% proteína) al 10% de su peso corporal. El periodo de alimentación fue de dos horas, después de lo cual se retiró el alimento remanente mediante sifón, a su vez después de tres horas se retiraron las heces producidas por los camarones. Cada tercer día se efectuó el 50% del recambio del volumen de los acuarios y se renovaron las concentraciones respectivas.

Durante la fase experimental el periodo de intermuda de los organismos se estimó de acuerdo a los eventos de muda de los juveniles.

2.1 Respuestas fisiológicas aisladas.

El efecto tóxico de la exposición crónica al lodo de perforación se evaluó a través de la determinación de diversas respuestas fisiológicas (consumo de oxígeno, excreción nitrogenada y crecimiento) y su integración en la razón O/N y en el balance energético de los juveniles de *L. setiferus*. Así mismo se determinó el balance hídrico de los camarones. Tales respuestas se

evaluaron al término de las pruebas. Las respuestas fisiológicas se evaluaron en los organismos colocados en los acuarios compartimentalizados.

a. Balance Hídrico

Para obtener el contenido corporal de agua, al término de la exposición crónica se obtuvo el peso húmedo (PHf, g) y el peso seco (PSf, g) de los camarones provenientes de cada condición experimental. El contenido corporal de agua (H₂O, %) se calculó por medio de la ecuación :

$$H_2O \% = (PHf - PSf / PHf) * 100$$

b. Tasa respiratoria.

La tasa respiratoria (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ PS) de los camarones expuestos en cada condición experimental se evaluó al finalizar los 15 días de exposición crónica. Se tomaron 20 organismos elegidos al azar de cada condición experimental con 24 horas de ayuno previo. Se empleó un sistema respirométrico de flujo continuo termoregulado. Los camarones se colocaron individualmente en cámaras respirométricas de vidrio, de 55 ml de capacidad, manteniendo un flujo continuo. Las características del agua fueron similares, en cada caso, a las condiciones de exposición crónica. Los organismos permanecieron en el sistema tres horas antes de realizar las mediciones a fin de aminorar los efectos del estrés causados por la manipulación. Para cada tratamiento se utilizó una cámara testigo sin organismo. Posteriormente se midió la concentración de oxígeno en cada cámara, se suspendió el flujo por 45 mín, al término del cual se tomó la concentración del gas y se reestableció el flujo en las cámaras. Una hora después se repitió el procedimiento. La concentración de oxígeno disuelto se midió con un oxímetro YSI (51B) con sensor polarográfico.

La tasa respiratoria se evaluó a través de la medición del consumo de oxígeno (VO₂) a partir de la diferencia entre la concentración de oxígeno disuelto (mg O₂/L) de muestras de agua al inicio [O₂]_i y al término [O₂]_f de cerrado de las cámaras, considerando el volumen (V, L) de las

cámaras respirométricas y el tiempo de cerrado de las mismas (t, h) de acuerdo a la fórmula (Chech, 1990):

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

Los valores fueron corregidos por los valores obtenidos en la cámara control sin organismo. Los resultados se expresaron en $mg\ O_2\ h^{-1}\ mg^{-1}\ PS$. Los resultados obtenidos se transformaron en unidades de energía ($cal\ d^{-1}\ g^{-1}\ PS$) utilizando el coeficiente oxicalórico de $3.32\ cal/mgO_2$ (Elliot y Davison, 1975).

c. Excreción nitrogenada

La excreción nitrogenada se evaluó en los mismos organismos y en el mismo sistema descrito para la evaluación del consumo de oxígeno, pero empleando muestras independientes de agua. Cabe señalar que el amonio es el principal producto de excreción de los camarones (Zúñiga *et al.*, 1984) por lo que se evaluó el nitrógeno de amonio total excretado ($mg\ N-AT\ h^{-1}\ mg^{-1}\ PS$). La concentración de amonio en las muestras se determinó a partir de la técnica colorimétrica de azul de indofenol (Rodier, 1981).

La excreción nitrogenada se determinó a partir de la diferencia entre la concentración de amonio de las muestras final e inicial de agua, considerando el tiempo de cerrado de las cámaras (t, h) y su volumen (V, L). Los resultados fueron corregidos por los valores obtenidos en la cámara control. Los resultados se expresaron en $mg\ N-NH_4^+\ h^{-1}\ mg^{-1}\ PS$. Para determinar el amonio ionizado excretado (NH_4^+) se consideró el porcentaje de ionización del amonio de acuerdo a la salinidad, la temperatura y el ph del medio (28ups, 28°C y 8.2).

Una vez finalizadas las mediciones se sacrificaron los organismos y se obtuvo su peso húmedo (mg PH) y el peso seco (mg PS) en una balanza analítica. El peso seco se obtuvo a partir de la deshidratación de los camarones en una estufa Blume-M a 60°C hasta peso constante (APHA, 1985) y fué utilizado para correlacionar el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada con la

biomasa de los organismos. Los resultados obtenidos fueron convertidos a calorías ($\text{cal d}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PS}$) utilizando el coeficiente nitrocalórico de $5.94 \text{ cal/mg N-NH}_4^+$ (Elliot y Davison, 1975).

d. Relación atómica O/N.

Los resultados obtenidos del consumo de oxígeno y de la excreción nitrogenada de los juveniles de *L. setiferus* se transformaron en sus correspondientes valores atómicos y se integraron en la razón atómica O/N. La razón atómica O/N permitió calcular el sustrato energético utilizado por los camarones en las diferentes condiciones experimentales. (Mayzaud, 1988).

e. Crecimiento.

La tasa de crecimiento (C ; mg PH d^{-1} , mg PS d^{-1}) se estableció por el incremento del peso de los organismos durante el tiempo de exposición de acuerdo a Busacker *et al.*, (1990)

$$C = (P_i - P_f) / t = P / t$$

donde P es la diferencia del peso húmedo o del peso seco de los camarones (mg PS ; mgPH) al inicio (i) y al término (f) de la exposición crónica y t es el tiempo de dicha exposición (15 días).

La tasa de crecimiento (mg PS d^{-1}) de los camarones se transformó en valores calóricos ($\text{cal d}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PS}$) a partir de la determinación del contenido energético de una muestra de cuatro organismos provenientes de cada condición experimental. Los organismo se sacrificaron; se lavaron con agua desionizada y se obtuvo su peso húmedo (gPH) y seco (gPS) como se señaló previamente (APHA, 1985). El contenido calórico individual ($\text{cal.g}^{-1}\text{PS}$) se obtuvo con una bomba calorimétrica semi-micro Parr-1425.

Por otro lado, se calculó el crecimiento relativo (CR , %) de los peneidos de cada condición experimental considerando el incremento de la biomasa (P) en relación al peso inicial (P_i) de los organismos (Busacker *et al.*, 1990):

$$\text{CR} = (P / P_i) 100$$

Balance energético

a. Energía absorbida (Ab).

Al término de la exposición crónica a las fases del fluido de perforación se calculó el balance energético parcial de los camarones a partir de la estimación de la energía absorbida (Ab). La energía absorbida del alimento ingerido ($\text{cal.g}^{-1} \text{PS.d}^{-1}$) se realizó utilizando la ecuación propuesta por Lucas (1996) y que integra las tasas fisiológicas descritas expresadas en unidades energéticas:

$$Ab = R + N + P ; Ab = R + N + C$$

donde R es la energía utilizada en la respiración, N es la energía perdida en la excreción nitrogenada y P es la energía canalizada a la producción de los organismos, incluido el crecimiento (C) y la reproducción (Rp). Dado que este estudio se centra en el estadio juvenil, se consideró sólo el crecimiento de los camarones (C).

b. Energía ingerida.

La energía ingerida (I) por los camarones provenientes de cada condición experimental, se estimó indirectamente a partir de la ecuación (Guerin y Stickle, 1997):

$$Ab = (EAb) (I) \rightarrow I = (Ab) / (EAb)$$

donde Ab es la energía absorbida del alimento ingerido y EAb es la eficiencia de absorción de dicho alimento (Conover, 1966; redefinida por Guerin y Stickle, 1997).

La eficiencia de absorción (EAb) del alimento ingerido por los camarones se calculó de manera indirecta a partir de la ecuación propuesta por Conover (1966) y modificada por Condrey *et al* (1972):

$$EAb = [(I-H)/(1-H)] 100$$

donde I y H son las razones entre el peso seco libre de cenizas y el peso seco del alimento suministrado (PSLC/PS al) y de las heces producidas por los organismos (PSLC/PS h),

respectivamente. Para tal efecto, diariamente tanto el alimento remanente de los acuarios como las heces producidas por los camarones durante el transcurso de las pruebas se lavaron con agua desionizada y se secaron a 60°C. El PSLC (mg) del alimento y de las heces producidas por los camarones de cada condición experimental se analizaron en cuatro muestras de aproximadamente 0.2 gPS cada una. El PSLC se obtuvo al incinerar las muestras a 600°C durante 2h (APHA, 1985).

3. Analisis estadístico.

Para determinar el comportamiento tóxico agudo de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD) y establecer las diferencias significativas entre las postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus*, se efectuó un análisis de covarianza de las respectivas regresiones lineales obtenidas. (Zar, 1996) Para ello se utilizó un programa de computo elaborado por Chiappa (2001). Las diferencias significativas en las Cl_{50-96h} estimadas de la FPS y la FD en las postlarvas y los juveniles se establecieron por la comparación de los Intervalos de confianza obtenidos.

Para determinar el efecto de la exposición a largo plazo a las fases estudiadas del fluido de perforación polimérico en los juveniles de *L. setiferus* sobre las respuestas evaluadas, se utilizó el Análisis de varianza. Las diferencias significativas entre los grupos se establecieron mediante la prueba de Tukey, Zar (1996). Para las pruebas estadísticas se utilizó el programa de computo Estadística versión 98.

III. RESULTADOS.

A. Caracterización de los lodos de perforación.

Aspectos reológicos.

La caracterización reológica del fluido polimérico se realizó de acuerdo al Método de análisis de Fluidos (PEMEX,1978). Los resultados de reología y densidad del lodo total, se señalan en la tabla 7.

Tabla 7. Caracterización reológica y densidad del fluido polimérico (lodo total) en base agua.

REOLOGIA	Revoluciones por minuto (rpm)	Lectura (cps)
	3	3
	6	4
	100	2.5
	200	40
	300	52
	600	80
Densidad		1.2 g/cm ³ o 64 lb/pe ³
pH		8.03

B. Pruebas de Toxicidad aguda.

1. Tóxico de referencia. Dodecil sulfato de sodio.

En las pruebas de toxicidad aguda se utilizaron postlarvas (PL 19) de 1.30 a 5.8 mg PH y juveniles (PL 43) de 3.4 a 8.90 mg PH. En cada bioensayo los pesos de los organismos (mgPH) fueron similares ($P > 0.05$) de 3.54 ± 0.12 en postlarvas y de 5.48 ± 0.26 en juveniles ($X \pm ES$)

Las variaciones de los parámetros fisicoquímicos registrados durante el transcurso de las pruebas se señalan en las tablas 8 y 9.

Tabla 8. Variaciones de los parámetros fisicoquímicos, durante el transcurso de las pruebas de toxicidad aguda del Dodecil sulfato de sodio en postlarvas de *L. setiferus*. Se incluyen valores mínimos y máximos (min-max) así como valores promedio, y error estándar ($X \pm ES$).

Parámetros	(min-max)	$X \pm ES$
Temperatura °C	27.5-28.5	28.0 ± 0.1
Salinidad, ups	27.4-29.0	28.5 ± 0.2
Oxígeno disuelto, mgO ₂ /l	3.2-3.7	3.4 ± 0.3
pH	7.76-8.3	8.2 ± 0.04

Tabla 9. Variaciones de los parámetros fisicoquímicos, durante el transcurso de las pruebas de toxicidad aguda del Dodecil sulfato de sodio en juveniles de *L. setiferus*. Se incluyen valores mínimos y máximos (min-max) así como valores promedio, y error estándar ($X \pm ES$).

Parámetros	(min-max)	$X \pm ES$
Temperatura °C	27.5-28.9	28.2 ± 0.1
Salinidad, ups	28.5-29.2	28.2 ± 0.4
Oxígeno disuelto, mgO ₂ /l	3.31-4.1	3.7 ± 0.5
pH	8.15-8.3	8.2 ± 0.01

Mortalidad

Durante el bioensayo no se observó mortalidad en las postlarvas del grupo testigo. En los juveniles sin exposición al tóxico se registró una mortalidad del 5% al término de las 96h. La mortalidad acumulada de las postlarvas y los juveniles expuestos durante 96 h al Dodecil sulfato de sodio (ppm) se presenta en las tablas 10 y 11.

Tabla 10 Mortalidad acumulada de las postlarvas de *L. setiferus* expuestos por 96 h a diferentes concentraciones de Dodecil sulfato de sodio. n = número de organismos expuestos.

Tiempo, h	DODECIL SULFATO DE SODIO, ppm					
	0	5	10	15	20	50
24	0	0	0	0	4	8
48	0	0	0	2	0	6
72	0	0	2	1	2	6
96	0	1	0	0	3	0
Total	0	1	2	3	9	20
n	20	20	20	20	20	20

Tabla 11. Mortalidad acumulada de los juveniles de *L. setiferus* expuestos por 96 h a diferentes concentraciones de Dodecil sulfato de sodio. n = número de organismos expuestos.

Tiempo, h	DODECIL SULFATO DE SODIO, ppm							
	0	5	10	20	30	40	50	60
24	0	0	0	0	8	8	19	20
48	0	0	1	1	3	5	0	0
72	0	2	2	1	0	3	0	0
96	1	3	6	8	0	0	1	0
Total	1	5	9	10	11	16	20	20
n	20	20	20	20	20	20	20	20

A partir del modelo $y = b + mx$ se obtuvieron las ecuaciones que describen la mortalidad de las postlarvas y los juveniles de *L. setiferus* expuestos al dodecil sulfato de sodio al término de las pruebas (96 h). Las regresiones obtenidas fueron significativas para los dos estadios ($p < 0.05$) con coeficientes de determinación elevados, mayores de 0.90. Los resultados se señalan en la Tabla 12.

Tabla 12 Ecuaciones que describen la mortalidad en postlarvas y juveniles a las 96h de exposición al Dodecil sulfato de sodio (DDS) a partir del modelo $y = b + mx$ $Y = \%$ mortalidad (transformado por $\sqrt{\arccoseno Y}$); $X =$ concentración, ppm; m y $b =$ constantes $r =$ coeficiente de correlación

Estadio	Edad	$Y = b + mx$	r
PL	PL21	$Y = 1.8396x + 1.0732$	0.94 (s)
JUV	PL 43	$Y = 0.788x + 29.106$	0.94 (s)

s = regresión significativa

Los resultados del ANCOVA para las regresiones lineales; determinó que no hay diferencias significativas en las pendientes obtenidas para el estadio postlarval y el estadio juvenil ($p > 0.05$); es decir, que la intensidad del efecto tóxico del dodecil sulfato de sodio es similar para los dos estadios. En cuanto a las ordenadas al origen se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$), lo cual determina que el estadio juvenil presenta una mayor sensibilidad a bajas concentraciones del dodecil sulfato de sodio que las postlarvas de la especie. No obstante los valores de las CL_{50-96h} ($X \pm IC$) obtenidas para las postlarvas y los juveniles de *L. setiferus* fueron similares ($P > 0.05$); esto es, concentraciones similares del tóxico ocasionan la mortalidad del 50 % de ambos estadios (Fig.1)

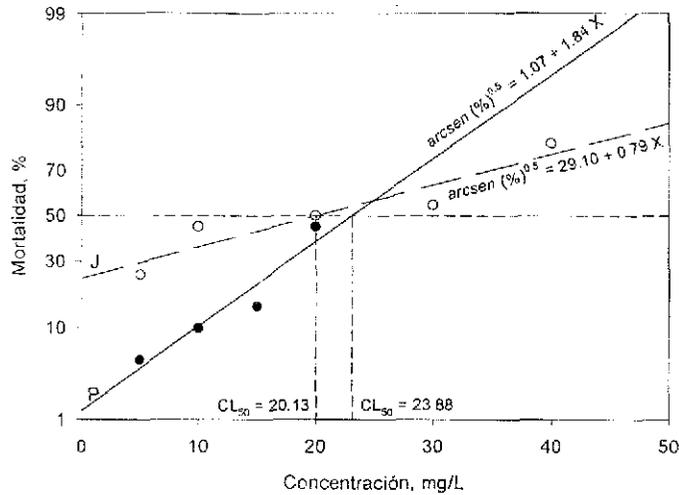


Fig.1. Toxicidad aguda del dodecil sulfato de sodio (DSS; mg/l) en postlarvas (-) y juveniles (---) de *Litopenaeus setiferus*. Se incluyen las ecuaciones de regresión lineal y los valores correspondientes de CL₅₀-96h

Los valores correspondientes a las concentraciones letales (10-90 %) obtenidas a las 96 h de exposición al DSS por el modelo $y = b + mx$, para las postlarvas (PL19) y los juveniles (PI.43) se señalan en la tabla 13.

Tabla 13. Concentración letal (10 a 90 % mortalidad) del DSS a las 96h de exposición, en las postlarvas y juveniles de *L. setiferus*. Se señalan valores promedio e Intervalo de confianza ($X \pm IC$).

CL	POSTLARVAS CL ± IC	JUVENILES CL ± IC
CL ₁₀	9.82 ± 6.78	-13.5 ± -21.86
CL ₂₀	13.69 ± 6.19	-3.21 ± 16.37
CL ₃₀	16.84 ± 7.84	5.20 ± 12.29
CL ₄₀	19.71 ± 10.27	12.83 ± 9.36
CL ₅₀	23.9 ± 12.97	20.13 ± 8.05
CL ₆₀	25.19 ± 15.84	27.43 ± 8.88
CL ₇₀	28.05 ± 18.93	35.06 ± 11.54
CL ₈₀	31.21 ± 22.41	43.47 ± 15.49
CL ₉₀	35.07 ± 26.74	53.76 ± 20.91

2. Fluido de perforación polimérico.

Para las pruebas de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD) del fluido polimérico se utilizaron postlarvas (PL 21) de 2.5 a 20.7 y de 3.2 a 18.2 mg PH, con pesos promedio de 7.73 ± 0.47 y 9.14 ± 0.42 mg PH ($X \pm ES$) respectivamente; ambos grupos presentaron pesos similares ($P > 0.05$).

En cuanto a los juveniles se utilizaron organismos con un peso de 7.8 a 50 y de 10.2 a 10.64 mg PH y con pesos promedio similares ($P > 0.05$) de 26.1 ± 0.1615 (PL44) y 30.4 ± 0.90 mg PH (PL45) ($X \pm ES$) para las pruebas de la FPS y FD, respectivamente.

Las variaciones en los parámetros fisicoquímicos registrados durante el transcurso de las pruebas se señalan en las tablas 14 y 15

Tabla 14. Variaciones de los parámetros fisicoquímicos durante el transcurso de las pruebas de toxicidad aguda de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD), en postlarvas de *L. setiferus*, respectivamente. Se incluyen valores mínimos y máximos (min-máx) y valores promedio ($X \pm ES$).

Parámetros	FPS		FD	
	(min-máx)	$X \pm ES$	(min-máx)	$X \pm ES$
Temperatura, °C	25.9-29.9	27.9 ± 0.2	26.2-29	27.6 ± 0.2
Salinidad, ups	27.0-34.0	30.5 ± 0.3	28.0-33.0	30.5 ± 0.3
Oxígeno disuelto, mgO ₂ /l	3.81-5.96	4.8 ± 0.2	4.14-6.92	5.53 ± 0.3
ph	7.29-8.32	7.8 ± 0.1	7.29-7.99	7.64 ± 0.01

Tabla 15. Variaciones de los parámetros fisicoquímicos, durante el transcurso de las pruebas de toxicidad aguda de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD) en juveniles *L. setiferus*, respectivamente. Se incluyen valores mínimos y máximos (min-max) y valores promedio ($X \pm ES$).

Parámetros	FPS		FD	
	(min-máx)	$X \pm ES$	(min-máx)	$X \pm ES$
Temperatura °C	26.5-29	27.7 ± 0.1	27.1-29.3	28.2 ± 0.2
Salinidad, ups	26.0-30.0	28 ± 0.2	28.3-30	29.15 ± 0.2
Oxígeno disuelto, mgO ₂ /l	3.36-5.76	4.56 ± 0.1	3.64-5.56	4.6 ± 0.2
pH	7-8.43	7.71 ± 0.1	7.78-8.5	8.14 ± 0.1

Mortalidad.

Los organismos de los grupos testigo, esto es, sin exposición a los tóxicos, no presentaron mortalidad a lo largo de los bioensayos, a excepción de los juveniles expuestos a la FD que presentaron una mortalidad de 5% al término de las pruebas.

La mortalidad acumulada en las diferentes concentraciones experimentales tanto de la fase de partículas suspendidas como de la fase disuelta del fluido polimérico para postlarvas y juveniles se presentan en las Tablas 16,17,18 y19. Las concentraciones de ambas fases se expresan en ppm, considerando la proporción establecida de 1% = 10 000 ppm (EPA, 1987).

Tabla 16 Mortalidad acumulada de las postlarvas de *L. setiferus* expuestos por 96 h a la FPS del fluido polimérico. n = número de organismos expuestos.

Tiempo, h	FASE DE PARTICULAS SUSPENDIDAS, ppm							
	0	25000	50000	100000	200000	400000	600000	800000
24	0	0	0	0	0	1	9	18
48	0	0	0	0	0	2	10	19
72	0	0	0	0	0	2	10	19
96	0	0	0	0	0	2	10	19
n	20	20	20	20	20	20	20	20

Tabla 17. Mortalidad acumulada de las postlarvas de *L. setiferus* expuestos por 96 h a la FD del fluido polimérico. n = número de organismos expuestos.

Tiempo, h	FASE DISUELTA ppm							
	0	10000	25000	50000	100000	200000	400000	600000
24	0	0	0	0	0	0	0	9
48	0	0	0	0	0	0	0	17
72	0	0	0	0	1	0	1	17
96	0	1	1	1	1	0	1	17
n	20	20	20	20	20	20	20	20

Tabla 18. Mortalidad acumulada de los juveniles de *L. setiferus* expuestos por 96 h a la FPS del fluido polimérico. n = número de organismos expuestos.

Tiempo, h	FASE DE PARTICULAS SUSPENDIDAS, ppm							
	0	25000	50000	100000	200000	400000	600000	800000
24	0	0	0	0	2	11	17	18
48	0	0	0	0	2	12	18	18
72	0	0	0	1	3	12	18	18
96	0	0	0	3	6	12	18	18
n	18	18	18	18	18	18	18	18

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Tabla 19. Mortalidad acumulada de las juveniles de *L. setiferus* expuestos por 96 h a la FD del fluido polimérico. n = número de organismos expuestos.

Tiempo, h	FASE DISUELTA, ppm						
	0	500	25000	50000	100000	150000	200000
24	0	0	0	3	7	9	13
48	0	0	1	4	10	13	14
72	0	0	1	4	10	13	14
96	1	2	2	6	10	13	14
n	20	20	20	20	20	20	20

A partir del modelo $y = b + mx$ se obtuvieron las ecuaciones que describen la mortalidad a las 96 h de las postlarvas y los juveniles *L. setiferus* expuestos a la FPS y a la FD del fluido polimérico base agua. En todos los casos las regresiones fueron significativas ($P < 0.05$) con coeficientes (r) elevados. (Tabla 20).

Tabla 20. Ecuaciones que describen la mortalidad en postlarvas y juveniles de *L. setiferus* a las 96h de exposición a las diferentes fases del fluido de perforación polimérico a partir del modelo $y = b + mx$ $Y = \% \text{ mortalidad (transformado por } \arcseno Y)$; $X = \text{concentración, ppm}$; $r = \text{coeficiente de correlación}$; FPS = fase de partículas suspendidas; FD = fase disuelta.

Estadio	Bioensayo	Edad	$Y = b + mx$	r
Postlarva	FPS	PL 21	$Y = 0.00015x + 41.13$	0.99 (s)
	FD	PL21	$Y = .00007x + 7.99$	0.80 (s)
Juvenil	FPS	PL 44	$Y = .00010x + 14.36$	0.99 (s)
	FD	PL 45	$Y = .00024x + 17.43$	0.98 (s)

s = regresión significativa

Para la fase de partículas suspendidas (FPS) el análisis de las regresiones obtenidas determinó diferencias significativas entre las pendientes y las ordenadas al origen ($p < 0.05$); es decir, la intensidad del efecto de la FPS en los juveniles es mayor que en las postlarvas; así mismo, los juveniles son más sensibles al efecto tóxico de la FPS que las postlarvas. (Fig 2). Este comportamiento se corrobora con los valores obtenidos de la CL_{50-96h} donde la toxicidad de la FPS en los juveniles es 19 veces mayor ($P < 0.05$) que en las postlarvas. (Tabla 21).

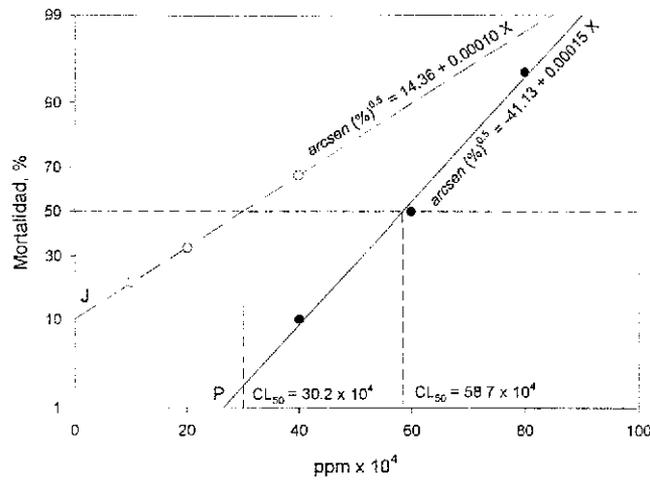


Fig 2. Toxicidad aguda de la fase de partículas suspendidas (FPS; ppm) en postlarvas (-) y juveniles (---) de *L. setiferus*. Se incluyen las ecuaciones de regresión lineal y los respectivos valores de CL₅₀-96h.

Tabla 21. Concentración letal media (CL₅₀ 96h ± IC) de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD) del fluido de perforación para las postlarvas y juveniles de *L. setiferus*. IC Intervalo de confianza (α = 0.05)

Estadio	Bioensayo	Edad	CL ₅₀ -96h ± I.C.
Postlarvas	FPS	PL 21	587 464 ± 112 801
	FD	PL21	535 081 ± 277 949
Juveniles	FPS	PL 44	302 019 ± 63 223
	FD	PL 45	114 458 ± 18 770

Los valores correspondientes a las concentraciones letales (10-90 % = 100 000- 900 000 ppm) obtenidas a las 96 h de exposición a la FPS y a la FD por el modelo $y = b + mx$, tanto para las postlarvas como para los juveniles de *L. setiferus*, se señalan en las tablas 22 y 23.

Tabla 22. Concentración letal (10 a 90 % mortalidad; ppm) de la FPS y de la FD (ppm) en las postlarvas de *L. setiferus*, a las 96h de exposición. Se señalan valores promedio e intervalo de confianza (CL ± IC).

CL ± IC	FPS	FD
CL ₁₀ ± IC	406268 ± 174360	155580 ± 186230
CL ₂₀ ± IC	461722 ± 147286	271725 ± 188123
CL ₃₀ ± IC	507052 ± 129367	366665 ± 209862
CL ₄₀ ± IC	548117 ± 117995	452674 ± 241141
CL ₅₀ ± IC	587463 ± 112801	535081 ± 277948
CL ₆₀ ± IC	626809 ± 113972	617488 ± 319112
CL ₇₀ ± IC	667874 ± 121773	703496 ± 365128
CL ₈₀ ± IC	713204 ± 136788	798437 ± 418323
CL ₉₀ ± IC	768658 ± 161566	914582 ± 485648

Tabla 23. Concentración letal (10 a 90 % mortalidad) de la FPS y de la FD (ppm) en los juveniles de *L. setiferus*, a las 96 h de exposición. Se señalan valores promedio e intervalo de confianza CL ± IC).

CL ± IC	FPS	FD
CL ₁₀ ± IC	40173 ± 10206	4168 ± 27405
CL ₂₀ ± IC	120310 ± 74727	37921 ± 21632
CL ₃₀ ± IC	185816 ± 59267	65513 ± 18493
CL ₄₀ ± IC	224516 ± 55636	90509 ± 17602
CL ₅₀ ± IC	302019 ± 63223	114458 ± 18764
CL ₆₀ ± IC	358877 ± 78565	138407 ± 21583
CL ₇₀ ± IC	418221 ± 99002	163402 ± 25706
CL ₈₀ ± IC	483728 ± 124169	190994 ± 31087
CL ₉₀ ± IC	563865 ± 156806	224747 ± 38332

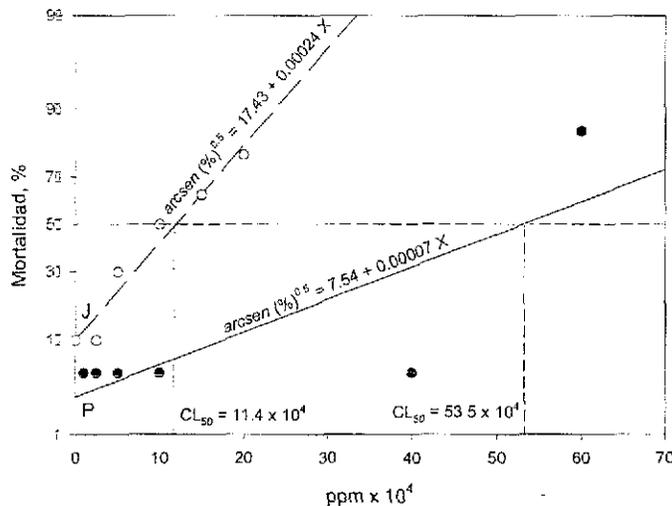


Fig.3. Toxicidad aguda de la fase disuelta (FD; ppm) en postlarvas (-) y juveniles (---) de *L. setiferus*. Se incluyen las ecuaciones de regresión lineal y los valores respectivos de las CL₅₀-96h.

De manera similar a lo observado con la FPS, los valores calculados de la CL_{50-96h} de la FD en las postlarvas y los juveniles de *L. setiferus* denotan que el efecto tóxico en los juveniles es 4.7 veces mayor ($P < 0.05$) que en las postlarvas de la especie (Tablas 20, 22 y 23).

Con respecto a la fase disuelta, se observa igualmente que la ordenada al origen y la pendiente de las regresiones obtenidas presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) siendo tanto la intensidad del efecto del tóxico como la sensibilidad al mismo, mayor en la etapa juvenil que en la postlarval (Tabla 20; Fig.3).

Al comparar el comportamiento tóxico de la fase de partículas suspendidas y la fase disuelta por estadio, para las postlarvas no se encontraron diferencias significativas entre las pendientes y las ordenadas al origen de las regresiones obtenidas de cada fracción (Tabla 20; Fig.4). De tal manera, tanto la intensidad del efecto de las dos fases como la sensibilidad del estadio a éstas es similar ($p > 0.05$). Lo anterior se corrobora con los valores de las CL_{50-96h} obtenidas para la FPS y la FD, donde el efecto tóxico de ambas fases es similar ($P > 0.05$) (Tabla 21; 22 y 23).

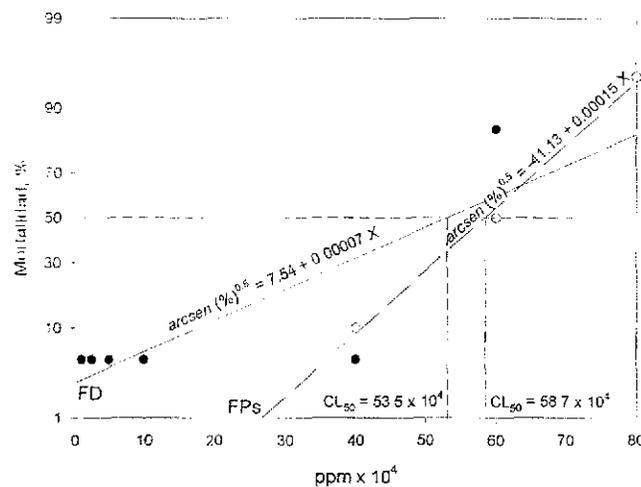


Fig.4. Toxicidad aguda de la fase de partículas suspendidas FPS;(-) y la fase disuelta:(-) en postlarvas de *L. setiferus*. Se incluyen las respectivas ecuaciones de regresión lineal y los valores de CL_{50-96h} .

En contraste, al comparar el comportamiento tóxico de la FPS y la FD en los juveniles de *L. setiferus* si bien las pendientes de las regresiones obtenidas son similares $Y = b + mx$ ($P > 0.05$) las

respectivas ordenadas al origen difieren entre si ($P < 0.05$). De tal manera, aunque la magnitud del efecto tóxico de ambas fases es similar ($P > 0.05$) los resultados señalan que la sensibilidad de los juveniles a la FD es mayor ($P < 0.05$) que a la FPS (Tabla 20; Fig. 5).

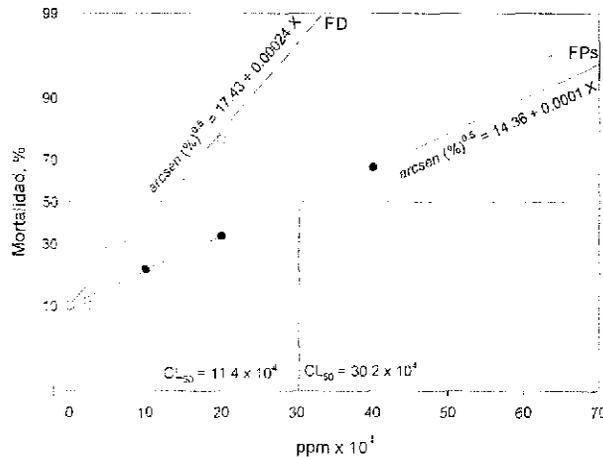


Fig.5. Toxicidad de la FPS (-) y la FD (---) en los juveniles de *L. setiferus*. Se incluyen las ecuaciones respectivas de regresión lineal y los respectivos valores de CL_{50-96h}

Asimismo, los valores obtenidos de las CL_{50-96h} denotan que en los juveniles, la FD es 2.6 veces más tóxico ($P < 0.05$) que la FPS del fluido polimérico base agua (Tabla 22).

C.- Pruebas de Toxicidad crónica.

Con base en los resultados obtenidos en las pruebas de letalidad, el efecto tóxico del fluido de perforación polimérico base agua es mayor en los juveniles de *L. setiferus*. De tal manera la evaluación del efecto crónico de concentraciones subletales de la FPS y la FD del fluido se abordó en este estadio

Las variaciones de los parámetros fisicoquímicos registrados durante el transcurso de los bioensayos del efecto tóxico de la fase de partículas suspendidas y de la fase disuelta, se señalan

en la tabla 24. Cabe mencionar que los parámetros permanecieron constantes a lo largo de las pruebas. ($P>0.05$).

Tabla 24. Variaciones de los parámetros fisicoquímicos durante el transcurso de las pruebas de toxicidad crónica de la fase de partículas suspendidas (FPS) y la fase disuelta (FD) en juveniles de *L. setiferus*. Se incluyen valores mínimos y máximos (mín-máx), valores promedio y el error estándar.

Parámetros	min-max	X ± ES
Temperatura °C	27-28.5	28 ± .07
Salinidad, ups	27-29	28.01 ± .05
Oxígeno disuelto, mgO ₂ /l	3-6.1	4.5 ± .05
pH	7.8-8.8	8.20 ± .03

Mortalidad.

Los organismos del testigo, así como los expuestos a la fase de partículas suspendidas (10 000 ppm) y la fase disuelta (10 000 y 5000 ppm) no presentaron mortalidad a lo largo del bioensayo. Sin embargo en los camarones expuestos a la concentración de 50 000 ppm de la FPS, la mortalidad fue del 9.5% al término de los 15 días (Tabla 25).

Tabla 25. Mortalidad (%) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico.

Concentración, ppm	Mortalidad %
Testigo 0	0
FPS 10 000	0
FPS 50 000	9.5
FD 10 000	0
FD 50 000	0

a. Balance hídrico.

El contenido corporal de agua de los juveniles de *L. setiferus* se incrementó ($P<0.5$) por la exposición a la fase particulada del fluido (Tabla 26 Fig 6). Los camarones presentaron una hidratación significativa del 4.2 y 3.0% en 10 000 ppm y 50 000 ppm respecto al grupo testigo. En contraste la exposición a las dos concentraciones de la FD no modificó el contenido corporal de agua de los camarones ($P>0.05$).

Tabla 26 Contenido corporal de agua (%) así como relación de pesos al inicio (húmedo, gPH; seco, gPS) y al término (PHf ; PSf) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm E.S.$)

Concentración, ppm	PHi, g $X \pm E.S.$	PSi, g $X \pm E.S.$	PHf, g $X \pm E.S.$	PSf, g $X \pm E.S.$	(%) $X \pm E.S.$
Testigo, 0	15.3 \pm 1.4	4.5 \pm 0.2	27.6 \pm 1.5	6.6 \pm 0.3	75.5 \pm 0.006 ^a
FPS 10 000	15.7 \pm 1.1	4.6 \pm 0.2	24.7 \pm 2.5	5.5 \pm 0.6	78.7 \pm 0.004 ^{bc}
FPS 50 000	15.7 \pm 1.3	4.6 \pm 0.2	26.4 \pm 2.0	5.5 \pm 0.4	77.8 \pm 0.003 ^{bc}
FD 10 000	18.2 \pm 1.2	5.0 \pm 0.2	28.9 \pm 2.3	6.6 \pm 0.6	76.9 \pm 0.003 ^{ac}
FD 50 000	17.4 \pm 1.0	4.9 \pm 0.2	32.4 \pm 2.7	7.5 \pm 0.6	77.5 \pm 0.006 ^{ac}

Superíndices diferentes en las columnas denotan diferencias significativas

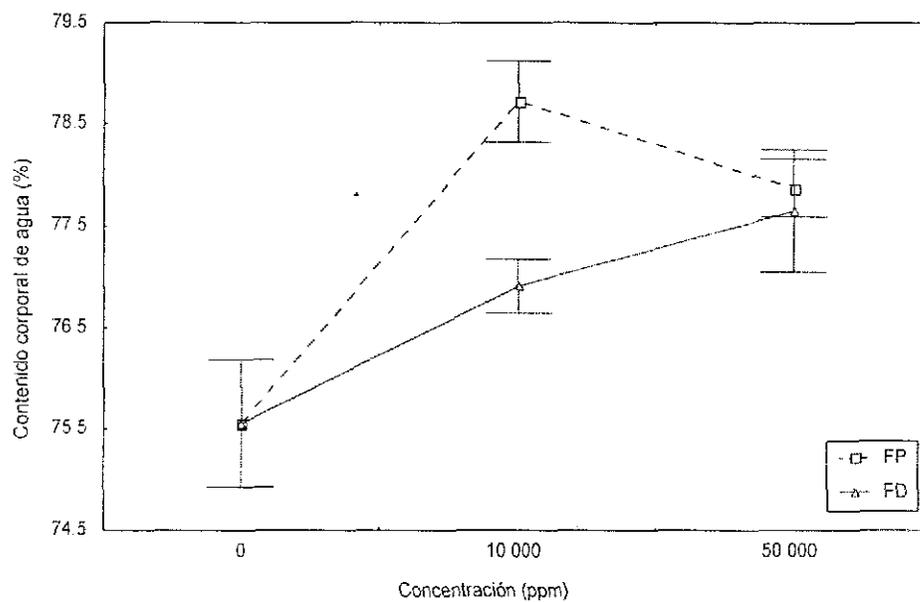


Fig. 6 Contenido corporal de agua (%) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar

b. Consumo de oxígeno y excreción nitrogenada

El consumo de oxígeno peso específico de los juveniles de *L. setiferus* ($\text{mg O}_2 \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{PS}$) incrementó significativamente ($P < 0.05$) sólo por la exposición a 50 000 ppm de la fase de partículas suspendidas con un aumento del 104 % en la tasa respiratoria con respecto al grupo testigo (Tabla 27, Fig.7). La menor concentración de la FPS así como ambos niveles de la FD, no modificaron significativamente la tasa respiratoria de los camarones.

Los resultados obtenidos de la excreción nitrogenada ($\text{mg N-NH}_4\text{.d}^{-1}\text{.g}^{-1}\text{.PS}$) de los camarones se señalan en la Tabla 27 y en la Fig.8. Al igual que con la tasa respiratoria, la tasa de excreción de amonio fue modificada ($P<0.05$) sólo por la exposición a la mayor concentración (50 000 ppm) de la FPS; se observó un incrementó del 366 % ($P<0.05$) con respecto al grupo testigo. En las demás concentraciones experimentales no se observaron cambios significativos ($P>0.05$).

Tabla 27. Tasas de consumo de oxígeno y de excreción nitrogenada de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm \text{E.S.}$).

Concentración ppm	$\text{mg O}_2\text{.d}^{-1}\text{.g}^{-1}\text{.PS}$	$\text{mg N-NH}_4\text{.d}^{-1}\text{.g}^{-1}\text{.PS}$
Testigo, 0	80.0 ± 9.1^a	0.079 ± 0.019^a
FPS 10 000	65.2 ± 7.1^a	0.129 ± 0.023^a
FPS 50 000	163.6 ± 22.6^b	0.371 ± 0.091^b
FD 10 000	75.9 ± 8.7^a	0.111 ± 0.028^a
FD 50 000	101.9 ± 16.6^a	0.149 ± 0.055^a

Superíndices diferentes en las columnas denotan diferencias significativas, $P<0.05$

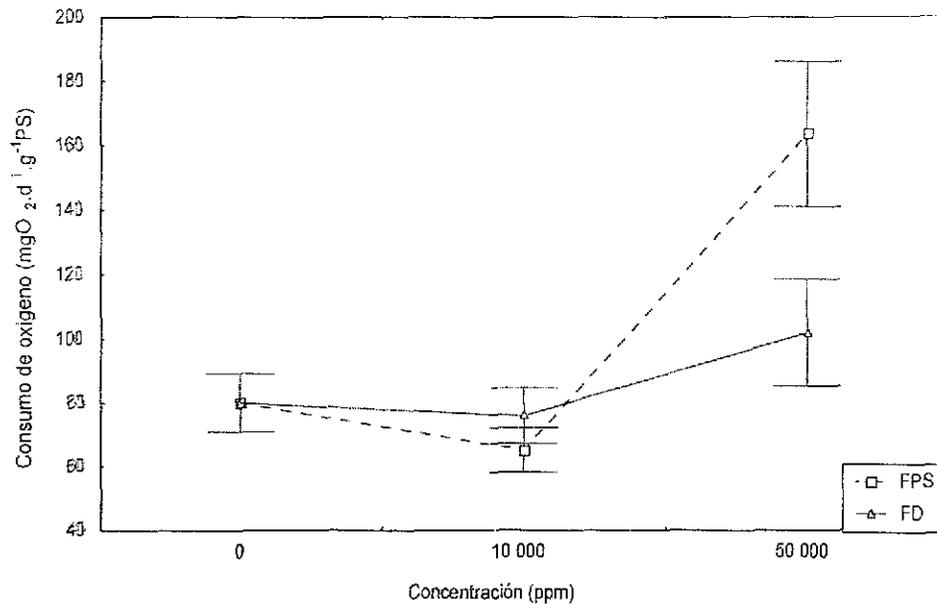


Fig 7 Consumo de Oxígeno ($\text{mgO}_2 \text{ d}^{-1}\text{g}^{-1}\text{PS}$) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

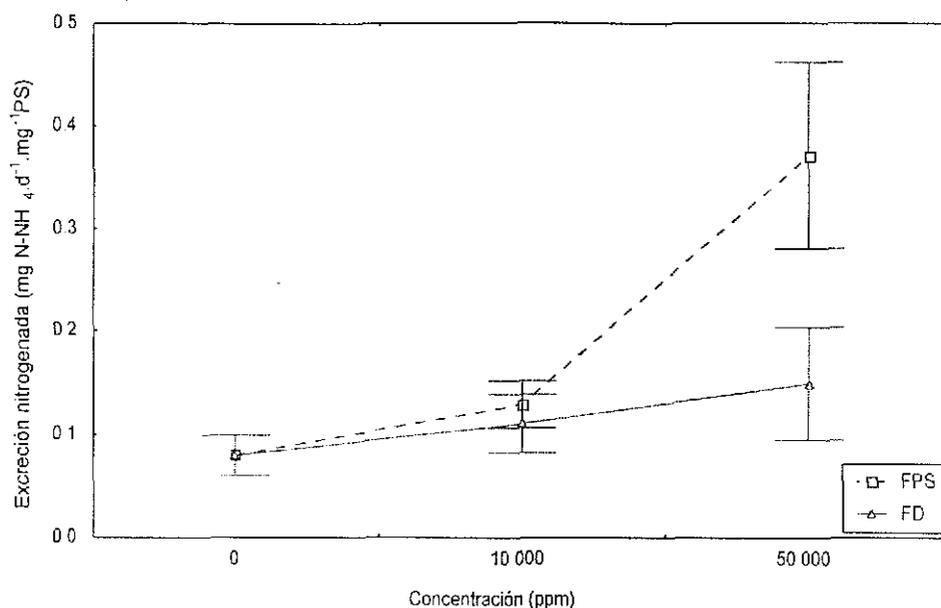


Fig 8 Excreción nitrogenada ($\text{mg N-NH}_4^+ \text{d}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{PS}$) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar.

d. Relación atómica O/N.

A partir de los resultados del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada de los juveniles de *L. setiferus* se calculó la relación atómica O/N el cual es un índice del sustrato energético utilizado por los organismos (Mayzaud, 1988). (Tabla 28; Fig. 9).

Los resultados obtenidos denotan que los camarones del grupo testigo ($\text{O/N} = 59.81 \pm 5.59$) utilizan como sustrato energético una mezcla en proporciones similares de proteínas y lípidos. Si bien la exposición a la fracción disuelta del fluido no modificó la razón O/N ($P > 0.05$) los valores obtenidos sugieren una mayor utilización de proteínas que de lípidos. En contraste, a 10 000 y 50 000 ppm la fracción de partículas suspendidas redujo la razón O/N en un 47.2 y 54.0 % respectivamente ($P < 0.05$) respecto al grupo testigo. De tal manera la exposición crónica a concentraciones subletales de la FPS modificó el sustrato energético utilizado por los camarones con una mayor proporción de proteínas empleadas con fines energéticos que de lípidos.

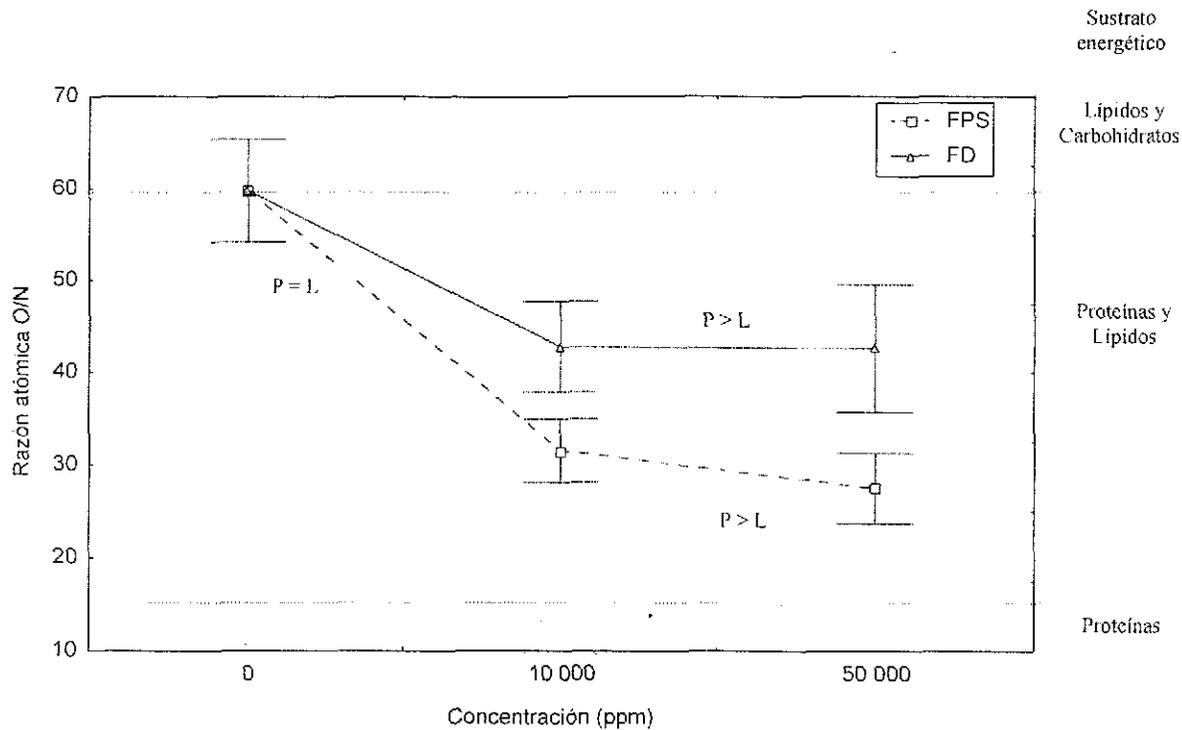


Fig. 9 Relación atómica O/N de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar.

Tabla 28 Relación O/N de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm E.S.$)

Concentración, ppm	O/N
Testigo, 0	59.8 ± 5.6 ^a
FPS 10 000	31.5 ± 3.4 ^b
FPS 50 000	27.5 ± 3.8 ^b
FD 10 000	42.8 ± 4.9 ^{ab}
FD 50 000	42.7 ± 6.9 ^{ab}

Superíndices diferentes en las columnas denotan diferencias significativas, $P < 0.05$

e. Crecimiento absoluto y Crecimiento relativo.

La tasa de crecimiento absoluto (C; mg PS d⁻¹) y de crecimiento relativo (CR, %) de los juveniles de *L. setiferus*, se señalan en La Tabla 29 y la figura 10 y 11. En cuanto al crecimiento absoluto no se observaron alteraciones significativas en relación al grupo testigo ($P > 0.05$), sin embargo los valores obtenidos denotan una reducción en el crecimiento del 55, 57 y 26% en los grupos expuestos a 10 000 y 50 000 ppm de la FPS y 10 000 ppm de la FD respectivamente. Contrario a

lo esperado los camarones expuestos a 50 000 ppm de la FD presentaron un incremento del 25 5% en la tasa de crecimiento.

La exposición a las diferentes fases del fluido de perforación no alteró ($P>0.05$) el crecimiento relativo de los camarones (Tabla 28; Fig.11) Sin embargo, respecto al grupo testigo el crecimiento relativo tiende a disminuir 56% en los camarones expuestos a FPS (10 000 y 50 000 ppm) y 28% en los expuestos a 10 000 ppm de la FD; en contraste el crecimiento relativo de los organismos expuestos a 50 000 ppm de la FD, tiende a incrementarse 26% en relación al grupo testigo.

Tabla 29. Tasa de crecimiento absoluto (C; mg PS d⁻¹) y crecimiento relativo (CR %) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm E.S.$).

Concentración ppm	C, mg PS d ⁻¹	CR, %
Testigo, 0	0.14 ± 0.01 ^{ab}	43 ± 5.2 ^a
FPS, 10 000	0.06 ± 0.02 ^a	19 ± 12.5 ^a
FPS 50 000	0.06 ± 0.03 ^a	19 ± 8.1 ^a
FD 10 000	0.09 ± 0.03 ^{ab}	31 ± 11 ^a
FD 50 000	0.18 ± 0.04 ^b	54 ± 13.4 ^a

Superíndices diferentes en las columnas denotan diferencias significativas

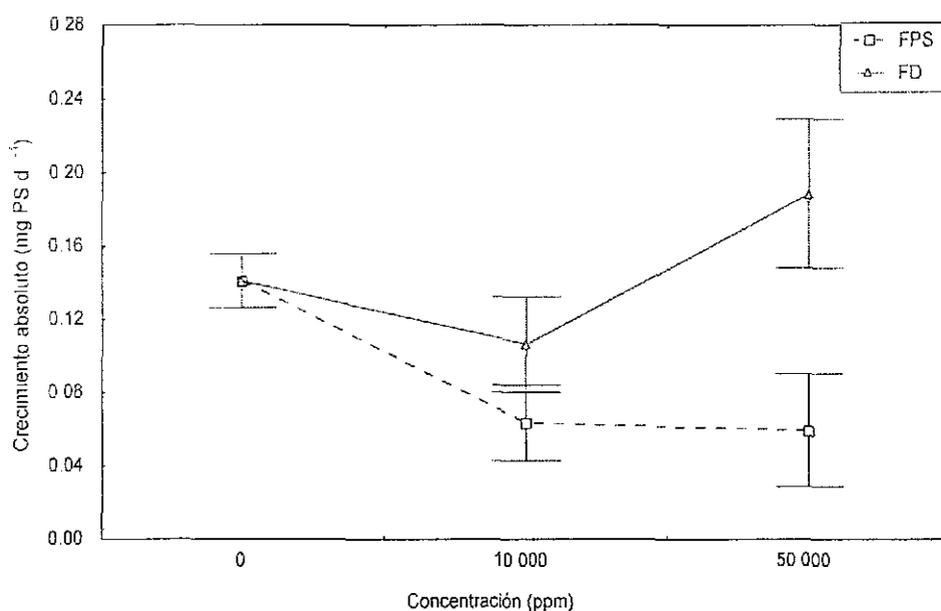


Fig. 10 Crecimiento absoluto (mg PS d⁻¹) relacionado al peso seco de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio.

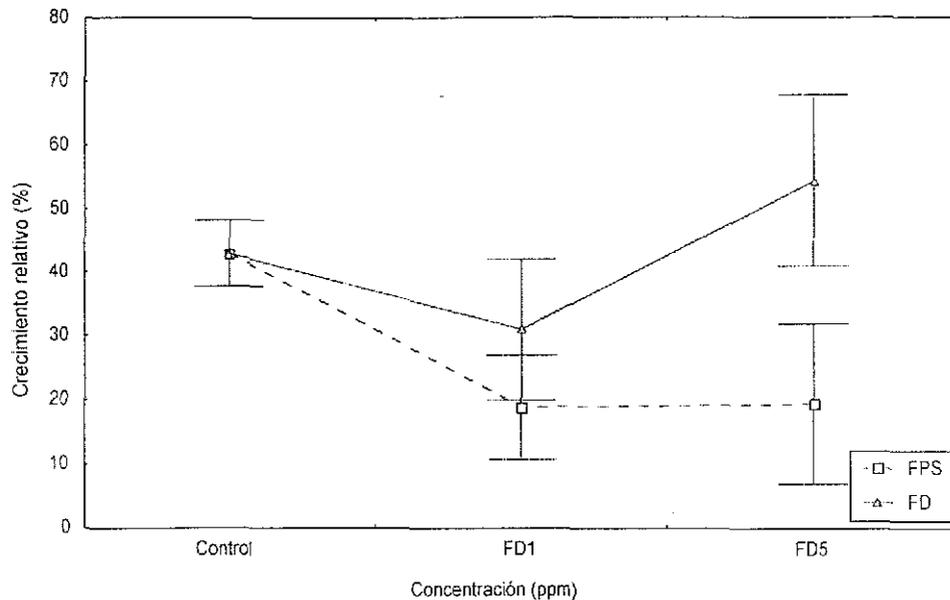


Fig. 11 Crecimiento relativo (%) relacionado al peso seco de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio.

Balance energético

a. Energía absorbida (Ab).

La energía absorbida a partir del alimento ingerido en los juveniles de *L. setiferus* se calculó a partir de la sumatoria de la energía empleada en la respiración (R), la incorporada en el crecimiento (C) y la perdida en la excreción de amonio (N) (Tabla 30). Los correspondientes valores energéticos de la respiración y la excreción de amonio se calcularon tomando en cuenta los coeficientes oxicalóricos y nitrocalóricos respectivos. La tasa energética del crecimiento se estimó considerando el contenido calórico de los organismos de cada grupo experimental al inicio ($\text{cal}_i \text{ ind}^{-1}$) y al término ($\text{cal}_f \text{ ind}^{-1}$) de los bioensayos y el incremento diario de la biomasa ($\text{g PS d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$) (Anexo 2).

La energía absorbida por los camarones del grupo testigo fue de $560.12 \text{ cal d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$ (Tabla 30, Fig. 12). La exposición al fluido de perforación alteró la energía absorbida por los organismos ($P < 0.05$). La exposición a 10 000 ppm de la fase particulada redujo la energía absorbida por los camarones en un 49% respecto al grupo testigo ($P < 0.05$). En contraste, la exposición a la mayor concentración (50 000 ppm FPS) no modificó la respuesta ($P > 0.05$).

De manera similar, la exposición a 10 000 ppm de la fase disuelta redujó la absorción 42% respecto al grupo testigo ($P < 0.05$), sin embargo en los camarones expuestos a 50 000 ppm la energía absorbida fue 60 % mayor que el grupo testigo ($P < 0.05$).

Cabe señalar que no se observaron diferencias significativas entre los grupos expuestos a la menor concentración de ambas fases ($P > 0.05$). No obstante en los camarones expuestos a 50 000 ppm de la FD la energía absorbida fue 79% mayor que la observada en los expuestos a la FPS en una concentración similar ($P < 0.05$).

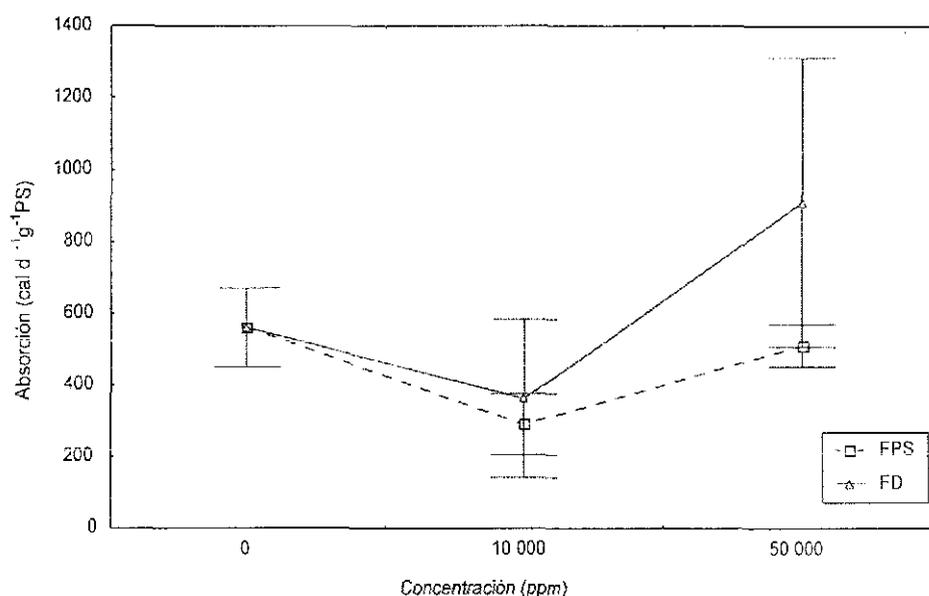


Fig.12. Absorción (cal d⁻¹ g⁻¹ PS) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio.

Tabla 30. Energía absorbida (Ab cal d⁻¹ g⁻¹ PS) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Ab = R + N + C ; R = Respiración, N = Excreción de amonio y C = Crecimiento. Se señalan valores promedio y el error estándar (X ± E.S.).

Concentración, ppm	C	R	N	Abs
Testigo, 0	294.04 ± 30.64 ^a	266.21 ± 30.13 ^a	0.473 ± 0.11 ^a	560.12 ± 30.64 ^a
FPS 10 000	72.68 ± 19.67 ^b	217.26 ± 23.44 ^a	0.767 ± 0.13 ^{ab}	289.87 ± 19.67 ^b
FPS 50 000	-34.59 ± 15.19 ^b	545.37 ± 74.92 ^b	2.21b ± 0.54 ^{bc}	510.71 ± 15.19 ^a
FD 10 000	40.33 ± 28.95 ^b	252.94 ± 28.99 ^a	0.658 ± 0.17 ^a	293.16 ± 28.95 ^b
FD 50 000	540.12 ± 91.00 ^c	339.42 ± 55.07 ^a	0.887 ± 0.32 ^{ab}	879.37 ± 91.00 ^c

Superíndices diferentes en las columnas denotan diferencias significativas

b. Energía ingerida.

La energía ingerida a través del alimento por los camarones (I), se estimó indirectamente a partir de los resultados obtenidos en la energía absorbida del alimento (Ab) y la eficiencia con la que fue absorbida (E. Ab.).

La eficiencia de absorción (%) del alimento ingerido por los camarones del grupo testigo fue del 85% (Tabla 31; Fig 13) . La mayor eficiencia de absorción se observó en los grupos expuestos en las dos concentraciones de la fase particulada , con incrementos del 6 y 7 % respecto al testigo (P < 0.05); no se presentaron diferencias significativas entre los organismos expuestos a las dos concentraciones (P >0.05).

Solo en los camarones expuestos a 10 000 ppm FD, la eficiencia de absorción se incrementó respecto al grupo testigo en un 3% (P < 0.05), en los organismos expuestos en la fase particulada la eficiencia de absorción fue 3 a 4% mayor que los expuestos a la fase disuelta (P < 0.05).

Tabla 31. Eficiencia de absorción (E.Abs.; %) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y error estándar. (X ± E.S.)

Concentración, ppm	E.Abs.; %
Testigo, 0	85.39 ± 0.670 ^a
FPS 10 000	90.93 ± 0.416 ^b
FPS 50 000	90.70 ± 0.425 ^b
FD 10 000	88.06 ± 0.544 ^c
FD 50 000	87.02 ± 0.593 ^{ac}

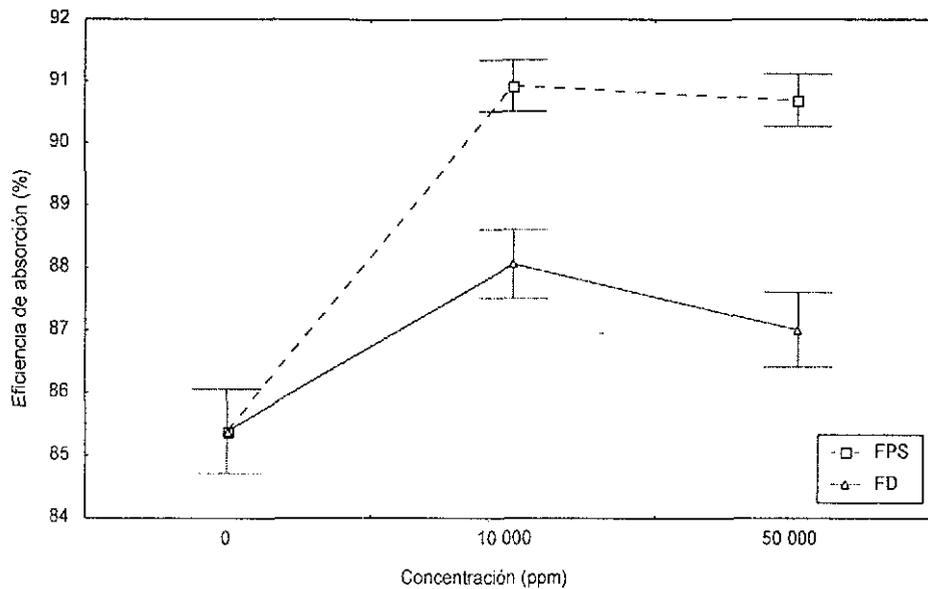


Fig. 13. Eficiencia de absorción (%) de los juveniles de *L.setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar

La energía ingerida por los camarones del grupo testigo, correspondió a $629 \text{ cal d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$. (Tabla 32; Fig. 14).

El comportamiento de la energía ingerida en los camarones expuestos al fluido de perforación fue similar al descrito previamente para la energía absorbida.

La energía ingerida por los camarones expuestos en la menor concentración de ambas fases (10 000 ppm) se redujó de manera similar (49 %) respecto al grupo testigo ($P < 0.05$). No obstante en 50 000 ppm FPS, la energía ingerida no fue modificada por la exposición ($P > 0.05$).

En contraste, en los camarones expuestos en 50 000 ppm FD, la energía ingerida fue 60.5% mayor que la observada en el grupo testigo ($P < 0.05$).

Tabla 32. Energía ingerida (I ; $\text{cal d}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PS}$) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y error estándar. ($X \pm \text{E.S.}$)

Concentración, ppm	I , $\text{cal d}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PS}$
Testigo, 0	629.48 ± 45.47^a
FPS 10 000	318.79 ± 21.63^b
FPS 50 000	563.08 ± 16.75^a
FD 10 000	312.33 ± 35.91^b
FD 50 000	1010.53 ± 104.58^c

Suprín­dices diferentes en las columnas denotan diferencias significativas

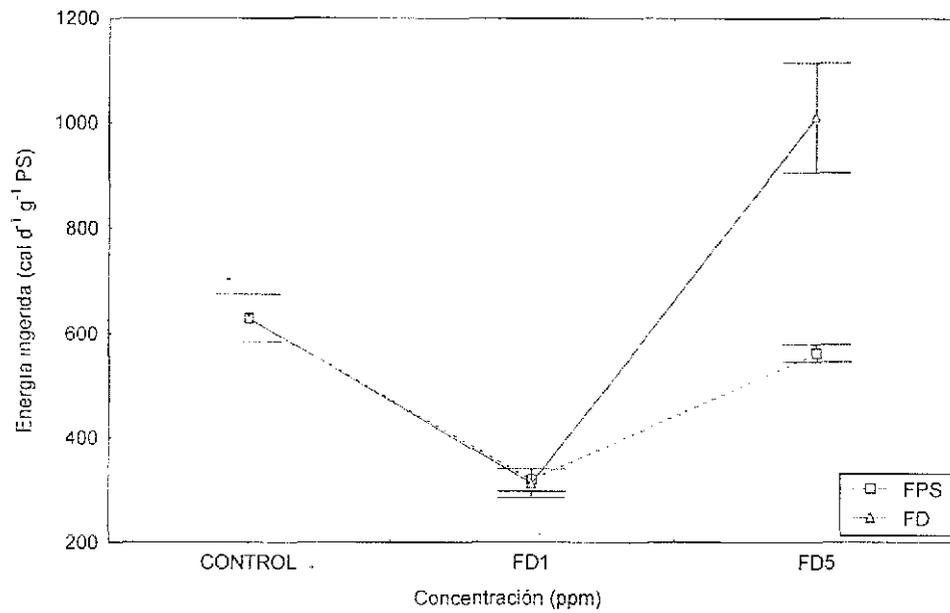


Fig 14. Energía ingerida (I ; $\text{cal d}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PS}$) por los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se grafican valores promedio y error estándar.

IV. DISCUSIÓN

A. Pruebas de Toxicidad aguda

1. Dodecil sulfato de sodio.

El análisis de covarianza efectuado en las postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus* expuestos al dodecil sulfato de sodio (DSS) determinó que no existen diferencias significativas entre las pendientes de las regresiones obtenidas para el estadio postlarval y el juvenil ($p > 0.05$) lo cual establece que la magnitud del efecto tóxico agudo del dodecil sulfato de sodio es similar en ambos estadios; a su vez, los valores de CL_{50} 96h obtenida para ambos estadios fue similar lo cual corrobora que la tolerancia al tóxico de referencia es independiente del estadio de desarrollo. No obstante las diferencias significativas ($p < 0.05$) observadas entre las ordenadas al origen de las regresiones efectuadas denotan que solo en bajas concentraciones el efecto tóxico agudo es mayor en juveniles que en las postlarvas de la especie.

Al respecto, se ha establecido y observado de manera general que los estadios tempranos de desarrollo en la mayoría de los crustáceos son más sensibles al efecto de cualquier xenobiótico (Whiting *et al.*, 1996). Sin embargo, diversos estudios señalan que en algunos casos el estadio juvenil es más sensible que el estadio postlarval (Piña, 2001), lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio. Sin embargo la mayor sensibilidad de los juveniles de *L. setiferus* observada en las menores concentraciones del DSS es posible explicarla considerando dos aspectos: por un lado es posible suponer que los juveniles de la especie estudiada al presentar una mayor actividad osmoregulatoria que las postlarvas se favorece una mayor incorporación del DSS. Por otra parte el estadio postlarval tiene una mayor actividad metabólica que el estadio juvenil lo cual permite suponer procesos de desintoxicación más activos y en consecuencia una mayor tolerancia al tóxico de referencia. Al incrementarse las concentraciones del DSS la acción tóxica de este surfactante aniónico aparentemente es similar en las postlarvas y juveniles de *L. setiferus*. Es posible suponer un efecto tóxico del DSS en los crustáceos similar al descrito en peces. Al respecto, se considera que la principal causa de muerte es la reducción en la tensión superficial inducida por el detergente, lo cual modifica la permeabilidad de los epitelios

branquiales, altera los procesos de intercambio iónico y gaseoso (Espina *et al.*, 1986) y destruye el epitelio branquial e intestinal (Bierkens *et al.*, 1998; Ribelles *et al.*, 1995).

Los valores obtenidos de la CL_{50-96h} en las postlarvas y juveniles de *L. setiferus* son similares a los reportados para *Daphnia magna* de 25.4 ppm en un menor tiempo de exposición al DSS (48h) (Martínez-Jerónimo y García, 1994); a su vez se observan diferencias hasta de 10 ordenes de magnitud con otras especies de crustáceos (Tabla 34). Estos resultados sugieren que en las postlarvas y juveniles de *L. setiferus* el efecto tóxico agudo del DSS es menor que en otros crustáceos.

Los resultados obtenidos en *L. setiferus* sugieren una mayor resistencia de la especie al efecto adverso de los tóxicos ambientales que otras especies de crustáceos, de mayor sensibilidad. El que *L. setiferus* haya presentado una menor sensibilidad al tóxico comparándola con otras especies puede deberse a factores intrínsecos como la diversidad genética entre especies.

Tabla 33. Concentración letal media (CL_{50-96h}) en distintos crustáceos expuestos al tóxico de referencia dodecil sulfato de sodio. Se incluyen los respectivos tiempos de exposición (t, h) y el estadio evaluado. A-Adulto, J-Juvenil y P-Postlarva

Especie	Estadio	CL_{50} ppm (mg/l)	t, h	AUTOR
<i>Mysidopsis almyra</i>	J	3-10	48	Anderson, 1974.
<i>Mysidopsis bahia</i>	J	5.4	96	Duke <i>et al.</i> , 1984
<i>Mysidopsis bahia</i>	J	4-9	96	Parrish y Macauley, 1986
<i>Daphnia magna</i>	Neonatos	25.4	48	Martínez-Jeronimo J. y R García 1994
<i>Ceriodaphnia pulex</i> y <i>Simoccephalus vetulus</i>	Neonatos	8.6-4.5	48	Muñoz, 1997
<i>Mysidopsis bahia</i>	J	34	48	Whiting <i>et al.</i> , 1996
<i>Litopenaeus setiferus</i>	PL	26-27	96	El presente estudio

2. Fluido polimérico. Fase de Partículas Suspensas y Fase Disuelta.

Los resultados obtenidos del comportamiento tóxico agudo del fluido polimérico denota que los juveniles de *Litopenaeus setiferus* son más sensibles que las postlarvas de la especie tanto a la FPS como a la FD del fluido de perforación. Las CL_{50-96h} obtenidas señalan que en los juveniles del camarón blanco la FPS y la FD son 1.94 y 4.64 veces más tóxico que en las postlarvas.

Como se mencionó anteriormente es posible suponer que la mayor sensibilidad del estadio juvenil sea debido a que posee una mayor actividad osmoregulatoria con lo que podría estar incorporando mayor cantidad del fluido que el estadio postlarval; a su vez este último presenta una mayor actividad metabólica lo cual favorecería su capacidad de desintoxicación.

En condiciones normales los organismos canalizan su energía hacia la obtención de alimento y la manutención de procesos metabólicos incluyendo el crecimiento y la reproducción dependiendo del estadio (Randall, 1997). En presencia de un tóxico, el organismo canaliza parte de su energía a procesos de desintoxicación y frecuentemente tiende a reducir su actividad (Hodgson y Levi, 1987). En el caso de los juveniles de *L. setiferus* durante los bioensayos, los juveniles presentaron una mayor actividad (nado) y fue evidente un comportamiento de escape mayor (saltos continuos). De tal manera es muy probable que en este estadio haya un gasto energético adicional en actividad (movimiento continuo, escape), aunado a una mayor incorporación del tóxico del medio externo, resultando en un mayor deterioro fisiológico.

Al comparar por estadio la toxicidad de la fase de partículas suspendidas y la fase disuelta, el efecto tóxico de las dos fracciones en las postlarvas es similar, lo cual se corrobora con los valores de la CL_{50-96h} de 53.5 y 58.7 x 10⁴ ppm para la fase disuelta y la fase particulada respectivamente.

En contraste, en los juveniles de la especie si bien la magnitud del efecto tóxico de la FPS y la FD son similares (pendientes similares de las regresiones obtenidas) la sensibilidad de los organismos a la FD es mayor (diferentes ordenadas al origen de las regresiones obtenidas); lo anterior se ve reflejado en las CL_{50-96h} cuyos valores denotan que la FD es 2.64 veces más tóxica que la FPS.

Diversos trabajos sobre el efecto tóxico de las fases de distintos fluidos de perforación base agua en postlarvas y adultos de crustáceos, mencionan una mayor toxicidad de la fase de partículas suspendidas que la fase disuelta. Al respecto, Bookhout *et al.*, (1984) obtuvieron en larvas de *Callinectes sapidus* expuestas por 48h a una concentración de 50 000 ppm de la fase particulada de un fluido lignosulfonato, una sobrevivencia de 4% mientras que en las expuestas a la fase

disuelta (tomada después de 20h de sedimentación) la sobrevivencia fue mayor del 8.7% en la misma concentración. En adultos de *Acartia tonsa*, se obtuvo una CL_{50-96h} de 0.39g/l para la fase sobrenadante (preparada al mezclar el fluido con agua de mar y tomando el sobrenadante después de 1 hora de sedimentación) y una CL_{50-96h} de 0.44 g/l para esta misma fase tomada después de 3 días de sedimentación.(Derby y Capuzzo, 1985). Los autores proponen que la mayor toxicidad de la fase particulada en relación a la fase disuelta obedece a una mayor adsorción de compuestos tóxicos en los componentes arcillosos de la fase particulada la cual es incorporada por los organismos (Derby y Capuzzo, 1985).

Para determinar el efecto tóxico de mezclas químicas, se requiere considerar los procesos de transformación y transporte de un químico de carácter complejo, como lo es el caso de los fluidos de perforación. (Libes, 1992, Rand y Petrocelli, 1985). En el presente estudio, la fase disuelta se obtuvo al centrifugar la fase de partículas suspendidas, por lo que su dilución es alta ya que la mayor parte de partículas son eliminadas. Al respecto Hodgson y Levi (1987) señalan que la dilución de un tóxico incrementa la entrada de éste al interior del organismo ya que cuando un elemento se encuentra en una forma química soluble (como la fase disuelta) es más fácilmente absorbido y distribuido al interior del organismo en el cual ejerce su impacto. En contraste, en los bioensayos de la fase de partículas suspendidas, es posible suponer una mayor adsorción de los componentes disueltos (ejem. metales pesados) a fracciones particuladas del fluido (ej.arcillas) lo cual puede reducir la biodisponibilidad de los componentes tóxicos y por lo tanto su efecto tóxico. (Gitipour *et al.*, 1998).

Así, la mayor toxicidad de la fase disuelta con respecto a la fase de partículas suspendidas en los juveniles de *Litopenaeus setiferus* puede relacionarse con una mayor incorporación de los tóxicos disueltos al interior del organismo a través de las superficies permeables. Así mismo, la elevada actividad de los juveniles durante los bioensayos, pudo incrementar a su vez la ventilación y difusión o el transporte de los componentes tóxicos de la fase disuelta o soluble al interior del organismo.

Tabla 34. Valores de CL_{50} de distintos tipos de fluidos de perforación base agua en diferentes especies de crustáceos. Se incluye el tiempo de exposición (t,h) y el estadio de vida (pl = postlarva; j = juvenil; a = adulto).

Tipo de Fluido	Especie	Estadio	CL_{50}	t, h	Fuente
G1 Polimérico KCl	<i>Mysidopsis bahia</i>	J	27,000	96	Jones <i>et al.</i> , 1986
G2 Lignosulfonato-H ₂ O mar	<i>Mysidopsis bahia</i>	J	516,000	96	Jones <i>et al.</i> , 1986
G3 Caliza	<i>Mysidopsis bahia</i>	J	163,000	96	Jones <i>et al.</i> , 1986
G4 Polimérico no disperso	<i>Mysidopsis bahia</i>	J	>1,000,000	96	Jones <i>et al.</i> , 1986
G5-"SPUD"	<i>Mysidopsis bahia</i>	J	>1,000,000	96	Jones <i>et al.</i> , 1986
G6 Gel-H2= marina- dulce	<i>Mysidopsis bahia</i>	J	>1,000,000	96	Jones <i>et al.</i> , 1986
G7 Ligeramente tratado con lignosulfonato	<i>Mysidopsis bahia</i>	J	654,000	96	Jones <i>et al.</i> , 1986
G8 Lignosulfonato H ₂ O dulce	<i>Mysidopsis bahia</i>	J	293,000	96	Jones <i>et al.</i> , 1986
Lignosulfonato H ₂ O mar- dulce	<i>Mysidopsis bahia</i>	J	24 800	96	Gaetz <i>et al.</i> , 1986
Lignosulfonato H ₂ O mar- dulce	<i>Branchistoma caribaeum</i>	A	>100 000	24	Clark y Patrick 1987
Tratado con Lignosulfonato	<i>Branchistoma caribaeum</i>	A	260 000	24	Clark y Patrick 1987
G7 Ligeramente tratado con lignosulfonato	<i>Mysidopsis sp</i>	J	>1000 000	96	Bland <i>et al.</i> , 1987
	<i>Homarus americanus</i>	pl	117-190	96	Derby y Capuzzo, 1984
Polimérico base-agua	<i>Litopenaeus setiferus</i>	pl	FPS 588,300 ppm FD 501,000 ppm	96	El presente estudio.
Polimérico base-agua	<i>Litopenaeus setiferus JUV</i>	pl	FPS 303,100 ppm FD 113,500 ppm	96	El presente estudio.

Los valores de la CL_{50} del fluido polimérico encontrados en el presente estudio son similares a los reportados por otros autores en otras especies de crustáceos para diversos fluidos genéricos (Tabla 34). Así, la CL_{50} obtenida en las postlarvas de *L. setiferus* es similar a la reportada para *Mysidopsis bahia* (516 000 ppm), en pruebas con el fluido genérico 2, mientras que la CL_{50} reportada para juveniles tanto para la FPS como la FD son similares a la encontrada con *M. bahia*

con los fluidos genéricos 3 (163 000 ppm) y 8 (293 000 ppm). Sin embargo, no es posible establecer comparaciones en cuanto al comportamiento tóxico de los fluidos ya que la composición de todos ellos es distinta. Asimismo difieren los estadios de vida de los organismos así como el tiempo de exposición a las mezclas.

No obstante, de acuerdo a la clasificación de los grados de toxicidad para los fluidos de perforación propuesta por la EPA (1999) el fluido de perforación polimérico base agua es "prácticamente no tóxico" para las postlarvas y juveniles de *L. setiferus* ya que los valores obtenidos de la CL_{50-96h} en todos los bioensayos presentan valores $>10\ 000$ ppm

B. Pruebas de Toxicidad crónica.

Para evaluar el efecto crónico del fluido polimérico base agua en los juveniles de *L. setiferus* se evaluaron las concentraciones subletales de 10 000 y 50 000 ppm tanto para la fase de partículas suspendidas (FPS) como para la fase disuelta (FD). Estas concentraciones son similares y mayores a las señaladas por la EPA para clasificar a un fluido de perforación como "prácticamente no tóxico" a partir de pruebas de toxicidad aguda (EPA, 1999). No obstante, los resultados obtenidos demuestran alteraciones fisiológicas importantes en los juveniles de *L. setiferus* y permite afirmar que en las concentraciones evaluadas consideradas como "prácticamente no tóxicos" el fluido polimérico base agua altera la integridad fisiológica de los organismos en exposiciones crónicas, condiciones más cercanas a las que se enfrentan los organismos en su ambiente natural.

En este sentido, es importante considerar que el efecto tóxico de cualquier contaminante depende tanto de su concentración como del tiempo de exposición (Hodgson y Levi, 1987). De tal manera los estudios crónicos proveen información más completa para valorar los efectos biológicos de los tóxicos ambientales.

En contraste con los resultados obtenidos en las pruebas de toxicidad aguda, la exposición crónica a la fase particulada del fluido polimérico ejerció en los juveniles de *L. setiferus* un mayor efecto tóxico que la fase disuelta. Este comportamiento puede relacionarse con una mayor

incorporación de los tóxicos particulados al interior del organismo a través de la comida, que del tóxico en la fase disuelta. De esta forma, es posible suponer una mayor adsorción de los componentes disueltos (ejem. metales pesados) a fracciones particuladas del fluido como la bentonita que es una arcilla montmorillonita con la capacidad de adsorber tóxicos (Libes, 1992) (Gitipour *et al.*, 1998) los cuales son ingeridos a través de la dieta y ejercen posteriormente un impacto adverso al organismo.

Cabe señalar que en el caso de los camarones las principales rutas de entrada de los tóxicos ambientales son las branquias y las estructuras bucales, aunque la magnitud de la penetración depende de la cantidad y la saturación de la estructura involucrada.

De acuerdo a los resultados obtenidos es posible suponer que en exposiciones agudas la principal ruta de entrada de los componentes tóxicos del fluido de perforación en particular de los tóxicos disueltos es a través de las branquias. En contraste en exposiciones prolongadas, la incorporación de estos componentes junto con la dieta adquiere una mayor importancia.

1. Respuestas fisiológicas individuales.

Balance hídrico.

Los juveniles de *L. setiferus* son osmoreguladores eficientes, capacidad requerida para tolerar todas las fluctuaciones normales de la salinidad, características de los ambientes lagunares-estuarinos que habitan (Ríos, 2001; Rosas *et al.*, 1997).

Uno de los requerimientos en la osmoregulación es el mantenimiento en el medio interno de concentraciones adecuadas de diversos osmolitos así como la regulación hídrica corporal (Randall, 1997; Pequeux, 1995).

En los camarones expuestos a la fase particulada se observó una hidratación significativa (3-4.2 %) con respecto al grupo testigo. ($P > 0.05$). Es probable suponer que esta hidratación refleje alteraciones en los procesos de regulación iónica y osmótica, así como modificaciones en la permeabilidad corporal de los camarones. En los juveniles de *L. setiferus*, la exposición crónica

al cadmio, al zinc y a las mezclas de éstos altera la regulación iónica del Cl^- y Na^+ así como la presión osmótica de los camarones; no obstante el cadmio y las mezclas de los metales ocasionan una deshidratación mientras que el zinc no modifica el contenido corporal de agua. (Vanegas, 1996). Otros estudios como el realizado por Roesijadi *et al* (1976) en *Palaemonetes pugio*, mencionan que hubo una disminución en la salida de agua por efecto del plaguicida Aroclor (bifenil policlorado). De la misma forma, Rasmussen *et al.*, 1995 encontraron también una disminución en la salida de agua de *Carcinus maenas*, expuesto al cadmio y zinc y en *Crangon crangon* expuesto al zinc. A su vez, en los juveniles de *Penaeus japonicus* se observa una disminución en la capacidad osmoregulatoria bajo el efecto del fenitrotion (Lignot *et al.*, 1997). Por otra parte Payne *et al.*, (1983) reportan una disminución en la osmoregulación de *Homarus americanus* utilizando como tóxico el petróleo crudo.

En el presente estudio, la mayor proporción de agua corporal de los juveniles de *L. setiferus* expuestos a la fase particulada del fluido puede relacionarse con una dilución de su medio. Tales alteraciones pueden traducirse en un costo energético adicional para el mantenimiento del equilibrio iónico y osmótico en detrimento de otras funciones como el crecimiento de los camarones. No obstante, se requiere efectuar estudios encaminados para valorar el efecto de los fluidos de perforación en la osmoregulación de los organismos.

Consumo de oxígeno.

El consumo de oxígeno ha sido utilizado como un indicador de la actividad metabólica de un organismo (Prosser, 1991) indicando así su condición fisiológica (Schrek, 1990).

En el presente estudio, el consumo de oxígeno de los camarones del grupo testigo (0.76 mgO_2/hgPH) fue ligeramente más bajo que el reportado por Piña (2001; 1.2 mgO_2/hgPH) y por Alcaraz *et al.* (1999; 0.95-0.98 mgO_2/hgPH) en postlarvas de la misma especie.

Sin embargo, se encuentra dentro del intervalo reportado por otros autores para otros peneidos: 0.75 mgO_2/hgPH para *Penaeus Japonicus*, 0.71 mgO_2/hgPH para *P. penicillatus* (Chen y Nan, 1994) y de 0.61 mgO_2/hgPH en postlarvas (0.26 gPH) de *P. californienesis* (Villareal y Ocampo,

1993). Las diferencias observadas pueden atribuirse a la diferencia de pesos y a las condiciones ambientales de las pruebas.

En el presente estudio sólo los organismos expuestos a la mayor concentración de la fase de partículas suspendidas 50 000 ppm mostraron un aumento significativo en el consumo de oxígeno, del 104 %, con respecto al grupo testigo. Este aumento pudiera relacionarse con una mayor demanda energética de los organismos debido a la activación de mecanismos compensatorios y de desintoxicación, para reducir el efecto adverso de los componentes tóxicos del fluido de perforación.

Pocos estudios han abordado el efecto tóxico de fluidos de perforación en el consumo de oxígeno de crustáceos. Carr *et al* (1980) reportaron un aumento en la respiración de juveniles de *Mysidopsis almyra* a las 24 h de exposición a la fase disuelta (35g/l) de un fluido cromolignosulfonato base agua; sin embargo a los 7 días de exposición, no encontró cambios significativos en la tasa metabólica de los mysidos mantenidos en 30g/l. En contraste, Derby y Capuzzo (1984) reportaron la reducción en la respiración a las 24 y 96h para larvas de *Homarus americanus* expuestas de 5 a 29 mg/l del fluido denominado Mobile bay, mientras que la exposición de 100 mg/l al fluido denominado J-5 ocasionó una disminución en la respiración sólo a las 24h. La baja tasa respiratoria de las larvas de langosta es atribuida a una interferencia de los componentes del fluido en procesos metabólicos que pueden resultar en una utilización ineficiente de comida y reducciones subsecuentes de crecimiento. Cabe mencionar que los fluidos empleados en los estudios anteriores fueron colectados de pozos petroleros después de que ya habían sido utilizados en la perforación.

Por otra parte, también la exposición subletal (96h) a 10 mg/l barita y 1.0 mg/l de lignina, aditivos utilizados en los fluidos de perforación, ocasionan una disminución en el consumo de oxígeno en adultos de *Pontogammarus maeoticus* y *Mytilaster lineatus*. La declinación en el consumo de oxígeno es atribuida a la transición de los organismos hacia un metabolismo glucolítico, como un mecanismo de compensación. (Kasymov y Velikhanov, 1992).

Es evidente que el efecto de los fluidos de perforación sobre la tasa metabólica de los crustáceos está determinado básicamente por su composición, el tiempo de exposición y el organismo de prueba. No obstante, en los juveniles de *L. setiferus* es posible suponer un comportamiento similar al que ha sido descrito para metales pesados en relación a las diferentes etapas de su acción tóxica. (Gaudy *et al.*, 1991). En la primera etapa de intoxicación el aumento en el consumo de oxígeno se relaciona con el incremento en la demanda de ATP y en consecuencia en la fosforilación oxidativa en respuesta a mecanismos compensatorios a la intoxicación por el metal, respuesta observada en nuestro estudio. En la segunda etapa, de intoxicación severa, disminuye el consumo de oxígeno por la incapacidad del organismo de responder a las demandas del incremento de ATP, lo cual finalmente le ocasiona la muerte.

Excreción nitrogenada.

En los crustáceos el principal producto final del metabolismo nitrogenado es el amonio y representa del 70 al 87% de los productos de excreción nitrogenada en decápodos (Regnault, 1987); comprende el 72% en la langosta (*Jasus edwardsii*); el 86% en el cangrejo (*Carcinus maenas*) y el 95% en el camarón *Crangon crangon* (Gómez *et al.*, 1998).

En el presente estudio la excreción nitrogenada ($0.012 \text{ mgN-NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PH}$) de los camarones del grupo testigo es menor al reportado para otros peneidos: *Penaeus penicillatus* (0.021), *Metapenaeus ensis* (0.020), *P. monodon* (0.023), *P. japonicus* (0.027) (Revisión en Chen y Nan, 1994) y en juveniles de *L. setiferus* en estudio previos (0.021) (Robles, 2001); sin embargo es similar al reportado en *P. Chinensis* (0.019) (Chen y Nan, 1994).

La excreción nitrogenada es resultado de la desaminación de aminoácidos derivados de la dieta y puede relacionarse tanto con la cantidad proteica como con la composición química de la dieta ingerida (Regnault, 1987). De acuerdo a Claybrook (1983) el aumento en la desaminación ocurre si se han ingerido en exceso proteínas o debido a una insuficiencia de lípidos y carbohidratos en la dieta para soportar los procesos corporales o si la dieta proteica carece de uno o más aminoácidos esenciales. De acuerdo a los resultados obtenidos, es posible inferir que el aumento en la excreción nitrogenada (366%) observada sólo en los camarones expuestos a la mayor concentración de la fase de partículas suspendidas (50 000 ppm), se atribuye a una mayor

utilización del sustrato proteico con fines energéticos para compensar el estrés fisiológico del fluido de perforación. Esto se hace evidente ya que en esta fracción se observó la mayor alteración en la distribución de la energía ingerida por el alimento y canalizada al crecimiento de los camarones, aspecto que será discutido posteriormente.

Resusltados similares han sido reportados en *Homarus americanus*. Estudios realizados con diversos fluidos colectados después de haber llevado a cabo la perforación denominados (J5 y J7) mostraron que concentraciones entre 10-50 mg/l aumentaron significativamente la excreción nitrogenada del estadio larval 1 de la langosta americana *Homarus americanus* a las 96h de exposición; a su vez, la exposición de 72h en 500 mg/l del fluido J4 incrementó la excreción amoniaca en el estadio larval 4. Lo anterior se atribuyó a una alteración en el equilibrio energético de los organismos debido al incremento en la dependencia del catabolismo de proteínas sugiriendo una falla para almacenar sustratos de energía de origen lipídica, reduciendo las reservas de energía disponibles para el crecimiento y desarrollo (Derby y Capuzzo, 1984).

Relación atómica O/N.

La integración del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada permitió calcular la razón atómica O/N, la cual ha sido ampliamente utilizada como un índice del sustrato metabólico que es oxidado por los organismos amonotéticos. Valores teóricos entre 3 a 16 se relacionan con el catabolismo estricto de proteínas, valores entre 50 y 60 sugieren igual catabolismo de lípidos y proteínas, mientras valores mayores de O/N corresponden a un incremento en el catabolismo de lípidos y carbohidratos. (Mayzaud, 1988)

En los organismos del grupo testigo, sin exposición al tóxico, el valor de la razón O/N (60) indica una utilización similar de lípidos y proteínas como sustrato energético. Brito *et al.* (2000) reportan valores de la razón O/N de 8 a 16 en etapas tempranas de *L. setiferus* (MIII y PL3) y valores altos (39 y 51) para postlarvas (P19 y P10) utilizando alimento particulado artificial; estos valores indicaron un cambio en el sustrato energético de acuerdo al desarrollo larval, de un catabolismo estrictamente proteico a una mezcla de proteínas y lípidos. El empleo de proteínas como sustrato energético ha sido reportado en juveniles de *L. setiferus* de 40 días de edad (PL40)

(Gaxiola, 1994) lo cual coincide con los resultados obtenidos en nuestro estudio en los juveniles tempranos de la especie (PL44-45).

El alimento utilizado en el presente estudio fue suficiente para cubrir las necesidades nutrimentales de los camarones tomando en cuenta su contenido proteico (50% de proteína) el cual es considerado adecuado para el crecimiento de los organismos, ya que el requerimiento de proteína estimado para postlarvas (PL10-PL40) de *L. setiferus* es de 40% (Gaxiola, 1994). De tal manera es posible inferir que los juveniles del grupo testigo cubrieron adecuadamente sus requerimientos nutrimentales utilizando no sólo las proteínas sino también los lípidos del alimento ingerido. Esto representa una ventaja para estos organismos ya que pueden utilizar fuentes de energía con un costo bajo para sus procesos metabólicos y utilizar proteínas para el crecimiento estructural (Taboada, 1998).

La exposición de *L. setiferus* al fluido de perforación ocasionó un cambio en el sustrato energético utilizado por los camarones lo cual refleja el estrés fisiológico de los organismos. Los juveniles expuestos a la fracción disuelta tendieron a catabolizar mayor proporción de proteínas que de lípidos (O/N = 43) mientras que en los organismos expuestos a la fracción particulada, fue evidente el mayor empleo de proteínas con fines energéticos (O/N = 28-32); lo cual reduce su canalización para el crecimiento y desarrollo. Lo anterior se reflejó en la reducción del crecimiento de los organismos.

Alteraciones similares han sido reportados en larvas de *Homarus americanus* por Derby y Capuzzo (1984) como resultado de la exposición a 3 fluidos de perforación, en donde niveles de 50 y 100 mg/l ocasionó a las 96h, una reducción del radio atómico O/N, indicando una dependencia en el catabolismo de proteínas para la producción de energía y fallas para almacenar energía de sustratos lipídicos, reduciendo así las reservas de energía disponibles para crecimiento y desarrollo.

Crecimiento absoluto y relativo.

El crecimiento es considerado como una integración fisiológica compleja reflejo del metabolismo global de un organismo y del efecto de las condiciones ambientales sobre las respuestas fisiológicas de los individuos; por lo tanto, sugiere la adecuación de los organismos a un medio dado (Vanegas, 1996).

La tasa de crecimiento de los juveniles (PL44-45) del grupo testigo (0.14 mg PSd^{-1}) se encuentran en el intervalo reportado por la literatura para estadios similares de *L. setiferus* y *L. duorarum* (Gaxiola, 1994). No obstante, la exposición al fluido polimérico alteró el crecimiento de los camarones, particularmente en los camarones expuestos a la FPS con reducciones mayores al 50%, respecto al grupo testigo. Los resultados obtenidos son producto de la alteración en la condición fisiológica global de los organismos lo cual se ve reflejado por el cambio del sustrato energético de los juveniles (O/N) en esta condición experimental. Estos cambios obedecen a su vez a alteraciones en el metabolismo energético y nitrogenado, en detrimento del crecimiento de los camarones.

Cabe señalar que en los camarones expuestos a la FPS, las mayores alteraciones fisiológicas en la tasa metabólica y en la excreción nitrogenada se observaron en los organismos expuestos a 50 000 ppm, única concentración que ocasionó mortalidad en los juveniles (9.5%). No obstante, la disminución en el crecimiento de los camarones fue similar por la exposición a 10 000 y 50 000 ppm FPS. Estos resultados sugieren a su vez que los mecanismos relacionados con la eficiencia de absorción del alimento ingerido así como la ingestión de dicho alimento difiere entre los grupos, aspectos que son discutidos posteriormente.

Pocos estudios han abordado el efecto tóxico del fluido de perforación en crustáceos. En el misido *Mysidopsis almyra* la exposición durante 7 días en 15g/l, de un fluido redujó el crecimiento de los individuos (Carr *et al.*, 1980). Resultados similares se reportan en postlarvas estadio I de *H. americanus* por la exposición de 96h a 0.1g/l de tres tipos de fluidos "J6-J7", donde la reducción en el consumo de alimento fue el factor principal que redujó el crecimiento; lo anterior se atribuye a la interferencia de procesos quimiosensores o cambios en la palatabilidad

de sustrato alimenticio y a una falla en el almacenamiento de lípidos reduciendo reservas para crecer y desarrollarse. (Derby y Capuzzo, 1984).

El efecto adverso de los fluidos de perforación también ha sido documentado en bivalvos. En los juveniles del molusco *Mytilus edulis* niveles mayores de 1000 ppm de un fluido base agua ocasionan la disminución del crecimiento, reducción relacionada con el contenido de naftaleno del fluido de perforación (Stromgren *et al.*, 1986). A su vez, concentraciones mayores a 10 ml/l de los recortes de un fluido base aceite durante 62 y 72 días reducen el crecimiento somático y reproductivo de *Placopecten magellanicus*; los autores lo atribuyen a las condiciones subóxicas producidas por la alta demanda de oxígeno de los recortes (Cranford *et al.*, 1999).

En el presente estudio, en contraste con las alteraciones observadas por la FPS del fluido polimérico, en la menor concentración de la FD (10 000 ppm) el crecimiento de los juveniles fue 26% menor que el grupo testigo. Sin embargo y de manera inesperada en la concentración más elevada (50 000 ppm) se observó el mayor incremento de biomasa de los camarones, aún 29% mayor que el grupo testigo; estos resultados sugieren que bajo esta condición particular, los camarones tienen la capacidad fisiológica de compensar el efecto adverso de la exposición a la FD disuelta del fluido, eficientizando procesos de adquisición de energía como incrementar la ingestión de alimento y/o su absorción. (Vanegas, 1996; Gaudy *et al.*, 1991, Lemos y Phan, 2001). De tal manera es probable suponer que esta condición particular “dispara” en los organismos una respuesta de “hormesis”

La hormesis ha sido definida como una respuesta de sobrecompensación en organismos expuestos en bajas concentraciones de diversos tóxicos la cual es precedida, en la mayoría de los casos, por una respuesta inhibitoria inicial (Calabrese, 1999). En general se reporta que esta sobrecompensación en los organismos expuestos excede las respuestas y/o el rendimiento de los grupos testigo.

El fenómeno hormético ha sido reportado por numeroso autores. Green *et al.*, (1999) demostró un aparente efecto de hormesis en el anfípodo estuarino *Leptocheirus plumosus* y en el poliqueto *Neanthes arenaceodentata* los cuales mostraron un crecimiento mayor al grupo testigo bajo el

efecto de sedimentos contaminados por 2,4,6-trinitrotolueno. Loughlin *et al.* (1981) reportaron que una baja exposición a hidrocarburos de petróleo incrementó el peso de las megalopas del cangrejo *Rithropanopeus harrisi*). Por otra parte Sarabia *et al.* (1998) encontraron un mayor crecimiento en *Artemia sp* expuesta a bajos niveles de mercurio que el grupo testigo. A su vez, Bodar *et al.*, (1988) demostraron un efecto hormético del cadmio en la estrategia de reproducción de *Daphnia magna*; la reproducción disminuyó por concentraciones mayores de 5.0 ppb pero no hubo efectos en concentraciones menores, donde por el contrario, se encontró un incremento en el número de neonatos por hembra.

Así también, los resultados obtenidos en el crecimiento de los juveniles de *L. setiferus* sugieren una respuesta de hormesis por la exposición crónica subletal del fluido de perforación polimérico.

Contenido calórico.

En el presente estudio, el crecimiento de los camarones en las diferentes condiciones experimentales, se relacionó con su correspondiente contenido calórico (Fig.16)

Cabe señalar que el contenido calórico, medido como la energía liberada por la combustión de la materia orgánica (proteínas, lípidos y carbohidratos), refleja la fracción del alimento asimilado o la energía que es retenida e incorporada en la biomasa del organismo como tejido y como reservas energéticas (Beamish, 1990 ; Lucas, 1996).

El contenido energético de los juveniles de *L. setiferus* del grupo testigo (4245 cal g⁻¹PS) es similar al reportado en los adultos de la misma especie (4564 cal g⁻¹ PS) de la Laguna de Alvarado, Veracruz (Zuñiga, com. per). El contenido calórico de los camarones del grupo testigo, se asoció con un crecimiento de 0.14 mgPSd⁻¹.

La reducción en el contenido calórico de los camarones expuestos a 10 y 50 000 ppm FPS y 10 000 ppm FD, se relacionó a su vez con la reducción observada en la tasa de crecimiento. Los resultados obtenidos sugieren que para compensar los efectos adversos de la exposición al fluido, los camarones utilizaron mayor cantidad de reservas energéticas limitando la construcción de tejidos estructurales o bien que fue alterada su capacidad de incorporar y/o retener suficiente

biomasa o reservas energéticas. Esto a su vez se ve sustentado con la reducción observada en la energía ingerida por los camarones a través del alimento consumido.

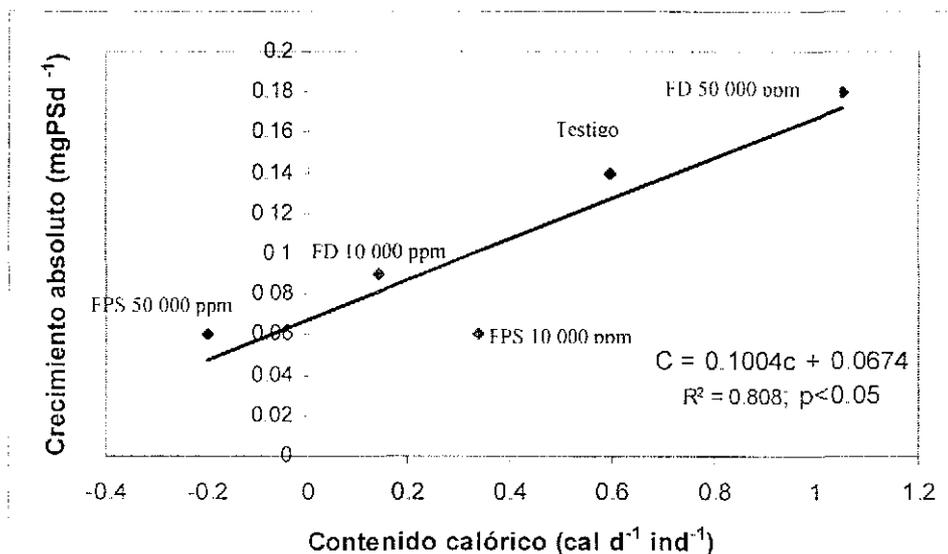


Fig 15. Relación entre el crecimiento absoluto (C ; mgPSd⁻¹) y el contenido calórico corporal (c ; cal d⁻¹ ind⁻¹) de los juveniles de *L. setiferus* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico.

Comportamientos similares han sido descritos en diversos organismos acuáticos por la exposición a distintos tipos de tóxicos. En el amphipodo *Gammarus pseudolimnaeus* la exposición de 15 días al pentaclorofenol ocasiona una disminución significativa del contenido calórico relacionado directamente con la alteración en el contenido total de aminoácidos (Graney y Giesy, 1986). Asimismo en el pez *Oncorhynchus gorbuscha* expuesto a la fracción soluble de petróleo crudo y naftaleno (Moles y Rice, 1983) y en *Anguilla anguilla* expuestos al fenitrotion (Sancho *et al.*, 1998) la reducción en el contenido calórico de los organismos se relacionó con un menor consumo de alimento y a la disminución en las reservas energéticas.

En contraste con lo observado en los grupos expuestos a la FPS y a la menor concentración de la FD, el mayor crecimiento obtenido en los camarones expuestos al nivel más elevado de la FD se relacionó con el mayor contenido energético corporal de los organismos. Este resultado sugiere

que los camarones incrementaron la síntesis de proteínas tanto como sustrato energético como con fines estructurales, como una estrategia para compensar los efectos del fluido de perforación. Lo anterior sólo puede ser a su vez explicado por el aumento en la absorción del alimento ingerido observado en los camarones. Esta sobrecompensación sugiere nuevamente que se presenta en esta condición particular el proceso de hormesis descrito con anterioridad.

Balance energético.

Energía absorbida (Ab) - Eficiencia de Absorción (Ef.Ab.).

En los juveniles de *L. setiferus* la integración de las respuestas fisiológicas aisladas en la ecuación de balance energético (Lucas, 1996) permitió calcular la energía absorbida (Ab) del alimento ingerido de los camarones ($Ab = R + N + C$).

La absorción del alimento ingerido indica la capacidad del organismo para incorporar las sustancias alimenticias y por lo tanto representa la mayor fracción de la energía metabolizable ($R + C$) del alimento ingerido (Lucas, 1996). En crustáceos la energía absorbida es canalizada principalmente hacia el crecimiento (C) y el metabolismo de mantenimiento ($R + N$) (Logan y Epifanio, 1978; Rosas *et al.*, 1993; Vanegas, 1996; Roast *et al.*, 1999 y Lemos y Phan 2001). Así también en los juveniles de *L. setiferus* del grupo testigo el 47 y 42 % de la energía absorbida fue destinada al crecimiento y a la respiración, respectivamente.

La absorción es influida directamente por la eficiencia de absorción del alimento la cual se relaciona con la composición de la comida y las características y actividad de las enzimas digestivas (Dall y Moriarty, 1983).

La elevada eficiencia de absorción (85.4%) de los camarones del grupo testigo se encuentra dentro del intervalo reportado para *L. setiferus* (87%, Condrey *et al.*, 1972), *Callinectes rathbunae* (73 %; Rosas *et al.*, 1993) y juveniles de *Homarus americanus* (81%; Logan y Epifanio, 1978). La eficiencia de absorción de *L. setiferus* obedece al efectivo funcionamiento enzimático de los organismos y al elevado contenido de proteínas (50%) en el alimento suministrado, como es sugerido por Condrey *et al.* (1972) y Rosas *et al.* (1993).

En los grupos expuestos a 10 000 ppm de la FPS y FD y 50 000 ppm de la FD se presentó un aumento en la eficiencia de absorción lo cual sugiere un aumento en la actividad y concentración de enzimas digestivas y un incremento en la capacidad de la absorción del alimento ingerido. Sin embargo aún cuando la eficiencia de absorción aumentó en los camarones expuestos a 10 000 ppm FPS y FD la energía absorbida se redujo lo cual señala que el aumento en la eficiencia de absorción no fue suficiente para compensar la demanda energética impuesta por la exposición en éstas concentraciones del fluido. La reducción significativa en la energía absorbida sugiere a su vez la alteración en la capacidad para incorporar y procesar el alimento, lo cual se vió reflejado en la disminución de la energía canalizada al crecimiento de los organismos (22.8 y 13%). En los camarones expuestos a 50 000 ppm FPS, se presentó uno de los valores más altos en la eficiencia de absorción, donde la energía absorbida no fue modificada por el tóxico. No obstante, la mayor proporción de la energía absorbida se canalizó a la respiración (96.4%) en detrimento del crecimiento (-6.1%) Es en ésta misma condición experimental donde se observó en los camarones una mayor dependencia del catabolismo proteico (razón atómica O/N) principalmente con fines energéticos, en detrimento de la síntesis de tejido estructural (biomasa).

En contraste, en los camarones expuestos a 50 000 ppm FD la eficiencia de absorción no fue modificada por el tóxico; sin embargo aumentó considerablemente la energía absorbida cuya mayor proporción se canalizó al crecimiento (53.4%). Como se mencionó anteriormente, este comportamiento se explica en base a un aparente fenómeno hormético de sobrecompensación.

Pocos estudios han abordado en crustáceos el efecto de fluidos de perforación en la absorción y la eficiencia de absorción del alimento ingerido. Cranford *et al*, (1999) reportan en adultos de *Placopecten magellanicus* una reducción en la absorción y la eficiencia de absorción bajo el efecto de un fluido de perforación base agua (2-10 mg/l) y de un fluido de perforación base aceite (1 mg/l). Respecto a otros tóxicos, Vanegas (1996) reportó que en los juveniles de *L. setiferus* expuestos al zinc, la eficiencia de absorción y la absorción del alimento ingerido no fueron alterados; sin embargo en organismos expuestos al cadmio y a las mezclas de los metales disminuye la tasa de absorción en *L. setiferus* lo que contribuye a limitar el suministro de energía al organismo para funciones metabólicas y disminuir la capacidad de crecimiento. Gaudy *et al*. (1991) reportaron una reducción del 9% en la eficiencia de absorción del misido *Leptomysis*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

lingvura, bajo el efecto del cadmio afectando las funciones de nutrición normales, disminución que puede deberse al decremento en la actividad relacionada a la adquisición de comida y a la reducción en la actividad enzimática de las hidrolasas. No obstante Roast *et al.*, (1999) reportaron que el plaguicida clorpirifos no afectó la eficiencia de absorción en el mίσido *Neomysis integer*, lo cual se relacionó al bajo contenido orgánico del sedimento que fue suministrado como fuente de alimento.

Los resultados obtenidos en *L. setiferus* permiten proponer que el efecto tóxico del fluido de perforación sobre los procesos de adquisición de energía e involucrados en la eficiencia de absorción y la absorción del alimento incorporado, dependen de la fase particular del fluido y por lo tanto de su composición y su acción tóxica específica.

Energía Ingerida (I).

La obtención de la adecuada cantidad y calidad de la comida requerida por los organismos como fuente energética, ocupa gran parte del comportamiento de rutina de la mayoría de los animales (Randall *et al.*, 1997; Lemos y Phan, 2001). La cantidad de energía que un organismo pueda utilizar depende en primera instancia de la efectiva ingestión y absorción del alimento la cual es destinada posteriormente a la respiración con un suplemento o excedente de energía disponible canalizada para el crecimiento y en su caso la reproducción (Roast *et al.*, 2000).

En el presente estudio se observó que en los juveniles tempranos del grupo testigo, del 100% de la energía ingerida, el 89% fue absorbida; la mayor parte de esta energía absorbida se canalizó al crecimiento (47%), seguido de la energía utilizada en la respiración (42%) destinándose la menor proporción de la energía ingerida (0.07%) hacia la excreción y eliminándose 11% en la producción de heces (Tabla 35, Fig.16). Esta distribución de energía concuerda con el trabajo de Vanegas (1996) en juveniles de *L. setiferus* quien encontró que la mayor parte de la energía absorbida fue utilizada para crecer 53%; 29% para respirar, 11% para excretar y 7% fue eliminada en la producción de heces. En postlarvas de *Farfantepenaeus paulensis* se reporta una distribución de la energía ingerida similar, 55.8% para el crecimiento, 37.6% para la respiración, 2.9% para la excreción y 3.7 eliminada en heces (Lemos y Phan, 2001) Así mismo, en los

juveniles de *Macrobrachium rosenbergii* reportan una mayor canalización de energía ingerida para el crecimiento (46.4%), seguido de un 41% para respiración, 9.7% para la excreción y 2.9 perdido en heces (Díaz-Herrera *et al.*, 1993).

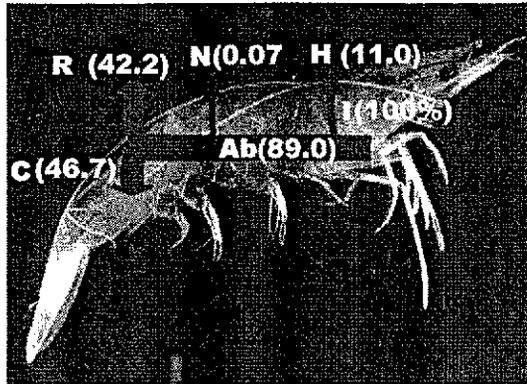
Tabla 35. Balance energético de juveniles de *L. setiferus* expuestos 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan los valores calóricos de cada componente del balance energético y el porcentaje de la energía ingerida (I), perdida en heces (H), absorbida (Ab), eliminada en la excreción nitrogenada (N), invertida en la respiración (R) y canalizada al crecimiento (C).

	TESTIGO	FPS 10 000	FPS 50 000	FD 10 000	FPS 50 000
I	629.48 ± 45.5 (100)	318.79 ± 21.6 (100)	563.08 ± 16.7 (100)	312.33 ± 35.9 (100)	1010.53 ± 104.6 (100)
H	69.4 ± 3.39 (11)	28.9 ± 1.96 (9.06)	52.4 ± 1.55 (9.3)	19.2 ± 2.42 (6.1)	131.2 ± 13.6 13
Ab	560.12 ± 30.6 (88.97)	289.87 ± 19.7 (90.93)	510.72 ± 15.2 (90.7)	293.16 ± 29 (93.8)	879.37 ± 91 (87)
N	0.47 ± 0.11 (0.075)	0.77 ± 0.13 (0.24)	2.21 ± 0.54 (0.39)	0.66 ± 0.17 (0.21)	0.09 ± 0.32 (0.09)
R	265.6 ± 30.1 (42.2)	216.43 ± 23.4 (67.9)	543.1 ± 74.9 (96.4)	252.18 ± 29 (80.7)	338.36 ± 55 (33.5)
C	294.05 ± 30.6 (46.7)	72.68 ± 19.7 (22.8)	34.59 ± 15.2 (-6.1)	40.33 ± 28.9 (12.9)	540.12 ± 91 (53.4)

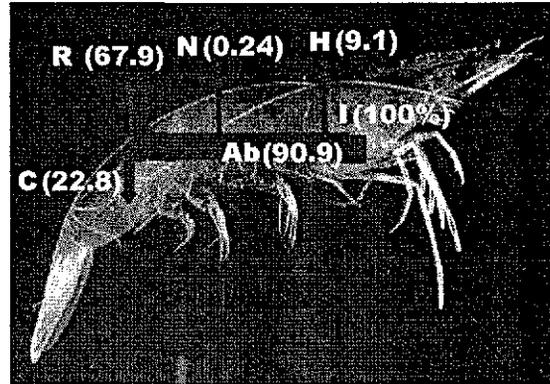
En los juveniles de *L. setiferus* la exposición a 10 000 ppm FPS y FD redujo significativamente la energía ingerida por el alimento. Tal reducción indica una posible alteración en la atracción hacia el alimento o en su efectiva adquisición con la consecuente reducción en la energía requerida para las funciones de mantenimiento de los organismos.

En contraste con nuestros resultados, Cranford *et al.* (1999) mencionan que la ingestión del alimento en los adultos del molusco *Placopecten magellanicus* no fue afectada por la exposición a un fluido de perforación base agua; sin embargo si observaron una disminución en la ingestión en organismos expuestos a fluidos base aceite y por lo tanto la toxicidad de este fluido se asoció con su composición.

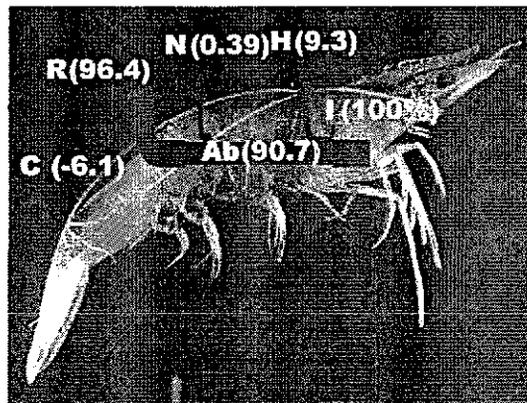
A. Testigo



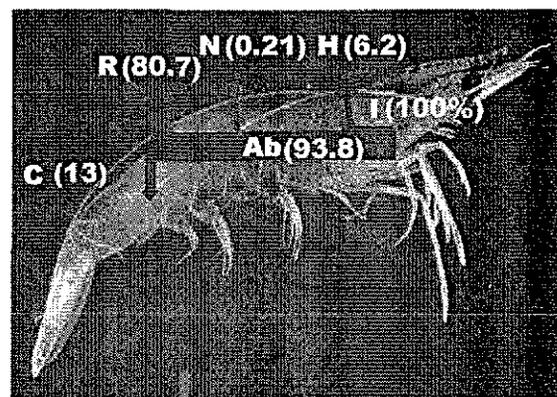
B. Fase partículas suspendidas 10 000 ppm



C. Fase partículas suspendidas 50 000 ppm.



D. Fase disuelta 10 000 ppm.



E. Fase disuelta 50 000 ppm

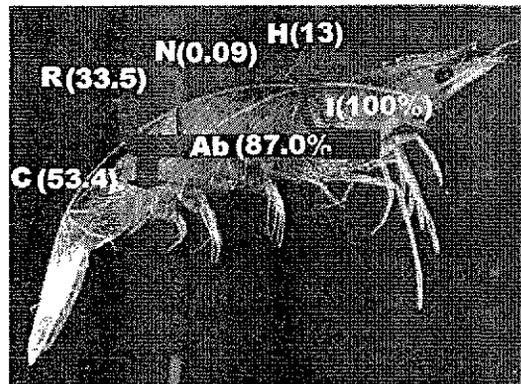


Fig 16 Balance energético de juveniles de *L. setiferus* expuestos 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señala el porcentaje de la energía ingerida (I), perdida en heces (H), absorbida (Ab), eliminada en la excreción nitrogenada (N), invertida en la respiración (C) y canalizada al crecimiento (C)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En los camarones expuestos en 10 000 FPS y FD se observó que del total de la energía ingerida, se absorbió más del 90% de la cual la mayor parte fue destinada a la respiración (67.9-80.7%) y posteriormente al crecimiento (22.8 y 12.9 %); la menor proporción se destinó a la excreción nitrogenada (0.24 y 0.21%) y a la producción de heces (9.1 y 6.2%). En contraste, la exposición a 50 000 ppm FPS si bien no modificó la energía ingerida por los camarones, se observó la alteración más drástica en el balance energético de los organismos; la mayor parte de la energía fue invertida en la respiración (86.4%) e incluso no hubo energía disponible para crecer (-6.1%), lo que hace evidente el deterioro global de los organismos comprometiendo a su vez su sobrevivencia (95% de mortalidad).

En todos los casos anteriores, la alteración fundamental en el balance energético obedece al incremento en la energía canalizada a la respiración (R) en detrimento de la energía destinada al crecimiento (C) resultados que de manera global reflejan el estrés fisiológico de los organismos por la exposición al fluido de perforación.

Alteraciones similares en el balance energético por la exposición a otros tóxicos ha sido reportada en diversos organismos acuáticos. Vanegas (1996), reportó la reducción en el campo de crecimiento de juveniles de *L. setiferus* por la acción tóxica de metales; el zinc, el cadmio y sus mezclas ocasionaron una disminución en la energía absorbida destinada al crecimiento relacionada con alteraciones en la energía invertida en la respiración. Widdows y Johnson (1988) en un estudio de mesocosmos, encontraron una disminución en el campo de crecimiento de mejillones de *Mytilus edulis* relacionado con el incremento en cobre y diesel en un gradiente de contaminación. Widdows *et al.*, (1990) también reportaron una reducción en el campo de crecimiento del mejillon *Arca zebra* conforme se presentó un aumento en la acumulación de hidrocarburos de petróleo y PCBs, a través de un gradiente de contaminación en Bermuda. Knops *et al.* (2001) reportaron una disminución en el campo de crecimiento de *Daphnia magna* expuesta a cadmio, cobre y el surfactante bromuro de cetiltrimetilamonio durante 8 días, lo que relacionaron con la disminución de la energía ingerida. A su vez Roast *et al.* (1999) reportaron una disminución en el campo de crecimiento asociado a un aumento en el consumo de oxígeno del peracárido *Neomysis integer* por efecto del plaguicida organofosforado clorpirifos, debido a la reducción en en el alimento ingerido y a la bioacumulación del plaguicida.

En contraste, los juveniles de *L. setiferus* expuestos a 50 000 ppm FD presentaron un aumento en la ingestión de energía del 60.5% con respecto al testigo y contrario a lo esperado, la mayor parte de la energía ingerida que fue absorbida fue destinada para crecer (53%); el 33.5% se utilizó en la respiración, 0.09 % se eliminó por la excreción y el 13% se perdió por heces. Este comportamiento puede deberse a una estrategia de tipo sobrecompensatorio relacionado con el efecto de “hormesis”, descrito anteriormente.

Si bien el probable fenómeno hormético se tradujo en un mayor crecimiento, este se sustenta en un aumento en el requerimiento energético de la energía ingerida por el alimento. Sin embargo en el medio natural, los componentes tóxicos del fluido de perforación pueden limitar a su vez el sustrato energético requerido por los camarones imponiendo una severa restricción en la fuente del alimento necesario y por lo tanto comprometiendo su crecimiento y desarrollo.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio permiten concluir que las respuestas fisiológicas individuales no necesariamente reflejan las alteraciones por la exposición al fluido ya que pueden enmascarar costos energéticos adicionales al compensar de manera indirecta el efecto adverso del fluido de perforación por medio de una redistribución de la energía absorbida. En este sentido el balance energético como un indicador integral, permite discernir los efectos subletales que puedan comprometer a largo plazo la integridad o sobrevivencia de la especie. Tal es el caso de los organismos expuestos a las menores concentraciones (10 000 ppm FPS y FD) donde no se observa un efecto significativo en el consumo de oxígeno, la excreción nitrogenada y aún en el crecimiento; sin embargo, en el balance energético de los camarones se refleja de manera clara las alteraciones en la ingestión y absorción de energía, combustible básico para su mantenimiento y crecimiento.

V. CONCLUSIONES.

El efecto tóxico agudo del dodecil sulfato de sodio (DSS) es similar en las postlarvas y juveniles de *Litopeneus setiferus*. La sensibilidad de ambos estadios de *L. setiferus* al DSS es similar al intervalo reportado para otras especies de crustáceos.

La tolerancia de las postlarvas a la fracción de partículas suspendidas (FPS) y a la fracción disuelta (FD) del fluido polimérico base agua, fue similar. En contraste, en los juveniles, el efecto tóxico de la fase disuelta fue 38% mayor que la fase particulada.

Los juveniles de *L. setiferus* fueron más sensibles a las dos fases del fluido que las postlarvas. Las diferencias en la tolerancia a la FPS y la FD del fluido polimérico en las postlarvas y juveniles del camarón blanco pueden relacionarse con las tasas fisiológicas y la actividad particular de cada estadio.

Acorde a la clasificación de EPA, la FPS y la FD del fluido polimérico es prácticamente no tóxico ($CL_{50-96h} > 30\ 000$ ppm) para las postlarvas y los juveniles de *L. setiferus*. Sin embargo la exposición crónica subletal de las dos fases del fluido ejerció efectos adversos en los juveniles.

En los juveniles de *L. setiferus* la exposición crónica a la fase particulada del fluido polimérico ejerció un mayor efecto tóxico que la fase disuelta.

La hidratación significativa de los juveniles de *L. setiferus* expuestos a la FPS del fluido puede relacionarse con una dilución de su medio interno, reflejando alteraciones en los procesos de regulación osmótica.

En los organismos expuestos en 50 000 ppm de la FPS el aumento en el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada, indican una mayor demanda energética y un aumento en la desaminación proteica.

En base a la relación atómica O/N, los juveniles de *Litopenaeus setiferus* expuestos a la fase disuelta tendieron a catabolizar mayor proporción de proteínas que de lípidos mientras que los organismos expuestos a la fase particulada presentaron una mayor dependencia proteica.

El crecimiento de los organismos expuestos a la FPS y a 10 000 ppm de la FD no fue modificado significativamente por el fluido y se relacionó directamente con el respectivo contenido calórico corporal. El incremento en el crecimiento de los camarones expuestos en 50 000 ppm FD se atribuye a respuestas de sobrecompensación u hormesis.

La disminución en la energía absorbida de los camarones expuestos a 10 000 ppm de la FPS y FD y a 50 000 ppm de la FPS, indica una alteración en la capacidad para incorporar y procesar el alimento incorporado. Sin embargo, el aumento en la tasa de ingestión de los camarones expuestos a 50 000 ppm de la FD denota mecanismos para compensar el efecto tóxico del fluido polimérico.

En los grupos expuestos a 10 000 y 50 000 ppm de la FPS y 10 000 ppm de la FD el aumento en la eficiencia de absorción sugiere una estimulación en la actividad de las enzimas digestivas.

La disminución de la energía ingerida en los camarones expuestos a 10 000 ppm de la FPS y la FD, indican una posible alteración en la atracción hacia el alimento o en su efectiva adquisición, en detrimento de la energía requerida para las funciones del mantenimiento de los organismos. En contraste, el aumento en la energía ingerida por los camarones expuestos en 50 000 ppm FD se relaciona con una mayor energía disponible para el crecimiento de los organismos.

La alteración fundamental en el balance energético de los camarones expuestos a 10 000 y 50 000 ppm FPS y 10 000 ppm FD obedece al incremento en la energía canalizada a la respiración (R) en detrimento de la energía destinada al crecimiento (C), resultados que de manera global reflejan el estrés fisiológico de los organismos por la exposición al fluido de perforación. No obstante y contrario a lo esperado, en los camarones expuestos a la FD 50 000 ppm FD, la mayor parte de la energía ingerida fue destinada al crecimiento. Este comportamiento se relaciona con una estrategia de sobrecompensación o de fenómeno hormético.

Los resultados obtenidos en el presente estudio denotan que el balance energético es un indicador integral del estrés ocasionado por los fluidos de perforación.

VI. ANEXOS.

ANEXO A. Composición del alimento suministrado (Formulado por la Dra. Gabriela Gaxiola, Subentidad Académica Cd. Del Carmen, Camp. Fac. de Ciencias, UNAM)

	g	%
HARINA DE PESCADO	108	36
HARINA DE CALAMAR	45	15
HARINA DE SOYA	99	33
ACEITE VEGETAL	3	1
ALMIDON	16.5	5.5
COLESTEROL	1.5	0.5
NOBIMIX	6	2
VITAMINA	5.1	1.7
MIM	2.4	.8
LECITINA	3	1
C.M.C.	15	3

ANEXO B. Contenido calórico corporal de los juveniles de *L. setiferus* al inicio ($\text{Cal}_i \text{ g}^{-1} \text{PS}$) y al término ($\text{Cal}_f \text{ g}^{-1} \text{PS}$) de la exposición de 15 días a diferentes concentraciones subletales de la fase disuelta (FD) y la fase de partículas suspendidas (FPS) del fluido de perforación polimérico. Se señalan valores promedio y el error estándar ($X \pm \text{E.S.}$).

Concentración (ppm)	$\text{Cal}_i \text{ g}^{-1} \text{PS}$	$\text{Cal}_f \text{ g}^{-1} \text{PS}$	$\text{Cal d}^{-1} \text{ ind}^{-1}$
Testigo, 0	4245.22 ± 283.77^a	4245.22 ± 283.77^a	0.599 ± 0.06^a
FPS, 10 000	4245.22 ± 283.77^a	4425.30 ± 446.87^a	0.336 ± 0.09^a
FPS 50 000	4245.22 ± 283.77^a	3011.72 ± 436.23^a	-0.199 ± 0.08^a
FD 10 000	4245.22 ± 283.77^a	3556.99 ± 663.11^a	0.138 ± 0.09^a
FD 50 000	4245.22 ± 283.77^a	4836.24 ± 336.97^b	1.049 ± 0.17^b

Superíndices diferentes en las columnas denotan diferencias significativas

VII. LITERATURA CITADA.

Alcaraz G., V. Espinoza, X. Chiappa and C. Vanegas. 1999. Acute effect of ammonia and nitrite on respiration of *Penaeus setiferus* under different oxygen levels. Journal of the World Aquaculture Society. 30(1): 98-106.

Alexander R. and J.M. Griffiths. 1992. Basic Biochemical Methods. 2th. Ed. Wiley and Sons Inc. Pub. N.Y. 353 pp.

Allredge A.L.; M. Elias and C.C. Gotschalk. 1986. Effects of drilling muds and mud additives on the primary production of natural assemblages of marine phytoplankton. Marine Environmental Research. 19:157-176

American Petroleum Institute. 1984. Standard Procedure for Drilling Fluid Bioassays. API RP 13H. Washington, D.C. 3126-3147.

American Petroleum Institute. 1989. Rapid Bioassay Procedures for Drilling Fluids. API No.4481. Washington, D.C. 2233-2304.

Anderson J.W., J.M. Neff, B.A. Cox, H.E. Tatem and G.M. Hightower. 1974. Characteristics of dispersions and water soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish. Marine Biology. 27:75-86.

APHA. American Public Health Association. 1985. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 16th Ed. Washington, D.C. 1268 pp

Beamish F.W.H. and E.A. Trippel. 1990. Heat increment. A static or dynamic dimension in bioenergetic models?. Transactions of the American Fisheries Society. 119:649-661.

Benka-Coker, M.O. and A. Olumagin. 1996. Effects of waste drilling fluid on bacterial isolates from mangrove swamp oilfield location in the Niger delta of Nigeria. Bioresource Technology. 55:175-179.

Bierkens J., J. Maes and F. Vander. 1998. Dose-dependent induction of heat shock protein 70 synthesis in *Raphidocelis subcapitata* following exposure to different classes of environmental pollutants. Environmental Pollution. 101: 91-97.

Bland R.G., C.Y.Chang and G.W.Bettge. 1987. Toxicity of drilling fluids using photobacteria and mysid shrimp bioassays. Society of Petroleum Engineers. No.16689:363-376.

Bookhout C.G., R.J. Monroe, R.B. Forward y J.D. Costlow. 1984. Effects of soluble fractions of drilling fluids on the development of crabs, *Rhithropanopeus harrish* and *Callinectes sapidus*. WaterAir and Soil.Pollution. 21:183-197.

Botello A.V., G. Ponce y S.A. Macko. 1996. Niveles de concentración de hidrocarburos en el Golfo de México. In: Botello A.V., J.L. Rojas-Galaviz, J.A.Benítez, D.Zárate-Lomelí (Eds.)

- Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. Universidad Nacional Autónoma de Campeche. EPOMEX. Serie Científica No. 5. 666 pp.
- Boudar C., C.Leeuwen, P. Voogt, D. Zandee. 1988. Effect of cadmium on the reproduction strategy of *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*. 12(4):301-310.
- Brito R., M.E. Chimal, G. Gaxiola y C. Rosas. 2000. Growth, metabolic rate, and digestive activity in the white shrimp *Litopenaeus setiferus* early postlarvae fed different diets. *Journal of Experimental Marine Ecology*. 255:21-36.
- Burton J. and T. Ford. 1985. Evaluating mineral oils for low toxicity muds. *Journal of Oil and Gas Technology* Baytown, Texas. 129-131.
- Busacker G.P., Y.R. Adelman and E.M. Goolish. 1990. Growth. In: Schreck, C. B. and P.B. Mayle (Eds.). *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society. USA. 363-389.
- Calabrese E. And L. Baldwin. 1998. Hormesis a biological hypothesis. *Environmental Health Perspectives*. 106(1):357-362.
- Campbell, J. 1989. Offshore muds must accomodate new environmental regulations. *The American Oil and Gas Report*. 424-426.
- Capuzzo J.M. and B.A. Lancaster. 1981. The physiological effects of South Louisiana crude oil on larvae of the american lobster (*Homarus americanus*) In: *Biological Monitoring of Marine Pollutants*. F.J.Vernberg, A. Calabrese, F.P. Thurberg and W.B. Vernberg (Eds). Academic Press. New York. 405-423 pp
- Carr R. S., L.A. Reitsema and J.M. Neff. 1980. Influence of a used chrome lignosulfonate drilling mud on survival, respiration, feeding activity and net growth efficiency of the opossum shrimp.
- Charmantier, G. 1998. Ontogeny of osmoregulation in crustaceans: a review. *Invertebrate Reproduction and Development*. 33 (2): 177-190.
- Cech, J. 1990. Respirometry. p. 335-362. In: Schreck, C. B. and P.B. Mayle (Eds.). *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society. USA.
- Chen J.C and F.H Nan. 1994. Comparisons of oxygen consumption and ammonia-N excretion of five penaeids. *Journal of Crustacean Biology*. 14(2): 289-294.
- Clark J.R. and Patrick. 1987. Toxicity of sediment-incorporated drilling fluids. *Bulletin of Marine Pollution*. 18:600-603.
- Claybrook, D.L. 1983. Nitrogen metabolism. In: Manten Lolt (Ed.). *The Biology of Crustacea. Internal Anatomy and Physiological Regulation*. Academic Press. New York. 5:163-213.
- Condrey R.E., J.G. Gosselink and H.J. Bennet. 1972. Comparasion of the assimilation of diferent diets by *Penaeus setiferus* and *Penaeus aztecus* . *Fisheries Bulletin*. 70:1281-1292.

- Conklin P.J.; D.Drysdale, D.G. Doughtie and K.R. Rao. 1983. Comparative toxicity of drilling muds: role of chromium and petroleum hydrocarbons. *Marine Environmental Research*. 10:105-125.
- Conover, R.J. 1966. Assimilation of the organic matter by zooplankton. *Limnology and Oceanography*. 11:346-354.
- Cranford P. J.; D.C. Gordon, K. Lee; S.L. Armsworthy and G.H. Tremblay. 1999. Chronic toxicity and physical disturbance effects of water and oil-based drilling fluids and some major constituents on adult sea scallops (*Placopecten magellanicus*). *Marine Environmental Research*. 48: 225-256.
- Dall W. and D.J. Morriarty. 1983. Functional Aspects of Nutrition and Digestion. In: *The Biology of Crustacea. Internal Anatomy and Physiological Regulation*. Academic Press. New York. 382 pp.
- Derby C.D. and J. Atema. 1981. Influence of drilling muds on the primary chemisensory neurons in walking legs of the lobster, *Homarus americanus*. *Canadian Journal of Fish Aquatic Science*. 38:268-274.
- Derby J.G. and J.M. Capuzzo. 1984. Lethal y sublethal toxicity of drilling fluids to larvae of the American lobster, *Homarus americanus*. *Canadian Journal of Fish Aquatic Science* 41:1334-1340.
- Derby J.G. and J. M. Capuzzo. 1985. Wastes in the Ocean. *In: Duedall I. W, D.R. Kester, P. Kilho and B.H. Ketchum. (Eds.) Energy Wastes in the Ocean. Environmental Science and Technology*. 4: 289-305.
- Díaz-Herrera L., F. Buckle y A Reichelt. 1993. Osmoregulación y campo de crecimiento de *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea: Palaemonidae). *Revista de Biología Tropical*. 41(3): 585-590.
- Dodge, E. 1982. Effects of drilling mud on the reef-building coral *Montastrea annularis*. *Marine Biology*. 71:141-147.
- Duke T.W., P.R. Parrish, R.M. Montgomery, S.D. Macauley and G.M. Cripe. 1984. Acute toxicity of eighth laboratory prepared generic drilling fluids to mysids (*Mysidopsis bahia*) Environmental Protection Agency-600/ 3-84-067. 30 pp.
- Elliot J.M. and W. Davison. 1975. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. *Oecología*. 19:195-201.
- Environmental Protection Agency. 1987. Quality Criteria for Water. United States Environmental Protection Agency. Office of Water Regulations and Standards. Washington, C. EPA 440/5-86-001. No. 204060.

Environmental Protection Agency. 1999 Effluent limitations guidelines and new source performance standards for synthetic-based and other non-aqueous drilling fluids in the oil and gas extraction point source category, proposed rule. *Federal Register*. 64(22):5535.

Environmental Protection Series. 1990. Guidance Document on Control or Toxicity Test Precision Using Reference Toxicans. EPS 1/RM/12. Ontario, Canadá. 85pp.

Espina S., F. Díaz, C. Rosas e I. Rosas. 1986. Influencia del detergente sobre el balance energético de *Ctenopharyngodon idella* a través de un bioensayo crónico. *Contaminación Ambiental*. 2: 25-37.

Espina S. y C. Vanegas. 1996. Ecotoxicología y contaminación. p. 69-106. *In*: Botello A.V.; J.L. Rojas, J.A. Benitez y D. Zárate. (Eds). Golfo de México. Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y tendencias. EPOMEX. Serie científica 5. Universidad Autónoma de Campeche. México, 666 p.

Fucik K.W., K.A. Carr and B.J. Balcom. 1995. Toxicity of oil to the eggs and larvae of seven marine fish and invertebrates from the Gulf of Mexico. *ASTM STP*. Philadelphia. 1252: 135-171.

Gaetz C.T., R. Montgomery and T.W. Duke. 1986. Toxicity of used drilling fluids to mysids (*Mysidopsis bahia*). EPA 600-J-86/237. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 5(9): 813-821.

Gaudy R., J. P. Guerin and P. Kerambrun. 1991. Sublethal effects of cadmium on respiratory metabolism, nutrition, excretion and hydrolase activity in *Leptomysis lingvura* (Crustacea: Mysidacea). *Marine Biology*. 109: 493-501.

Gaxiola, G. 1994. Requerimientos nutricionales de las postlarvas de *Penaeus setiferus* y *P. duorarum* (Crustacea, Penaeidae). Tesis de Grado de Doctor en Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 110 pp.

Gilbert T.R, G.C. Mcleod, A.J. Barker, E. Bergholz-Nelson, J.A. Kareka, B.A. Penney, K. Smith, L. Urry and D. Wayne. 1981. A study of the impact of discharged drilling fluids on the Georges Bank environment. New England Aquarium. Boston, Massachusetts. Environmental Protection Agency. 110 pp.

Gilles, R. 1979. Mechanisms of Osmoregulation in Animals. Copyright. Gran Bretaña, Inglaterra. 661 pp.

Gitipour S., M.T. Oweers, W. Huff and A. Bodocsi. 1998. The efficiency of modified bentonite clays for removal of aromatic organics from oily liquid wastes. *Spill Science & Technology Bulletin*. 4 (3): 155-164.

Gómez-Jimenéz S., R.F. Uglow and J. Hernández-López. 1998. The effects of hypo-and hiper-osmotic media on ammonia efflux rates and haemolymph constituent levels in the spiny lobster, *Panulirus interruptus*. Proceedings of the Forth International Crustacean Congress. Amsterdam, Netherlands. *Crustaceans and Biodiversity Crisis*. 1:889-902.



- Gracia G. A. and J.A. Soto. 1990. Populations study of the penaeid shrimp of Terminos Lagoon, Campeche, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología Universidad Nacional Autónoma de México*. 17(2): 241-255.
- Gracia, G.A., 1989. Ecología y pesquería del camarón blanco *Penaeus setiferus* (Linnaeus 1767) en la Laguna de Términos, Sonda de Campeche. *Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. 127 pp.
- Graney R.L. and J.P. Giesy. 1986. Effects of long-term exposure to pentachlorophenol on the free amino acid pool and energy reserves of the freshwater amphipod *Gammarus pseudolimnaeus* Bousfield (Crustacea, Amphipoda). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 12(3):233-251.
- Green A., D. More, D. Farrar. 1999. Chronic toxicity of 2,4,6-trinitrotoluene to a marine polychaete and an estuarine amphipod. 18(8):1783-1790.
- Guerin J.L. and W.B. Stickle. Effect of salinity on survival and bioenergetics of juvenile lesser blue crabs, *Callinectes similis*. *Marine Biology*. 129:63-69.
- Hinds-Aston A. and R. Clements. 1982. New oil mud phases environmental tests NL-BAROID/Industries Inc. SPE 11113: 1-8.
- Hinds A.A., S.P. Smith and E.K. Marton. 1986. A comparasion of the performance, cost and environmental effects of diesel-based and low toxicity oil mud systems. NL-Baroid/Industries-Inc SPE 11891: 169-188.
- Hodgson E. and P.Levi. 1987. *Modern Ecotoxicology*. Elsevier. U.S.A.21-24.
- Instituto Mexicano del Petróleo. 1979. *Manual de Tecnología de Lodos*. K/P1/47. México. No 796987. 210 pp.
- Jones F.V., W.Bettge, R. Garrison and A.J. Leuterman. 1986. Drilling fluid firms respond to EPA toxicity concerns. *Journal of Oil and Gas Technology*. Baytown, Texas. 71-77.
- Kasymov A.G. and E.E. Velikhanov. 1992. The joint effect of oil and drilling agents on some invertebrate species of the Caspian sea. *Water Air and Soil Pollution*. 62: 1-11.
- Kelly J. R., T.W. Duke, M.A. Harwell and C.C. Harwell. 1987. An ecosystem perpesctive on potential impact of drilling fluid discharges on seagrasses. 11(4).537-562.
- Knops M., R. Altenburger, H. Segner. 2001. Alterations of physiologicla energetics, growth and reproduction of *Daphnia magna* under toxicant stress. *Aquatic Toxicology*. 53:79-90.
- Laughlin R., J. Ng., H. Guard. 1981. Hormesis: a response to low environmental concentrations of petroleum hydrocarbons. *Science*. 211(4483):705-707.

- Lemos D. and V.N. Phan. 2001. Energy partitioning into growth, respiration, excretion and exuvia during larval development of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Aquaculture* 199:131-143.
- Libes, S.M. 1992. *An Introduction to Marine Biogeochemistry*. Copyright. E.U.A. 724 pp.
- Lignot J.H., J.P. Trilles, G. Charmantier. 1997. Effects of organophosphorus insecticide, fenitrothion, on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* (Crustacea:Decapoda) *Marine Biology*. 128:307-316.
- Lignot J.H., G. Spanings-Pierrot and G. Charmantier. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture*. 191:209-245.
- Logan D.T. and C.E. Epifanio. 1978. A laboratory energy balance for the larvae and juveniles of the american lobster *Homarus americanus*. *Marine Biology*. 47:381-389.
- Lowry O.R., N.J. Rosenbrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry*. 193: 265-275.
- Lovett D.L. and D.L. Felder. 1989. Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda: Penaeidae) *Journal of Morphology*. 201: 253-272.
- Lucas, A. 1996. *Bioenergetics of Aquatic Animals*. Taylor & Francis. 165 pp.
- Lummis, M.J. 1993. The U.K. Governments approach to the use of oil based drilling muds on the UCKS. Department of Energy. 1-8.
- Mantel, L.H. 1983. *The Biology of Crustacea. Internal Anatomy and Physiological Regulation*. Academic Press. New York. 54-143.
- Marshal, S. 1990. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. In: Marshal, S. *Biological Indicators of Stress in Fish*. Copyright. U.S.A. 1-8 pp.
- Martínez-Jerónimo F. and R. García-González. 1994. Effect of food concentration on the chronic toxicity of sodium dodecyl sulfate to *Daphnia magna*. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*. 3:247-253.
- Mayzaud P. and R.J. Conover. 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology Progress Series*. 45(3): 289-302.
- Moles A. and S.D. Rice. 1983. Effects of crude oil and naphthalene on growth, caloric content, and fat content of pink salmon juveniles in seawater. *Transactions of the American Fisheries Society*. 112(2A):205-211.
- Monaghan P.H., C.D. McAuliffe and F.T. Wels. 1980. Environmental Aspects of Drilling Muds and Cuttings from Oil and Gas Operation in Offshore and Coastal Water. P.143-432. In: Geyer

- R.A. (Ed). Environmental Pollution Hydrocarbons. Elsevier Oceanography Series. Scientific Publication Company, New York.
- Moynihan K.J., J.B. Macleod, Y.V. Hardy, A.R. Teal, M.L. Korchinsky, D.C. Roberts, I.B. Zaborski and J.R. Creasey. 1988. Toxicity evaluations of drilling sump fluids: microtox versus fish toxicity test. Esso Resources Canada Limited. Technical Report. 699-729.
- Muñoz-Mejía, G. 1997. Cultivo experimental de tres especies de cladóceros de la familia Daphnidae y evaluación de su utilidad como organismos de prueba en estudios toxicológicos. Instituto Politécnico Nacional. 146 pp.
- Muñoz-Mejía G, L.E. Domínguez-Cuellar, V.M. Luna-Pabello, R.M. Núñez-García. 2000. Acute toxicity of drilling fluids used in Mexican offshore facilities tested with postlarvae white shrimp (*Litopenaeus setiferus*) Society of Petroleum Engineers. SPE 61499.
- New England Aquarium. 1984. Survey of the toxicity and chemical composition of used drilling muds. EPA-600/3-84-071:125 pp.
- Parker J.H., J.S. Nickels, R.F. Martz, M.J. Gehron, N.L. Richards and D.C. White. 1984. Effect of well-drilling fluids on the physiological status and microbial infection of the reef building coral *Montastrea annularis*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 13:113-118
- Parrish R.P., J.M. Macauley and R.M. Montgomery. 1986. Acute toxicity of two generic drilling fluids and six additives alone and combined, to mysids (*Mysidopsis bahia*). Environmental Research Laboratory. Gulf Breeze, Florida, USA. 415-426.
- Payne J.F., L.L. Fancey, J. Hellou, M.J. King and G.L. Fietcher. 1995. Aliphatic hydrocarbons in sediments a chronic toxicity study with winter flounder (*Pleuronectes americanus*) exposed to oil well drill cuttings. Canadian Journal of Fish Aquatic Science. 52: 2724-2735.
- Petróleos Mexicanos 1978. Gerencia de Reparación y Terminación de Pozos. Fluidos de Control. Instituto Mexicano del Petróleo. México, D.F. 193 pp.
- Pequeux, A. 1995. Osmotic regulation in crustaceans. Journal of Crustacean Biology 15: 1-60 pp.
- Pickering, A.D. 1981. Introduction: the Concept of Biological Stress. In: Pickering, A.D. Stress and Fish. Academic Press. London. Págs: 1-9
- Piña, L.E. 2001. Tolerancia del amonio, nitrito y oxígeno disuelto en postlarvas y juveniles del camarón blanco *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) y *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1981) (Crustacea, decapoda). Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, UNAM. 60 pp.
- Powell E.N., S.J. Connor, J.J. Kendall, C.E. Zastrow and T.J. Bright. 1984. Recovery by the coral *Acropora cervicornis* after drilling mud exposure. The Free Aminoacid Pool. 13: 243-258.

- Prosser, L. 1991. Environmental and Metabolic Animal Physiology. 4ta edición. Wiley-Liss. U.S.A. págs. 353-435.
- Rand, G.M. 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Effects Environmental Fate, and Risk Assessment. Taylor and Francis. U.S.A. 493-515.
- Rand G. M. and S.R. Petrocelli. 1985. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Copyright. U.S.A. 666 pp.
- Randall D., W. Burggren and K. French. 1997. Animal Physiology. Mechanisms and Adaptations. 4ta edición. Copyright. 728 pp.
- Rasmussen A.D., A. Krag, P. Bjerregaard, J.M. Weeks, M.H. Depledge. 1995. The effects of trace metals on the apparent water permeability of the shore crab *Carcinus maenas* (L.) and the brown shrimp *Crangon crangon* (L.). Marine Pollution Bulletin. 31:1-3
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. Biology Review. 62:1-24
- Ribelles A., M. Carrasco, M. Rosety and M. Aldana. 1995. A histochemical study of the biological effects of sodium dodecyl sulfate on the intestine of the gilthead seabream *Sparus aurata* L. Ecotoxicology and Environmental Safety. 32: 131-138.
- Rice, J. A. 1990. Bioenergetics Modeling Approaches in Evaluation of Stress in Fish. In: Marshal, S. Biological Indicators of Stress in Fish. Copyright. U.S.A. 80-92 pp.
- Ríos, H.E. 2001. Efecto del amonio en la osmoregulación de juveniles de *Litopenaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda). Tesis de Lic. En Biología. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Roast, S.D., J. Widdows and M.B. Jones. 2000. Egestion rates of the estuarine mysid *Neomysis integer* (Peracarida: Mysidacea) in relation to a variable environment. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 245:69-81.
- Robles, C. 2001. Efecto subletal del amonio sobre juveniles de *Litopenaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda). Maestría en Biología de Sistemas y Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias, UNAM. 58 pp.
- Rodier, J. 1981. Analisis de las Aguas. Omega. Barcelona. 504 p.p.
- Roesijadi G., S.R. Petrocelli, J.W. Anderson, B.J. Presley, R. Sims. 1974. Survival and chloride ion regulation of the porcelain crab *Petrolisthes armatus* exposed to mercury. Marine Biology. 2:213-217.
- Rosas C., A. Sánchez, E. Escobar, L. Soto and A. Bolongaro-Crevenna. 1992. Daily variations of oxygen consumption and glucose hemolymph level related to morphological and ecological adaptations of crustacea. Comparative Biochemistry and Physiology. 101A (2): 323-328.

- Rosas C., C. Vanegas, I. Tabares and J. Ramírez. 1993. Energetic balance of *Callinectes rathbunae* Contreras 1930 in floating cages in a tropical coastal lagoon Journal of World Aquaculture Society. 24 (1): 70-79 pp.
- Rosas C., A. Sánchez, E. Diaz-Iglesia, R. Brito, E. Martínez, y L. Soto. 1997. Critical dissolved oxygen level to *Penaeus setiferus* and *P. schmittii* postlarvae (PL 10-18) exposed to salinity changes. Aquaculture. 2: 259-272.
- Rosas, C.; E. Martínez; G. Gaxiola; R. Brito; A. Sánchez y L. Soto. 1998. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 241(1):41-57.
- Sabaté, R.W. and E.L. Dewailly. 1990. Toxicity testing with bioluminescence. Offshore Technology Conference. Houston, Texas. 6301: 281-285.
- Sancho E., M.D. Ferrando, E. Andreu. 1998. Effects of sublethal exposure to a pesticide on levels of energetic compounds in *Anguilla anguilla*. Journal of Environmental Science and Health. Part B. B33(4): 411-424.
- Sarabia R., A. Torreblanca, J. Del Ramo, J. Díaz-Mayans. 1998. Effects of low mercury concentration exposure on hatching, growth and survival in the Artemia strain La Mata parthenogenic diploid. Comparative Biochemistry and Physiology A. 120^a(1):93-97.
- SEMARNAP. 1997. Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. Delitos Ambientales. Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca.
- Schreck, C. B. 1990. Physiological, behavioral and performance indicators of stress. 29-37 p. In: Biological Indicators of Stress in Fish. Adams S.M. (Ed.). American Fisheries Symposium 8. Bethesda, Maryland.
- Smith J.G. and J.M. Capuzzo. 1984. Physiological and behavioral effects of drilling fluids on marine crustaceans. In: Duedall, I.W.; D. R. Kester; P. K. Park; B. H. Ketchum. Wastes in the Ocean. 4:289-305.
- Stromgren T., M.V. Nielsen and K. Ueland. 1986. Short term effect of microencapsulated hydrocarbons on the shell growth of *Mytilus edulis*. Marine Biology. 91:33-39
- Tagatz M.E., J.M. Ivey, C.E. Dalbo and J.L. Oglesby. 1982. Responses of developing estuarine macrobenthic communities to drilling muds. Estuaries. 5(2): 131-137.
- Taboada G., G.Gaxiola, T. García, R. Pedroza, A. Sánchez, L.A. Soto y C. Rosas. 1998. Oxygen consumption and ammonia-N excretion related to protein requirements for growth of white shrimp, *Penaeus setiferus* (L.) juveniles. Aquaculture Research. 29: 1-11.

- Ting, Y.Y. 1970. Study on the oxygen consumption of grass shrimp, *Penaeus monodon*, and sand shrimp, *Metapenaeus monoceros*. In: Chen J.J. and F.-H Nan. 1994. Comparisons of oxygen consumption and ammonia-N excretion of five penaeids. *Journal of Crustaceana Biology*. 14(2): 289-294
- Vanegas, C. 1996. Efectos subletales de cadmio y zinc en el camarón blanco *Penaeus setiferus*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Fac. de Ciencias, UNAM. 118 pp.
- Villareal H. and L. Ocampo. Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis* (Holmes, 1900). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 106 A (1): 97-101.
- Walker C.H. and D.R. Livingstone. 1992. *Persistent Pollutants in Marine Ecosystems*. Pergamon Press. Great Britain. 272 pp.
- Whiting V.K., G.M. Cripe and J.E. Lepo. 1996. Effects of the anionic surfactant, sodium dodecyl sulfate, on newly-hatched blue crabs, *Callinectes sapidus*, and other routinely tested estuarine crustaceans. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 31: 293-295.
- Widdows J. and D. Johnson. 1988. Physiological energetics of *Mytilus edulis*: scope for growth. *Biological effects of pollutants. Results of a Practical Workshop*. 46(1-3): 113-121.
- Widdows J., K.A. Burns, N.R. Menon, D.S. Page, S. Sonia. 1990. Measurement of physiological energetic (scope for growth) and chemical contaminants in mussels (*Arca zebra*) transplanted along a contamination gradient in Bermuda. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 138(1-2): 99-117
- Zar, J. 1996. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. N. Y. 620 p.
- Zúñiga O., R. Wilson y E. Oyarce. 1984. Tasa de excreción de amonio del camarón de roca *Rhynchocinetes typus* en condiciones de laboratorio (Crustácea. Decápoda. Rhynchocinetidae). *Revista de Biología Marina*. 20 (2). 113-126.