

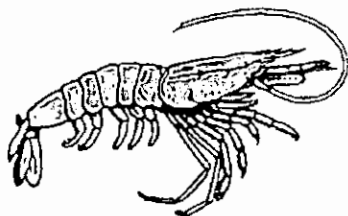
74

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA



EFFECTO DEL AMONIO A DISTINTOS NIVELES DE PH Y
TEMPERATURA SOBRE LA SOBREVIVENCIA Y EXCRECIÓN DE
POSTLARVAS DE CAMARON BLANCO *Penaeus vannamei*
(Boone,1931).



T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G A

P R E S E N T A

ADRIANA BERENICE LÓPEZ MORENO

297403

DIRECTOR DE TESIS: BIOL. FRANCISCO J. MAGALLON BARAJAS.

LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MEXICO 2001.





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.

Dedicatoria:

*A mis padres Adolfo y Ana
por todo su apoyo, amor, sacrificio y paciencia,
alentándome siempre a ser mejor cada día.*

*Para Ustedes con mucho amor
este manuscrito, recibanlo como un logro
propio.*

A todos los que creyeron en mí

RECONOCIMIENTOS.

Esta tesis fue dirigida por el Biólogo Francisco Javier Magallón Barajas y la M. En C. Rosalía Servín Villegas, en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. dentro de los proyectos "Cultivos Marinos" y "Biología y Toxicología de Invertebrados Terrestres y Acuáticos del Noroeste de México" (AGEC-2). A quienes agradezco el apoyo brindado durante la realización del presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar agradezco al biólogo Francisco Javier Magallón Barajas y a su esposa M. en C. Rosalía Servín Villegas por compartir sus conocimientos conmigo y por todo el apoyo recibido durante el desarrollo del presente trabajo.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR) por hacer posible la realización de este trabajo, así como al programa de postgrado del mismo, por las facilidades otorgadas durante mi estancia en el mismo.

Mi agradecimiento sincero a Guillermo Portillo, Mayra Rojas, Gilberto Colado, Carlos Ceseña, Baudilio Acosta, Carmen Rodríguez y Lucía Ocampo por su ayuda en la parte experimental de este trabajo y por compartir sus conocimientos y experiencias conmigo. Agradezco también a mis revisores de tesis: Biol. Asela Rodríguez, Biol. Héctor Molina y M. en C. Sergio Cházaro, por sus atinados comentarios para mejoría del manuscrito final. A todos mis profesores por sus conocimientos y ejemplos. Al Biól. Juan Antonio Salas por sus comentarios y ayuda en el escrito final del documento.

Un agradecimiento especial para mis amigos "paceños": Sra. Lupita, Vero, Paco y Don Chava, por hacer más fácil el camino en un lugar desconocido, así como por soportarme y compartir conmigo momentos de alegría y tristeza, dándome siempre confianza para seguir adelante. Mil gracias por su apoyo.

Quiero agradecer también muy especialmente a Joaquín García por su apoyo inquebrantable durante la realización de este trabajo, por ayudarme a ser mejor y por enseñarme a darle el valor necesario cada cosa. "Gracias por estar conmigo cuando más lo necesité".

Gracias a todas aquellas personas que caminaron junto a mí en este largo y difícil camino, que no por no mencionarlas dejan de ser importantes, ya que siempre pude contar con ustedes.

Finalmente quiero agradecer profundamente a mis Padres y a mi hermana Sandra, porque sin su apoyo y cariño no hubiera podido llegar hasta donde estoy ahora, pues ellos me enseñaron que a pesar de los días nublados, siempre hay un rayo de sol que viene a darnos esperanza.

Mil gracias a todos por confiar en mí. . . .

Indice

Página

Indice de Cuadros	ii
Indice de Figuras	iv
Resumen	1
1.- Introducción	2
1.1.- Justificación	6
2.- Objetivos	8
2.1.- Objetivo General	8
2.2.- Objetivos Particulares	8
3.- Generalidades	9
3.1.- Clasificación taxonómica de la especie	10
3.2.- Ciclo de vida	11
3.3.- Sistema excretor	12
3.4.- Toxicidad por amonio	13
3.5.- Mecanismos de regulación	13
4.- Antecedentes	14
5.- Materiales y Métodos	19
5.1.- Descripción del área experimental	19
5.2.- Organismos experimentales	19
5.3.- Técnicas utilizadas	20
5.4.- Diseño experimental	21
5.4.1.- Experimento 1	22
5.4.2.- Experimento 2	23
5.5.- Análisis estadísticos	28
6.- Resultados	29
7.- Discusión.	37
8.- Conclusiones	43
9.- Literatura Citada	44

INDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 1.- Concentración de amonio acumulado durante el empaque de postlarvas de 10 días de edad de <i>P. vannamei</i> a diferentes densidades durante 24 horas	49
Cuadro 2.- Porcentaje de sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 26°C	50
Cuadro 3.- Porcentaje de sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 28°C	50
Cuadro 4.- Porcentaje de sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 30°C	51
Cuadro 5.- Porcentaje de sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 32°C	51
Cuadro 6.- Concentración de amonio total al final del experimento en distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 26°C	52
Cuadro 7.- Concentración de amonio total al final del experimento en distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 28°C	52
Cuadro 8.- Concentración de amonio total al final del experimento en distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 30°C	53
Cuadro 9.- Concentración de amonio total al final del experimento en distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 32°C	53

Cuadro 10.- Análisis de varianza practicado a los datos de sobrevivencia para pL5 tratadas con y sin amonio	54
Cuadro 11.- Análisis de varianza practicado a los datos de sobrevivencia para pL10 tratadas con y sin amonio	55
Cuadro 12.- Análisis de varianza practicado a los datos de sobrevivencia para pL15 tratadas con y sin amonio	56
Cuadro 13.- Análisis de varianza practicado a los datos de sobrevivencia para pL20 tratadas con y sin amonio	57
Cuadro 14.- Análisis de varianza practicado a los datos de sobrevivencia para pL25 tratadas con y sin amonio	58
Cuadro 15.- Análisis de varianza practicado a los datos de sobrevivencia para pL30 tratadas con y sin amonio	59
Cuadro 16.- Análisis de varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL5 tratadas con y sin amonio	60
Cuadro 17.- Análisis de varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL10 tratadas con y sin amonio	61
Cuadro 18.- Análisis de varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL15 tratadas con y sin amonio	62
Cuadro 19.- Análisis de varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL20 tratadas con y sin amonio	63
Cuadro 20.- Análisis de varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL25 tratadas con y sin amonio	64
Cuadro 21.- Análisis de varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL30 tratadas con y sin amonio	65

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Unidad experimental utilizada en los bioensayos	21
Figura 2.- Aclimatación de organismos durante el experimento	25
Figura 3.- Experimento de exposición de las postlarvas al amonio bajo diferentes condiciones de pH y temperatura	27
Figura 4.- Porcentaje de sobrevivencia de pL5 de <i>P. vannamei</i>	66
Figura 5.- Porcentaje de sobrevivencia de pL10 de <i>P. vannamei</i>	67
Figura 6.- Porcentaje de sobrevivencia de pL15 de <i>P. vannamei</i>	68
Figura 7.- Porcentaje de sobrevivencia de pL20 de <i>P. vannamei</i>	69
Figura 8.- Porcentaje de sobrevivencia de pL25 de <i>P. vannamei</i>	70
Figura 9.- Porcentaje de sobrevivencia de pL30 de <i>P. vannamei</i>	71
Figura 10.- Porcentaje de sobrevivencia de postlarvas de distinta edad de <i>P. vannamei</i> tratadas con amonio bajo 4 distintos valores de pH y temperatura a una salinidad de 38‰	72
Figura 11.- Porcentaje de sobrevivencia de postlarvas de distinta edad de <i>P. vannamei</i> tratadas sin amonio bajo 4 distintos valores de pH y temperatura a una salinidad de 38‰	73
Figura 12.- Concentración de amonio acumulada al final del experimento de postlarvas de distinta edad de <i>P. vannamei</i> tratadas con amonio bajo 4 distintos valores de pH y temperatura	74
Figura 13.- Concentración de amonio acumulada al final del experimento de postlarvas de distinta edad de <i>P. vannamei</i> tratadas sin amonio bajo 4 distintos valores de pH y temperatura	75
Figura 14.- Gráfica de cajas y bigotes de la sobrevivencia de postlarvas de todas las edades de <i>P. vannamei</i> , tratadas con 7 mg/l de amonio con diferentes valores de pH	76
Figura 15.- Gráfica de cajas y bigotes de la sobrevivencia de postlarvas de todas las edades de <i>P. vannamei</i> , en el tratamiento testigo (sin amonio), con diferentes valores de pH	77

Figura 16.- Gráfica de cajas y bigotes de la sobrevivencia de postlarvas de todas las edades de <i>P. vannamei</i> , sometidas a un pH de 9 y una concentración de 7 mg/l de amonio, en diferentes temperaturas	78
Figura 17.- Gráfica de cajas y bigotes de la sobrevivencia de postlarvas de todas las edades de <i>P. vannamei</i> , del grupo testigo, sometidas a un pH de 9 y diferentes valores de temperatura	79
Figura 18.- Gráfica de sobrevivencias medias y límites de confianza al 95% de postlarvas de <i>P. vannamei</i> sometidas a un pH de 9 y 7 mg/l de amonio en diferentes temperaturas	80
Figura 19.- Gráfica de sobrevivencias medias y límites de confianza al 95% del grupo testigo de postlarvas de <i>P. vannamei</i> de todas las edades, sometidas a un pH de 9 con distintos valores de temperatura	81
Figura 20.- Gráfica de sobrevivencias medias y límites de confianza al 95% para las distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> sometidas a 7 mg/l de amonio y un pH de 9	82
Figura 21.- Gráfica de sobrevivencias medias y límites de confianza al 95% para las distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> sometidas a un pH de 9 y libres de amonio	83
Figura 22.- Gráfica de regresión lineal de la sobrevivencia de postlarvas de <i>P. vannamei</i> con respecto a la temperatura, sometidas a 7mg/l de amonio y pH de 9	84
Figura 23.- Gráfica de regresión lineal de la sobrevivencia de postlarvas de <i>P. vannamei</i> con respecto a la temperatura, sometidas a un pH de 9 y libres de la exposición al amonio	85
Figura 24.- Gráfica de regresión lineal de la sobrevivencia de las distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> con respecto a la edad, sin la aplicación de amonio y pH de 9	86
Figura 25.- Gráfica de regresión lineal de la sobrevivencia de las distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> con respecto a la edad, sometidas a 7 mg/l de amonio y pH de 9	87
Figura 26.- Gráfica de regresión lineal de la sobrevivencia de las distintas edades de postlarvas de <i>P. vannamei</i> con respecto a la edad, sometidas a 7 mg/l de amonio con pH de 9 y temperatura de 28°C	88

Figura 27.- Gráfica de regresión lineal de la sobrevivencia de las distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* con respecto a la edad, sometidas a 7 mg/l de amonio con pH de 9 y temperatura superior a 28°C89

Figura 28.- Gráfica de regresión lineal de la sobrevivencia de las distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* con respecto a la edad, tratadas con un pH de 9, libres de amonio en temperatura superior a 28°C90

Figura 29.- Gráfica de regresión lineal de la sobrevivencia de las distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* (hasta pL20) con respecto a la edad, expuestas a 7 mg/l de amonio y temperatura superior a 28°C91

Figura 30.- Gráfica del efecto que tiene la edad sobre la excreción de amonio en postlarvas de *P. vannamei* tratadas en un ambiente libre de amonio92

Figura 31.- Gráfica del efecto que tiene la edad sobre la excreción de amonio en postlarvas de *P. vannamei* sometidas a 7 mg/l de amonio93



RESUMEN

Debido a la importancia que tiene el generar conocimiento en los diferentes aspectos de la biología de las especies de camarones que son utilizadas en la acuicultura comercial, como es el caso de *Penaeus vannamei*, para entender su fisiología, comportamiento y las condiciones ambientales óptimas para su desarrollo, se realizó este estudio, en el cual postlarvas de diferentes edades desde uno hasta treinta días fueron sometidas a 16 escenarios con diferentes combinaciones de pH y temperatura, mediante una matriz experimental de cuatro niveles de pH correspondientes a 6, 7, 8 y 9, combinados con cuatro niveles de temperatura: 26, 28, 30 y 32°C. Estos escenarios se realizaron por duplicado, con el fin de formar un grupo testigo con agua marina sin amonio, y otro grupo completo al cual se le adicionó cloruro de amonio (7mg/l) para valorar los efectos de éste en la sobrevivencia de los organismos tratados bajo las condiciones antes mencionadas. Con objeto de determinar la concentración de amonio que se utilizó en los experimentos, se realizó previamente una simulación de transporte de organismos en empaques comerciales, al término del cual, se midieron las concentraciones finales, siendo 7 mg/l la concentración máxima obtenida. Se observó que a un pH de 9 y temperaturas mayores a 26°C, el amonio tiene un efecto muy visible sobre la sobrevivencia y la excreción, ya que se incrementa la tasa de mortalidad obteniéndose valores de 10% de sobrevivencia en temperaturas de 32°C hasta 87% en temperaturas de 30°C. También se inhibe dicha excreción, a diferencia de las bajas temperaturas (26 y 28°C) y valores de pH inferiores a 9, donde no se presentó un efecto significativo en los tratamientos, aún en aquellos a los que se había adicionado amonio previamente, manteniéndose una sobrevivencia de 100% en todos los estadios larvarios. Por tanto se concluye que el pH y la temperatura, influyen de manera importante en la supervivencia y excreción de los organismos independientemente de la edad de éstos.



1. – INTRODUCCIÓN

La producción mundial de productos acuáticos, ha crecido de 7.7 millones a 18.5 millones de toneladas, entre los años de 1985 a 1994, gracias al desarrollo acelerado de la acuicultura de peces, crustáceos y moluscos, lo que representó un 140% de incremento. En el mismo periodo, el cultivo de camarón tuvo un crecimiento del 132%, donde el camarón marino representó el 86% en 1994 (New, 1997). Por otra parte, la captura de camarón mediante la pesca industrial, ha disminuido aproximadamente en un 25%. México es uno de los países más importantes, a nivel mundial, en la explotación pesquera del camarón, en comparación con otras pesquerías, como la de peces y moluscos. Su producción anual era, hasta hace algunos años, de 75,000 toneladas, de la cual se exportaba entre el 80 y 90% (RPI, 1979 citado en Sepúlveda, 1981).

La demanda mundial de este producto permitió el nacimiento y desarrollo de la camaronicultura, con el objeto de abastecer al mercado mundial y el de recuperar los mercados en los que México participó destacadamente hasta hace algunos años (Martínez, 1996). La producción de camarón cultivado en México ocupaba, en 1995, el 2º lugar en Latinoamérica y el 10º a nivel mundial. A partir de este año, nuestra nación formó parte de los primeros 10 países con mayor producción de camarón (Sierra, 1996; Cáceres, 1997).

Gracias a su importancia económica los camarones representan dentro de los crustáceos, uno de los grupos que han despertado mayor interés en la acuicultura y por consiguiente en la reproducción de la especie y la producción controlada de crías para abastecer la creciente superficie de cultivo (Martínez, *Op. Cit.*).

Nuestro país posee grandes extensiones en donde es factible el cultivo de camarón, a lo largo de sus costas, cuenta con un millón y medio de hectáreas de aguas litorales, bahías someras y zonas estuarinas, de las cuales 335,000 ha. aproximadamente tienen condiciones adecuadas para

desarrollos acuícolas, de este total, Baja California Sur posee 30,000 ha. (SEPESCA, 1994), que junto con Sonora y Sinaloa, son considerados como los principales estados productores de camarón en México (Mazón y colaboradores, 1996). Por esta razón, se han realizado investigaciones que han permitido conocer más a fondo especies cultivables en cada región del país considerada como factible. Una de estas especies, es el camarón blanco *Penaeus vannamei*, nativo de la costa oriental del Océano Pacífico, el cual se distribuye en el Pacífico, desde Sonora hasta el norte del Perú, habitando en fondos lodosos, desde la orilla de la playa hasta profundidades mayores a los 72 metros (Dore y Frimoldt, 1987).

El régimen de explotación que ha seguido la flota camaronera, ha mermado este recurso, por lo que se tiene un gran interés en desarrollar técnicas de cultivo que permitan incrementar la producción y así aumentar las divisas obtenidas por su exportación.

Una de las especies más importantes en la acuicultura es el camarón blanco *P. vannamei* (Boone, 1931), ya que tiene cualidades que permiten su cultivo y que aventajan a otras especies de camarones de América, por ejemplo, son camarones que alcanzan gran tamaño, tienen una rápida tasa de crecimiento, adaptabilidad para reproducirse en cautiverio y gran tolerancia a variaciones de factores ambientales, como oxígeno disuelto, pH, salinidad, temperatura y densidad de siembra. Ésto, la ha llevado a ser considerada como la especie de mayor importancia económica en México (Martínez, 1996).

Por otra parte, se ha comprobado que las aguas costeras pueden ser utilizadas para el cultivo exitoso de varias especies marinas, siempre y cuando éstas no se encuentren contaminadas. Generalmente el agua marina es enriquecida con compuestos derivados de la excreción de los organismos ahí cultivados, como peces y crustáceos (Teichert, 1994). Dentro de los más importantes están los compuestos nitrogenados, de los cuales el más importante es el amonio, que

se origina de la amonificación, desaminación y transaminación de la materia orgánica (Tucker y colaboradores, 1979; Chin y Chen, 1987).

El amonio en solución se comporta en dos formas: la forma no ionizada (NH_3) y la forma ionizada (NH_4^+), de éstas, la forma NH_3 es considerada como la más tóxica para los organismos acuáticos, no así la forma NH_4^+ , que es menos tóxica por su incapacidad para penetrar en la membrana celular (Chin y Chen, *Op. Cit.*).

La eficiencia en la producción de organismos acuáticos en estanques de alta densidad, muchas veces se ve limitada por las concentraciones de amonio, cuando el pH se eleva, ya que la toxicidad por amonio se incrementa produciendo alteraciones en la estructura terciaria de las proteínas en los organismos (Eckert, 1989). Así también, se sabe que la temperatura es otro factor que influye en el desarrollo de las larvas de crustáceos, principalmente en el crecimiento y la sobrevivencia de éstos, debido a que este parámetro ambiental influye directamente con el metabolismo de los organismos, mediante el control de dinámicas moleculares (difusión, solubilidad y fluidez), y las tasas de reacción bioquímica (Armitage y Wall, 1982 y Neill, 1989) de esta manera, la temperatura actúa principalmente como un factor directo y controlador de los mecanismos de respuesta en los organismos poiquiloterms, sin embargo, el incremento de la temperatura favorece la presencia de NH_3 (Boyd, 1990).

Se ha observado que al someter postlarvas de peneidos a bajas temperaturas por un corto período de tiempo, se reduce la tasa de crecimiento. La salinidad por su parte, desempeña un papel importante en la fisiología de los organismos acuáticos, ya que puede llegar a modificar el efecto de algunos factores del medio, alterando las respuestas funcionales y desencadenando los mecanismos reguladores (Kinne, 1970), principalmente la salinidad influye en la solubilidad del oxígeno y en la relación $\text{NH}_3 - \text{NH}_4^+$ (Boyd, 1990).

Colt y Armstrong (1981), mencionan que la forma NH_4^+ puede tener una toxicidad significativa en condiciones bajas de pH, de igual manera se ha observado que cuando el nivel de amonio en el agua se incrementa, el nivel de excreción de éste en los organismos acuáticos disminuye con serios efectos sobre la fisiología y morfología interna de los organismos, modificando el nivel de amonio en la sangre y el tejido, además de provocar alteraciones en el crecimiento (Boyd, *Op. Cit.*).



1.1.- JUSTIFICACIÓN

A pesar de la problemática planteada, la producción acuicola en el mundo, se ha incrementado significativamente, en la última década esta actividad, ha producido una parte cada vez más significativa de la producción mundial de moluscos y crustáceos, por esta razón la acuicultura es cada vez más aceptada como una herramienta para la obtención de alimentos (Rosenthal,1994; Flaherty y Karnjanakerson, 1995). El principal objetivo de la acuicultura en esta etapa consiste en satisfacer las necesidades alimenticias humanas. Actualmente se cultivan varias especies acuáticas, algunas de ellas bajo condiciones controladas hasta su cosecha, lo que ha permitido el desarrollo de actividades conexas, tales como procesamiento, comercialización y diferentes presentaciones para el consumo del producto (Wheaton, 1982).

Dada la gran importancia a nivel mundial del cultivo de camarón, debido a su gran aceptación comercial, recientemente se han promovido estrategias para mejorar las tecnologías usadas para su cultivo a nivel mundial, lo cual ha implicado en algunos casos la optimización de la producción, de acuerdo a las diferentes condiciones ambientales de cada localidad con potencial de cultivo (Sierra,1996).

Por consiguiente, se ha hecho necesario realizar investigaciones en diferentes aspectos de la biología de los camarones y en diferentes disciplinas para generar conocimiento, que permita entender diversos aspectos de la biología de la especie a cultivar como su fisiología, comportamiento y las condiciones ambientales óptimas para su desarrollo.

En este sentido es importante determinar el nivel de susceptibilidad del organismo que se desea cultivar respecto a diferentes parámetros como: la calidad del agua, así como a sustancias tóxicas existentes en ese medio. Tal es el caso del amonio, a quien se responsabiliza de provocar mortalidades en diferentes especies acuáticas, sobre todo cuando su concentración se eleva, o bien

cuando los parámetros ambientales se alejan de los valores óptimos, situación que puede ser frecuente sobre todo en la crianza intensiva (Teichert, 1994). Por tal razón en los últimos 20 años, el cultivo de esta especie se ha desarrollado considerablemente, tanto en México como en América, sin embargo, para consolidar este desarrollo es necesario mejorar las técnicas de producción masiva de postlarvas en ambientes controlados, ya que éstos inciden en su productividad, crecimiento y supervivencia, este mejoramiento apoyará en gran medida a las granjas que se dedican a la crianza de este organismo, y que generalmente obtienen las postlarvas y juveniles tanto del medio ambiente, como de lotes producidos en laboratorios, en donde las postlarvas se siembran en estanques para ser cultivadas hasta alcanzar su talla comercial.

En los laboratorios productores de postlarva se han observado mortalidades del 30 al 70% de la producción de postlarvas y en las granjas del 40 al 60% desde la siembra hasta la cosecha (Francisco Magallón, comunicación. personal). Parte de estas mortalidades puede deberse a la compleja interacción entre las densidades de cultivo, las concentraciones de amonio derivadas de la excreción de los camarones, el balance entre NH_4^+ y NH_3 derivado de las fluctuaciones combinadas de pH, temperatura y salinidad, y el efecto que de ello se deriva sobre la fisiología de los organismos y la toxicidad del NH_3 , lo cual conforma la hipótesis del presente trabajo.



2.- OBJETIVOS

La problemática anteriormente planteada nos llevó a desarrollar el presente trabajo con los objetivos siguientes:

2.1.- Objetivo General.

- Evaluar el efecto de la presencia de amonio en la sobrevivencia de postlarvas de camarón blanco *P. vannamei*. en distintas condiciones de pH y temperatura, a lo largo del desarrollo de las postlarvas en sus diferentes edades.

2.2.- Objetivos Particulares.

- Estimar los índices de sobrevivencia de postlarvas de *P. vannamei*, sometidas a una concentración de amonio, bajo 4 niveles diferentes de pH y temperatura.
- Establecer los valores óptimos de pH y temperatura para un manejo seguro de las postlarvas de *P. vannamei*, a una salinidad de 38‰.
- Determinar la concentración de amonio acumulada en empaques comerciales (bolsas de plástico), durante una simulación de transporte de postlarvas en un lapso de 24 horas.
- Obtener la concentración de amonio residual, después de un lapso de 4 horas, en contenedores con postlarvas de *P. vannamei* a 4 diferentes valores de pH y temperatura.



3.- GENERALIDADES

El orden Decápoda del Pacífico mexicano, contiene 720 especies, 304 géneros y 68 familias de distribución bentónica, además de 51 especies, 18 géneros y 8 familias pelágicas. En el Golfo de California y la parte suroeste de la Península de Baja California, se cuenta con una diversidad de 580 especies incluidas en 274 géneros, lo cual corresponde al 81% de las especies y 90% de los géneros de esta misma región (Salazar y González, citado en Martínez, 1996), 15 especies corresponden a la familia Penaeidae, lo que representa el 5% del total de decápodos en todo el pacífico mexicano, de las cuales, sólo tres de ellas sostienen la mayor parte de la producción mundial de camarón cultivado: *P. californiensis* (camarón café), *P. stylirostris* (camarón azul) y *P. vannamei* (camarón blanco).

Dentro de las especies utilizadas para la acuicultura, el sistema excretor juega un papel muy importante en la eliminación de sustancias tóxicas, ya que sin éste los desechos metabólicos no podrían ser expulsados hacia el exterior, produciendo así una gran intoxicación en los organismos. En los crustáceos, el sistema excretor está ubicado en un primer segmento del cuerpo, y cuentan con un par de anténulas que se encuentran como apéndices birrameos, con funciones sensoriales, seguidos de un par de antenas birrameas bien desarrolladas, por donde se lleva a cabo la excreción y osmorregulación, así como por la superficie branquial. Los apéndices bucales también están bien desarrollados y los tres primeros apéndices torácicos se transforman en maxilípedos, los cuales están relacionados con funciones tróficas.

Las glándulas antenales están constituidas por un saco terminal o celomoducto, un laberinto, un canal nefridial y una vejiga. El celomoducto aparece como un disco pequeño entre las circunvoluciones del canal nefridial, y el laberinto consiste en una serie de canales que juntos, desembocan en el canal nefridial hacia la vejiga, de la cual, son eliminadas las sustancias tóxicas,

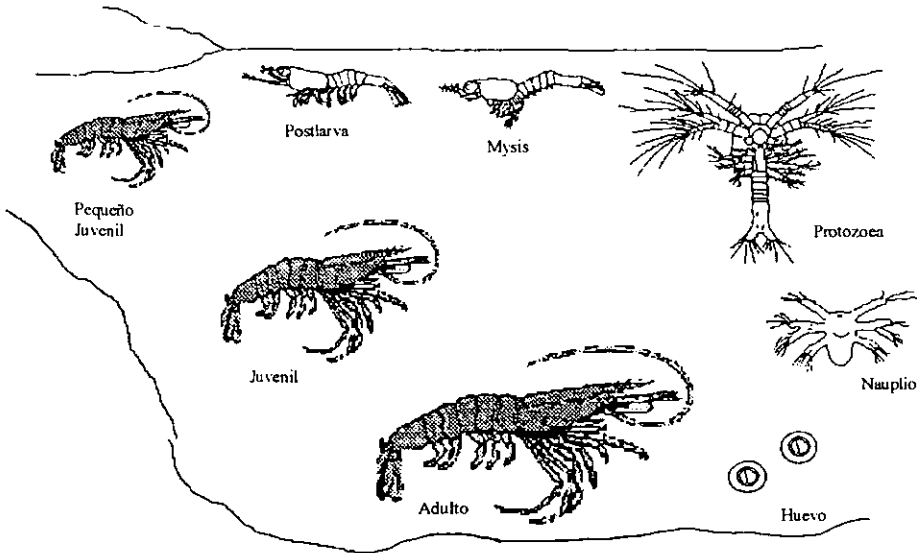
entre ellas productos nitrogenados como el amonio, producto del metabolismo, a través de un opérculo en la superficie ventral ubicado en la base del segmento antenal (Bliss,1983).

3.1- Clasificación taxonómica de la especie.

Phylum:	Artrópoda	(Von Siebold,1848)
Superclase:	Crustácea	(Latreille,1777)
Clase:	Malacostraca	(Latreille,1806)
Subclase:	Eumalacostraca	(Grobber,1982)
Superorden:	Eucarida	(Calman,1904)
Orden:	Decápoda	(Latreille,1803)
Suborden:	Dendrobranchiata	(Batte,1888)
Superfamilia:	Penacoidea	(Rafinesque,1815)
Familia:	Penaeidae	(Rafinesque,1815)
Género:	<i>Penaeus</i>	(Fabricius,1789)
Subgénero:	<i>Litopenaeus</i>	(Méndez,1981)
Especie:	<i>vannamei</i>	(Boone,1931)

Es importante mencionar que Pérez-Farfante (1988), propuso el cambio del género *Penaeus* por *Litopenaeus*, sin embargo, esta situación no ha sido muy aceptada por los taxónomos del grupo.

3.2- Ciclo de vida.



En el medio marino, el camarón adulto vive en la plataforma continental, donde se desarrolla hasta su etapa de reproductor, en el caso de los camarones blancos de tético abierto como es el caso de *P. vanamei* y *P. stylirostris* las hembras maduran antes del cortejo de apareamiento con los machos, una vez que las gónadas están maduras y han adquirido una coloración amarillo-rojiza, las hembras y los machos realizan los cortejos de apareamiento hacia el atardecer, mientras que los camarones cafés (*P. californiensis*) y rojos (*P. brevirostris*), de tético cerrado se aparean durante la muda, desarrollándose las gónadas femeninas en una etapa posterior al apareamiento, en este caso las hembras conservan el espermatóforo, hasta que los ovocitos maduran y están listos para el desove, lo cual se detecta cuando las gónadas alcanzan una coloración verde olivo-rojiza.

Estas especies de camarones por lo general desovan hacia la media noche, el desove ocurre en gran actividad de la hembra, quien manipula el espermátforo al mismo tiempo que desova para permitir la liberación de las células espermáticas en el momento en que los ovocitos son liberados (Martínez, 1996). Los huevecillos son liberados al ambiente marino, en el caso de las especies de tético abierto en la columna de agua y en el caso de las especies de tético cerrado los huevecillos pueden adherirse a las superficies del fondo. Los huevecillos una vez liberados se desarrollan dependiendo de la temperatura, en un intervalo de 14 a 24 hrs. (Trece y Yates, 1988). Una vez concluido el desarrollo embrionario, y después de haber pasado por los estadios de mórula, blástula y gástrula, termina formándose el primer estadio larval conocido como nauplio, el cual eclosiona y comienza a nadar hacia la luz, ya que es un estadio completamente fototrófico, en estanques oscuros tiende a emerger a la superficie (Francisco Magallón, comunicación personal).

Las larvas después de pasar por cinco estadios de nauplio, tres estadios de zoea y tres estadios de mysis, evolucionan a la forma de postlarva, en la cual adoptan la forma de un camarón pequeño muy estilizado, el cual continua desarrollándose en los próximos treinta días, principalmente adquiere una figura cilíndrica en el abdomen y termina de formarse su aparato branquial. Las larvas nauplio se alimentan de la reserva de vitelo, mientras que las zoeas se alimentan de fitoplancton y las mysis, de una mezcla de fitoplancton y zooplancton. La postlarva es capaz de alimentarse de una gran variedad de organismos bentónicos. Durante este período, éstas se desplazan ayudadas por las corrientes de marea, ocasionadas por el flujo y reflujo de agua, introduciéndose en bahías o esteros en donde permanecen hasta ser juveniles. Finalmente se desplazan a mar abierto en donde maduran y se reproducen, cerrando así el ciclo de vida (Trece y Yates, *Op. Cit.*).

3.3.- Sistema Excretor.

Muchos animales acuáticos son amonotéticos, ya que excretan más del 50% de sus desechos nitrogenados como amonio, principalmente a través de las branquias (Milne y colaboradores, 1958). Los crustáceos no poseen órganos comparables con los riñones de los vertebrados, por lo que, la excreción ocurre, con la participación de una gran variedad de tejidos glandulares, el más importante se encuentra situado en la cabeza, y está asociado con las glándulas antenales y

maxilares, siendo la glándula antenal el órgano excretor más común en la clase Malacostraca, y la glándula maxilar en la clase Entomostraca (Mc Laughlin, 1983).

3.4.- Toxicidad por amonio.

El conocimiento de la acción fisiológica de un tóxico, resulta esencial para predecir importantes efectos letales y subletales en los organismos acuáticos. El entendimiento de su modo de acción puede ayudar a prevenir conclusiones erróneas acerca de la toxicidad del compuesto, y a un mejor manejo de los organismos cuando están en condiciones de cautiverio (Francisco Magallón, Comunicación personal).

La toxicidad por amonio en crustáceos dentro de un cultivo, ha sido estudiada por diversos investigadores, mismos que mencionan que ésta es altamente favorecida por ciertas condiciones como: exceso de alimento, sobresiembra y bajo recambio de agua, entre otras (Chin y Chen, 1987).

El amonio es uno de los productos finales del catabolismo proteico, y representa más de la mitad de los desechos nitrogenados excretados por crustáceos decápodos a través del epitelio branquial (Regnault, 1987). Sin embargo, la acumulación de éste en el medio acuático o sus productos derivados por nitrificación (nitratos y nitritos), causan mortalidad y afectan el crecimiento de los animales en cultivo.

3.5.- Mecanismos de regulación.

Los organismos acuáticos utilizan dos mecanismos principales para deshacerse del amonio metabólico; uno de ellos actúa a través de la conversión directa del amonio a otros compuestos nitrogenados menos tóxicos (urea, ácido urico, etc), y el otro por difusión pasiva de la sangre al agua, a través del intercambio de iones NH_4^+ por Na^+ , siendo este último la principal ruta de excreción en los organismos marinos, debido a que sus niveles de amonio en la sangre son normalmente mucho más altos que en el agua (Regnault, *Op. Cit.*).



4.- ANTECEDENTES

Los primeros estudios referentes a toxicidad por amonio, fueron realizados por Brokway (1950), quien menciona que el contenido de oxígeno en la sangre de los organismos acuáticos disminuye aproximadamente en un 14% de su valor normal, debido a una exposición de amonio contenido en el agua, bajo prolongados períodos de tiempo, por lo que considera que este compuesto puede inhibir a la hemoglobina para acarrear moléculas de oxígeno. Milne y colaboradores (1958) atribuyen toxicidad, en peces y crustáceos, a la forma no ionizada del amonio (NH_3) por su gran solubilidad lipídica, no así la forma ionizada (NH_4^+) por estar inhabilitada para penetrar en la membrana celular.

From y Gillete (1968), encuentran que cuando se expone a la trucha arcoiris (*Salmo gairdieri*) a niveles elevados de amonio ambiental (10mg $\text{NH}_3\text{-N/l}$), este compuesto por difusión penetra en la sangre del organismo incrementando su nivel, provocando así una toxicidad aguda. De igual manera, Lloyd y Orr (1969), descubren que el fluido de la orina de este organismo, puede incrementarse 6 veces más de lo normal cuando se expone a concentraciones letales de amonio.

Otros investigadores (Whitfield, 1974; Emerson y colaboradores, 1975; y Hampson, 1977) durante un análisis biológico en tanques experimentales, al evaluar el nivel de oxígeno disuelto, el pH, y la ionización del amonio ($\text{NH}_3\text{-N}$), encuentran que la concentración del amonio no ionizado se incrementa con el aumento de pH y temperatura. De esto se concluye que el pH influye de manera importante en el ambiente químico de los organismos acuáticos, provocando desórdenes metabólicos y alteraciones fisiológicas, como inhibición de la excreción y acumulación de amonio en la hemolinfa, disminución de la tasa de crecimiento y aumento en la frecuencia de muda, entre otras. Así, el equilibrio entre NH_4^+ y NH_3 está en función del pH en el

agua, por lo tanto, para que cambie el NH_4^+ a NH_3 que es altamente tóxico, se requiere un incremento del pH, ya que si éste se desvía demasiado del valor neutro, el agua influye directamente en la toxicidad para la mayoría de los sistemas acuáticos (Boyd, 1990). Sin embargo, la adición de NH_4Cl a los tanques experimentales en un pH determinado incide en la formación de iones NH_4^+ , los cuales cambian el balance de disociación en favor del incremento tanto del NH_3 como de los iones hidrógeno resultantes. La constante de disociación del amonio depende también de la fuerza iónica del agua marina, la cual está relacionada también con la concentración de los iones Cl^- (Whitfield, 1974).

Tsai, citado en Martínez (1996), refiere que valores de pH por debajo de 4.8 y por arriba de 10.6 son letales para organismos peneidos, en sistemas de cultivo. De igual manera, cuando la salinidad disminuye, el pH se ve afectado, y como éste interacciona con el amonio, puede incrementar el grado de mortalidad, si se incrementa la concentración de NH_3 por la toxicidad que lo caracteriza. Asimismo una reducción en el pH puede causar daño a los tejidos de las branquias de peces influyendo en el potencial de algunas toxinas y metales pesados. En este sentido, Tomasso y colaboradores (1980), demuestran que el pH influye en la toxicidad del amonio, ya que concentraciones elevadas de éste, provocan cambios patológicos en los órganos y tejidos de los peces.

Armstrong (1978), realiza un estudio con larvas de langostino (*Macrobrachium rosenbergii*), considerando niveles de pH de 6.8-8.34 y menciona que la toxicidad por amonio ocurre cuando los animales son incapaces de liberar por ellos mismos este compuesto producido durante el metabolismo del nitrógeno. De igual manera encuentra que a un pH de 6.83 el flujo de Na^+ es mucho más bajo que a un pH de 8.34, y sugiere que en este nivel, la toxicidad del amonio fue resultado de la inhibición competitiva del transporte por NH_4^+ . Posteriormente Colt y Armstrong (1979), indican que una concentración de amonio de 0.09 mg/l, reduce el crecimiento de

Macrobrachium rosenbergii, causando un 50% de reducción en el crecimiento de los camarones peneidos a 0.45 mg/l. Por su parte, Kramer (1975), observó que durante la exposición del salmón al amonio, se reduce el pH sanguíneo debido a la acumulación de metabolitos, debido a que el salmón muestra habilidad para restaurar el pH por medio de mecanismos renales y respiratorios.

Whitfield (1974), demostró que cuando los peces marinos son expuestos a altos niveles de NH_4^+ en tanques de crianza, los efectos tóxicos son dependientes del pH, aunque, esto no ha sido establecido en correlaciones cuantitativas que relacionen la concentración de NH_3 y su toxicidad. Por otro lado, Smith y Piper (1975), aseguran que en la trucha arcoiris 2 mg/l de NH_3 causan cambios patológicos significativos en los tejidos de sus branquias, al ser expuestos. Kinne (1976), señala que la difusión de amonio en los niveles de sangre en peces y crustáceos, por pérdida de amonio metabólico, son normalmente mucho más altos que las concentraciones del ambiente en el que se encuentran.

Sousa y Meade (1977), al utilizar métodos de espectrofotometría para estudiar la hemoglobina en el salmón, y al exponerla a altos niveles de amonio ambiental, observaron un cambio progresivo en la configuración de la absorción entre la hemoglobina oxigenada y la desoxigenada, con lo que concluyen que los altos niveles de amonio en el agua, interfieren con la habilidad de la hemoglobina para transportar oxígeno. Asimismo, reconocen que los animales rara vez se mueren por amonio en los sistemas de acuicultura, pero no cabe duda que éste es un factor importante que regula su salud y crecimiento.

Meade (1985), realizó una revisión bibliográfica extensa y concluyó que la concentración máxima de amonio "segura" aún es desconocida. Sin embargo, observó que el nivel permisible tiene un valor de 0.012 mg/l, el cual es comúnmente aceptado para mantener especies de peces

en cultivo. Otros estudios muestran que en subadultos de *Penaeus japonicus* con concentraciones de amonio en su hemolinfa de 3.0 mg/l, al ser colocados en un medio con una concentración de 10 mg/l de amonio durante 16 horas, incrementan su concentración en la hemolinfa hasta 11.33 mg/l (Chen y Kou, 1991). Así también al exponer a *P. chinensis* a concentraciones de 5 mg/l de amonio, se ha observado que presenta una alta actividad metabólica de la ATPasa, lo cual sugiere que existe una continua difusión de NH_4^+ de la hemolinfa hacia el ambiente externo (Chen y Hua Nan, 1992).

Chin y Chen (1987), realizaron un experimento con los primeros estadios larvarios de *P. monodon* y encontraron, que conforme la larva se desarrolla, incrementa progresivamente su tolerancia a niveles más elevados de N-amonio y N-NH₃. De igual manera, Chen y Lin (1992), concluyen que la tolerancia al amonio en *P. chinensis* se incrementa con la edad.

Por otro lado, Chu Chen y Hua Nan (1993), encuentran que bajos valores de amonio (0.015-5.167 mg/l) en el agua, incrementan la excreción en postlarvas y juveniles de *P. chinensis* durante un tiempo de exposición de 6 hrs. Igualmente, en concentraciones elevadas de este compuesto (10.106 y 20.093 mg/l) la excreción se inhibe. Schmitt y Uglow (1996), realizaron una investigación para determinar la concentración de amonio acumulada durante una simulación de transporte, utilizando organismos de *Macrobrachium rosenbergii* y *Penaeus setiferus*, y señalan que las concentraciones alcanzadas de 14 mg/l y 7.57 mg/l respectivamente, incrementan la posibilidad de muerte e impiden el crecimiento en los crustáceos.

Frías (1997), realizó un estudio con postlarvas y juveniles de *P. vannamei* , y señala que los niveles de "seguridad" de N-amonio, para el cultivo de estos organismos, son de 1.21, 6.4 y 7.0 mg/l respectivamente, en condiciones de pH de 7.92, 34‰ de salinidad y 28°C de temperatura para postlarvas, y 8.08 de pH, 34‰ de salinidad y 26°C de temperatura, en organismos juveniles.

Con respecto a la salinidad. Hazel y colaboradores (1971), señalan que ésta ejerce un efecto sobre la toxicidad por amonio, ya que éste puede alterar las respuestas funcionales en los organismos acuáticos. Díaz y colaboradores (1992), confirman esto al observar que la excreción de amonio en *Callinectes similis* se reduce cuando la salinidad disminuye de 35 a 24‰. Bassanesi (1987), indica que aunque las bajas salinidades no afectan a *P. stylirostris*, los valores más altos, pueden provocar situaciones de estrés, es decir, en concentraciones de 40‰ se presenta una reducción de la actividad locomotora, lo que indica, que la energía destinada a la actividad física es orientada a la regulación osmótica.

Algunos investigadores han encontrado que existe una relación entre las variaciones de temperatura, la excreción de amonio y por lo tanto el consumo de oxígeno, tales cambios pueden afectar el crecimiento de los animales en cultivo, pudiendo acelerar el proceso de muda o aumentar el crecimiento de los organismos, entre otros sucesos importantes, derivados de cambios en la temperatura. Chu Chen y Huan Lai (1993), mencionan que la excreción de amonio y el consumo de oxígeno en juveniles de *P. japonicus*, se incrementa con el aumento de la temperatura entre 15-35°C. Ocampo (1998), señala que a temperaturas bajas, *P. californiensis* presenta una actividad mayor, que a temperaturas elevadas, por lo tanto, concluye que este factor influye de manera importante en los procesos biológicos del camarón.



5.- MATERIAL Y MÉTODO

5.1.- Descripción del área experimental.

El presente trabajo se llevó a cabo en los laboratorios de Bioensayos, Nutrición Experimental y laboratorio de cultivo experimental de camarón del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) La Paz, Baja California Sur. El cual está ubicado en la porción meridional de la Península de Baja California, a los 24 ° 08' de latitud Norte y 110 ° 24' de Longitud Oeste, a 17 Kilómetros de la Ciudad de La Paz, los laboratorios se abastecen de agua marina en la localidad de El Comitán ubicada en la Ensenada de La Paz.

5.2.- Organismos experimentales.

Para el desarrollo del presente trabajo se requirieron postlarvas de un día de edad (pL1), de camarón blanco de la especie *P. vannamei*, éstas se obtuvieron en un laboratorio de larvicultura de producción comercial de la empresa "Acuicultores de la Paz, S.A. de C.V., Baja California Sur", las cuales fueron transportadas al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) a razón de 12,000 organismos dentro de una bolsa de plástico de 19 litros de capacidad, con un volumen aproximado de 10 litros de agua marina, con salinidad de 38‰ y temperatura de 21°C, con objeto de mantenerlas bajo condiciones controladas.

Para el primer experimento, que consistió en simular un empaque comercial, las postlarvas fueron previamente aclimatadas en el Laboratorio de Ecofisiología de Crustáceos, con agua marina filtrada a temperatura de 20°C y salinidad de 38‰ durante un período aproximado de 1 hora, para posteriormente ser empacadas y llevar a cabo una simulación de empaque comercial.

Para desarrollar el segundo experimento, cuyo objetivo fue la determinación de la supervivencia de las postlarvas en diferentes condiciones de temperatura y pH, se obtuvieron

15,000 organismos de estadio pL1, del laboratorio de Genética del CIBNOR, los cuales fueron transportados al laboratorio de Cultivo Experimental de Camarón, en botes de plástico de 20 litros de capacidad, con agua de mar a temperatura de 28°C y 38‰ de salinidad, en donde también fueron aclimatados por un período de aproximadamente 20 minutos, tiempo necesario para igualar la temperatura del transporte a la temperatura del laboratorio, la cual fue de 29°C. Las postlarvas, se colocaron en una tina de fibra de vidrio de 1,500 litros de capacidad, con un volumen aproximado de 1,000 litros de agua marina filtrada, bajo condiciones de temperatura, y salinidad ya mencionadas, y con aireación constante, situación que se mantuvo durante todo el experimento. Asimismo, diariamente se realizaron recambios continuos de agua para mantener lo más limpio posible a los organismos, que se alimentaron con un producto comercial peletizado marca P.I.A.S.A. cuyo contenido proteico fue de 40%, como complemento se les suministró también nauplios activos de *Artemia salina*.

5.3.- Técnicas utilizadas

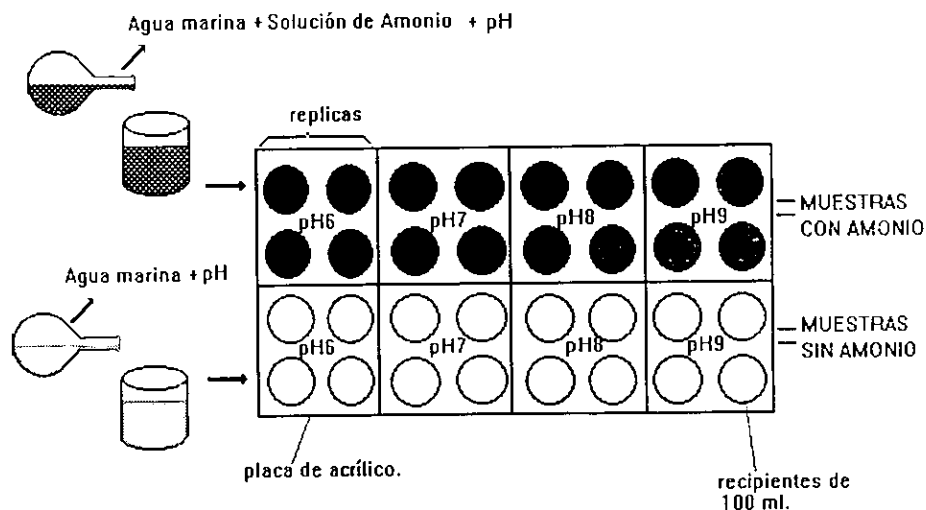
a) Preparación de amonio:

Basándose en la técnica de Chen y Lin (1992), se preparó una solución de amonio, mediante la disolución de 3.82 gr. de cloruro de amonio (grado reactivo) en un litro de agua destilada, para formar 1000 mg amonio/ 1000 ml de agua, de esta solución se tomaron 7 ml aforándose a 1 litro de agua marina filtrada en un matraz de bola, para preparar 7 mg/l de amonio.

La solución obtenida, se colocó en 4 vasos de precipitado de 1 litro, a cada uno se le agregó una solución de HCl (1N) o NaOH (1N) según fuera necesario, para obtener 4 diferentes pH de 6, 7, 8 y 9, verificándose éstos con un potenciómetro Beckman-44.

Por otro lado, se colocó agua de mar filtrada en otros 4 vasos de precipitado, siguiendo el mismo procedimiento para ajustar los diferentes pH y poder utilizarlas como grupo control, Fig.1.

Fig.1.- *Unidad experimental.*



5.4.- *Diseño Experimental.*

El diseño experimental consistió en preparar 16 escenarios con diferentes combinaciones de pH y temperatura, en una matriz de cuatro niveles de pH correspondientes a 6, 7, 8 y 9, combinados con cuatro niveles de temperatura 26, 28, 30 y 32 °C. Estos 16 escenarios se prepararon por duplicado, a uno de los conjuntos se le añadió un nivel de amonio determinado por las concentraciones observadas durante el transporte de postlarvas, mientras que otro de los conjuntos se preparó con agua marina sin amonio, utilizándolo como testigo para valorar el efecto del escenario ambiental independiente del amonio.

Para determinar el nivel de amonio a utilizar se diseñó el primer experimento con el fin de precisar la acumulación de amonio en un empaque comercial de postlarvas, una vez determinado ese nivel, se utilizó la concentración observada en un segundo tipo de experimentos. donde se retó cada cinco días de edad a un grupo de postlarvas a los dos conjuntos de escenarios ambientales previamente descritos, estos experimentos se repitieron cada cinco días hasta la edad de 30 días.

5.4.1.- Primer Experimento:

Con el fin de estimar la concentración de amonio acumulada durante tres tiempos diferentes de transporte de postlarvas (8, 16 y 24 horas), que son comunes en el Noroeste, considerando la distancia entre los laboratorios y las granjas, se diseñó un experimento en donde se simuló el transporte de las mismas empacando 7,500 postlarvas, distribuidas en 3 hieleras de unicel, a densidades de 1000 y 1500 pL/litro, éstas fueron repartidas en bolsas de plástico de ½ litro con 250 ml de agua marina filtrada, a una temperatura de 20°C y 38‰ de salinidad.

Para empacar el primer nivel de densidad, se prepararon 4 bolsas con 250 postlarvas cada una, y para empacar el segundo nivel de densidad, se colocaron 375 postlarvas en cada bolsa, haciendo un total de 8 bolsas para cada hielera, a cada bolsa se le inyectó oxígeno a través de una manguera de 5 mm de diámetro, por un tiempo de 10 segundos, y se alimentaron con nauplios de *A. salina* cerrando después las bolsas con ligas pequeñas.

Posteriormente cada serie de 8 bolsas se colocó dentro de una bolsa de plástico con capacidad de 19 litros con un volumen aproximado de 3 litros de agua marina a 18°C. con el fin de mantener la temperatura de todas las bolsas a un nivel similar al utilizado por los laboratorios comerciales. Cada hielera se selló y se trasladó al laboratorio de Nutrición Experimental, donde permanecieron a temperatura ambiente externa de 35 a 40°C.

La primera hielera se abrió después de 8 horas de haberse empacado las bolsas, la segunda después de 16 horas, y la tercera después de transcurridas 24 horas. La determinación de amonio se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Solórzano (1969).

5.4.2.- Segundo experimento:

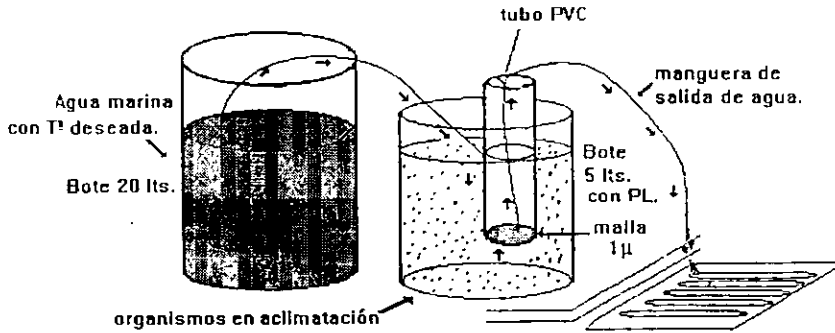
Una vez obtenida la máxima concentración de amonio total acumulado en un empaque con 24 horas de duración (7 mg/l) se llevó a cabo el experimento de toxicidad, el cual consistió en evaluar el efecto de 16 escenarios de pH, y temperatura sobre la sobrevivencia de los organismos y la acumulación de amonio total en postlarvas de diferente edad, utilizando para ello 6 estadios (pL5, pL10, pL15, pL20, pL25 y pL30) se realizaron un total de 6 experimentos en intervalos de 5 días con el objeto de evaluar el efecto de la edad en los diferentes escenarios ambientales.

Para preparar los diferentes escenarios ambientales, se acondicionaron 4 tanques de plástico (taras) de 68 x 38 cm, con un volumen aproximado de 40 litros de agua marina, en cuyo interior se colocó en cada uno de ellos un calentador automático sumergible de 250 wats, previamente regulado para preparar cuatro baños termales (baño María) a temperaturas de 26°, 28°, 30° y 32°C, mismas que fueron registradas cada 15 minutos, con un termómetro Brannan de inmersión total con escala de -20° a +50°C. Asimismo, se emplearon 8 placas de acrílico de 65 x 35cm, con un espesor de 35 mm, sobre las cuales se perforaron en cada una de ellas 32 orificios de 6 cm de diámetro, con el fin de utilizarse como gradillas. En cada una de ellas, de una serie de cuatro, se colocaron 32 recipientes de 100 ml de capacidad, que a su vez, contenían las soluciones con y sin amonio a 4 diferentes valores de pH (6,7,8 y 9) con cuatro réplicas. Cada una de las cuatro gradillas, se colocaron en los cuatro tanques con temperaturas de 26°, 28°, 30° y 32°C respectivamente.

Por otro lado, se prepararon otras cuatro gradillas, conteniendo cada una de ellas 32 recipientes de plástico de la misma capacidad, horadados del fondo, donde se colocó una malla de 250 micras. En los 32 recipientes de cada gradilla se colocaron las postlarvas, y cada gradilla se colocó a una temperatura diferente, lo que permitió por un lado que todos los organismos estuviesen aclimatados a las mismas temperaturas experimentales y por otro lado, exponerlos simultáneamente a las diferentes condiciones experimentales de pH y concentración de amonio de los 32 recipientes con las soluciones de la otra gradilla.

La selección de los organismos experimentales, el contéo y su colocación en los recipientes con fondo de malla, se realizó de la siguiente manera: primero, se capturaron las postlarvas de la tina que los contenía, su captura se realizó con un tamiz de 200 micras de 30 cm de diámetro y 10 cm de altura; las postlarvas se colocaron previamente dentro de botes de plástico de 5 litros de capacidad, con agua de la misma tina de mantenimiento para no estresarlas y poder transportarlas después al laboratorio de Ecofisiología de crustáceos, donde fueron aclimatadas a las diferentes temperaturas experimentales. Los recambios de agua se realizaron eliminando agua gradualmente a través de una manguera de 5 mm de diámetro, dentro de un tubo de PVC de 30 cm de largo x 6 cm de diámetro y con una malla de fondo de 1 micra, para evitar la pérdida de organismos. Posteriormente se colocó en el bote, otra manguera de la misma medida para establecer un flujo continuo de agua con la temperatura deseada, hasta alcanzar la aclimatación de los organismos (Fig. 2).

Fig.2.- *Aclimatación de Organismos.*



Una vez aclimatados los organismos a los cuatro niveles de temperatura, se colocaron a razón de 20 postlarvas en cada recipiente con fondo de malla de 250 micras, utilizando para el conteo una pipeta graduada de 10 ml despuntada para no afectar a las postlarvas y facilitar su entrada y salida de la pipeta, una vez que las postlarvas eran succionadas dentro de la pipeta, se realizaba el conteo individual contrastando la pipeta con una lámpara fluorescente encendida.

Cabe mencionar que cada gradilla con los 32 recipientes, se mantuvo sumergida dentro de su respectiva cámara de aclimatación (tara) a la temperatura deseada, lo que permitió que las postlarvas se mantuvieran en las mismas condiciones de temperatura y calidad del agua, antes de ser expuestas a las diferentes condiciones experimentales.

Por otra parte, las 4 gradillas que contenían los 32 recipientes con los cuatro niveles de pH. las cuatro réplicas, un juego con amonio y otro de testigo. se mantuvieron aclimatados dentro de las otras cámaras de aclimatación con las temperaturas experimentales, para que el traspaso de postlarvas fuera simultáneo y poder obtener así resultados comparables.

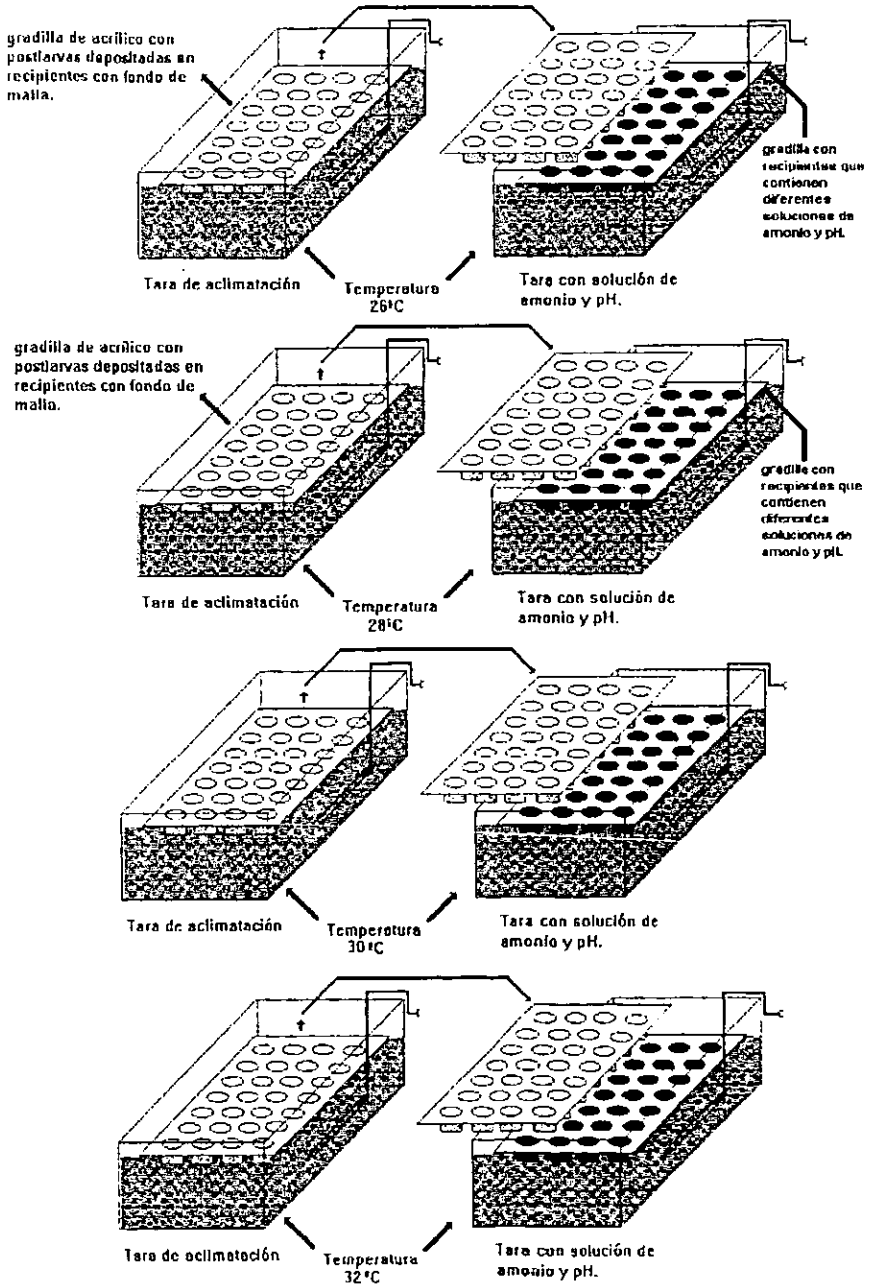
Una vez que se terminó el proceso de aclimatación, enseguida se procedió a acoplar para cada temperatura las diferentes gradillas con los 32 recipientes que contenían las postlarvas sobre las gradillas que contenía los 32 recipientes con las soluciones de los tratamientos, embonando perfectamente ambas gradillas y cada uno de los 32 recipientes (Fig.3), hasta que las postlarvas quedaran sumergidas en los diferentes tratamientos.

El tiempo de exposición fue de 4 hrs. ya que es el tiempo adecuado para que se puedan detectar efectos de mortalidad en los organismos por el efecto de los factores, según Vega y De la Cruz (1988).

Una vez finalizado el experimento. cada una de las gradillas con las postlarvas, se regresó a su respectiva cámara de aclimatación para evaluar su sobrevivencia a los diferentes tratamientos, para ello se contaron las postlarvas sobrevivientes y las muertas, considerando como postlarvas muertas a aquellas, que no reaccionaban al tocarlas con una varilla de plástico. Al mismo tiempo, se llevó a cabo la medición de amonio residual, mediante la técnica de colorimetría descrita por Solórzano (1969), la cual consiste en obtener la concentración de amonio en el agua a través de la mezcla de fenol-hipoclorito para producir el azul de indofenol, el cual es cuantificable espectrofotónicamente. Esto nos permitió compararla con la concentración inicial determinando de este modo si hubo algún cambio en las concentraciones de amonio debidas a la excreción de las postlarvas.

Estos experimentos se repitieron para las edades de postlarvas de 5, 10, 15, 20, 25 y 30 días respectivamente, lo que permitió obtener datos en seis ocasiones diferentes.

Fig.3 Experimento tóxico



5.5.- Análisis estadísticos.

Tanto los datos de sobrevivencia, como de la concentración de amonio residual, se capturaron en Excel (versión 1997) para su posterior análisis estadístico, el cual fue apoyado por el Programa Estadística (versión 1994) con regresión exponencial para definir el modelo que mejor se ajustara a la curva de la concentración de amonio total. Asimismo, se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA), utilizando cajas y bigotes para la prueba de Tuckey de comparación de medias, con objeto de determinar la significancia de los resultados obtenidos en los diversos tratamientos utilizados.

Con el fin de obtener un análisis más minucioso sobre los resultados obtenidos, se realizó primeramente un análisis exploratorio por el método de cajas y bigotes, seguido de un análisis de varianza y regresión lineal para determinar con mayor precisión las diferencias encontradas, y para evaluar la relación funcional existente entre las variables tratadas. Lo anterior se realizó con ayuda del programa Statgraphics (versión 1997).



6.- RESULTADOS

El cuadro 1 muestra la concentración de amonio total acumulada por postlarvas (pL10) de *P. vannamei* en empaques comerciales con dos diferentes densidades (1,000 y 1,500 pL/l) durante una simulación de transporte, en lapsos de 8, 16 y 24 hrs. Se observó claramente que en ambas densidades, la acumulación de amonio fue mayor conforme aumentó el tiempo de empaque, obteniéndose una concentración máxima de 5.753 y 7.061 mg/l respectivamente en ambas densidades, durante las 24 hrs.

Los cuadros 2, 3, 4 y 5 muestran el porcentaje de sobrevivencia en distintas edades de postlarvas, que fueron tratadas con y sin amonio, con valores de pH de 6, 7, 8 y 9, y temperaturas de 26°, 28°, 30° y 32°C. Se observa claramente que independientemente de la edad, la mayor mortalidad se presentó en el pH de 9.

Resultados obtenidos para pL 5.

En la figura 4 se puede observar que la sobrevivencia para el estadio pL5, disminuyó con el aumento de pH y temperatura, así, para la temperatura de 26°C, se observa que en todos los pH del tratamiento sin amonio los porcentajes de sobrevivencia fueron del 100%, mientras que en el tratamiento de 7 mg/l de amonio, se observó mortalidad en el pH de 9, con una sobrevivencia del 84%. En la temperatura de 28°C, se presentó el mismo patrón, siendo el porcentaje de sobrevivencia para el pH 9 de 29% para las postlarvas tratadas con amonio, mientras que para el resto de los pH, se mantuvo el 100% de sobrevivencia en los dos tratamientos. Para la temperatura de 30 y 32°C, se muestra un efecto más nocivo del amonio, puesto que la sobrevivencia disminuyó considerablemente en ambos tratamientos, donde se obtuvo una sobrevivencia de 25 y 10% respectivamente para los organismos tratados con amonio, y de 84% para el grupo control.

Lo anterior, se comprueba en el cuadro 10, donde se especifican las diferencias significativas estadísticamente con un 95% de confiabilidad, donde se encontró que en la temperatura de 26, 28, 30 y 32°C existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los diferentes tratamientos de pH para los organismos que se trataron con amonio, en cambio aquellos que no fueron expuestos al amoni, las diferencias significativas de sobrevivencia se encontraron solamente para las temperaturas de 30 y 32°C.

Resultados obtenidos para pL10.

En la figura 5 se presentan las sobrevivencias para pL10. En la temperatura de 26°C se mantuvo un porcentaje de sobrevivencia de 100% para todos los pH, excepto para las postlarvas tratadas con amonio a un pH de 9 (91%). En cuanto a la temperatura de 28°C y pH de 9 con amonio, la sobrevivencia presentó una notable disminución, puesto que solamente alcanzó un porcentaje de 31%, mientras que a pH menores a 9 se mantuvo una sobrevivencia del 100%. A 30°C, la temperatura influyó notablemente en la sobrevivencia para los pH de 9, en organismos tratados con y sin amonio, donde ésta fue de 28 y 90% respectivamente. Para la temperatura de 32°C se presentó el mismo comportamiento, sólo que el porcentaje de sobrevivencia disminuyó en ambos tratamientos obteniéndose valores de 6.3 y 84% con y sin amonio respectivamente. Los resultados obtenidos del ANOVA, se presentan en el cuadro 11, donde se observa que para los organismos que fueron expuestos al amonio, existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en todos los tratamientos para las distintas temperaturas. Sin embargo, para las postlarvas que no se expusieron al amonio, no se encontraron diferencias significativas para las temperaturas de 26 y 28°C, en cambio, para las temperaturas de 30 y 32°C, pero si se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) para todos los pH que se trataron.

sobrevivencia disminuyó hasta 90%. Mientras que los que se expusieron al amonio, alcanzaron un 65%. Para 30 y 32°C en el pH de 9 se obtuvieron sobrevivencias de 45 y 32% en organismos tratados con amonio y de 82 y 89% para los organismos tratados sin amonio, mientras en los tratamientos con pH inferiores a 9 se mantuvo el 100% de sobrevivencia. El cuadro 13, muestra las diferencias significativas que existieron entre las cuatro temperaturas en los diferentes tratamientos para las postlarvas tratadas con amonio, sin embargo, para las que no estuvieron expuestas, se encontraron tales diferencias a temperaturas de 28, 30 y 32°C ($p < 0.05$), no así para la temperatura de 26°C.

Resultados obtenidos para pL25.

En la figura 8 se observa que en el estadio de pL25 se obtuvieron sobrevivencias del 100% en todos los tratamientos de temperaturas con pH inferiores a 9 con y sin amonio, a diferencia del pH de 9 donde se observan porcentajes 62.5 y 96% para la temperatura de 26°C con y sin amonio respectivamente. En la temperatura de 28°C se obtuvieron sobrevivencias de 61% con amonio y 94% sin amonio. En 30°C los porcentajes obtenidos para la sobrevivencia a pH de 9 fueron de 25% con amonio y 88% sin amonio, mientras que en la temperatura de 32°C, los porcentajes de sobrevivencia disminuyeron hasta 9% con amonio y 50% sin amonio.

El cuadro 14, expresa que para las temperaturas de 26°, 28°, 30° y 32°C, existen diferencias significativas ($p < 0.05$) con un 95% de confiabilidad entre los distintos tratamientos para los organismos expuestos al amonio, de igual manera, para los organismos no expuestos al amonio, las diferencias estadísticamente significativas, sólo se presentaron en las temperaturas de 28°, 30° y 32°C. Para la temperatura de 26°C no se encontró ninguna diferencia.

Resultados obtenidos para pL30.

En la figura 9 se puede ver que las sobrevivencias de la pL30 son del 100% en todos los tratamientos de temperatura con y sin amonio para pH inferiores a 9, mientras que en pH de 9 se observan sobrevivencias de 84% con amonio y 100% sin amonio en la temperatura de 26°C, para 28°C se alcanzaron valores de 68% con amonio y 94% sin amonio. En 30°C se presentan sobrevivencias de 29% con amonio y 87% sin amonio, mientras que a 32°C se observan sobrevivencias del 48% con amonio y 64% sin amonio. Asimismo, el ANOVA practicado a los tratamientos, señala que las diferencias significativas se encontraron en todas las temperaturas, para los organismos expuestos al amonio, no así para las temperaturas de 26 y 28°C, donde tales diferencias no se presentaron para las postlarvas no expuestas al amonio. Sin embargo, en las temperaturas de 26 y 28°C, si se manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), (Cuadro 15).

La figura 10 muestra un resumen del porcentaje de sobrevivencia en las distintas edades de postlarvas, que se trataron con 7 mg/l de amonio, y se observa una sobrevivencia de 100% en todas las edades para los tratamientos de pH inferiores a 9, mientras que en los niveles de pH 9 se presenta mortalidad en todas las edades, advirtiéndose un efecto mayor, en las temperaturas más altas. La figura 11 muestra la gráfica de sobrevivencia de los organismos que no fueron expuestos al amonio, y refleja el efecto del pH sin la presencia de amonio, observándose que en general los porcentajes de sobrevivencia fueron más altos con respecto a los que si fueron expuestos al amonio aún en temperaturas y pH elevados, de igual manera, se puede ver que en niveles de pH inferiores a 9 se obtienen sobrevivencias del 100% en todas las edades y temperaturas, mientras que en el pH de 9 se observa que el efecto del pH se incrementa con la edad y la temperatura.

Resultados de la concentración de amonio.

Con respecto a la concentración de amonio residual, la figura 12 muestra la cantidad de éste, acumulada durante el experimento en las distintas edades de postlarvas (pL5, pL10, pL15, pL20, pL25, pL30) expuestas a diferentes valores de pH y temperatura, las cuales se trataron previamente con 7 mg/l de amonio. Se observó que la concentración de amonio presenta una tendencia a aumentar cuando incrementa la temperatura. De igual manera, en la Figura 13 se presenta la concentración de amonio total acumulada para el grupo control (organismos no expuestos al amonio), bajo las mismas condiciones de pH y temperatura observándose la misma tendencia.

Por otro lado, en el cuadro 16, se muestra el análisis de varianza (ANOVA) realizado para los datos de la concentración de amonio residual en pL5. Se puede ver que solamente se presentan diferencias significativas ($P < 0.05$) en los tratamientos que contenían 7 mg/l de amonio previamente en temperaturas de 28°, 30° y 32°C, no así para la temperatura de 26° y el grupo control, en donde no se encontró ninguna diferencia. El cuadro 17 presenta los ANOVA practicados a la pL10 y se observa que los organismos que se trataron previamente con amonio, manifiestan diferencias significativas entre las cuatro temperaturas y pH. Sin embargo, el grupo control solamente presenta diferencias estadísticamente significativas en las temperaturas de 26° y 30°C. Asimismo el cuadro 18, indica que para la pL15 se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre todos los tratamientos, aún para los organismos que no se expusieron al amonio.

En el cuadro 19, se observan diferencias significativas sólo en temperaturas de 26°, 30° y 32°C para los organismos expuestos al amonio, para el grupo control todos los tratamientos se muestran significativamente diferentes. Igualmente el cuadro 20 muestra que todos los tratamientos sometidos al amonio, fueron diferentes significativamente, en cambio, el grupo control en la temperatura de 28° no presenta diferencia alguna ($P > 0.05$), mientras el resto de los

tratamientos se mantiene diferente estadísticamente. Finalmente en el cuadro 21 se observa que únicamente la temperatura de 30°C resultó ser significativamente diferente del resto de los tratamientos, para las postlarvas expuestas al amonio, mientras que los tratamientos del grupo control (sin amonio) son diferentes en las temperaturas de 26°, 28° y 30°C, a diferencia de la temperatura de 32°C donde se mantiene una igualdad en los distintos tratamientos.

Resultados del análisis de sobrevivencia en todas las edades.

Las figuras 14 y 15 muestran que independientemente de las temperaturas, las edades y las concentraciones de amonio utilizadas, el nivel de pH de 9 afecta significativamente la sobrevivencia de las postlarvas, siendo el efecto más pronunciado en el tratamiento con amonio, donde la sobrevivencia disminuyó de 100% a 40% a diferencia del testigo, donde solo se obtuvo una mortalidad de 10%.

Las figuras 16, 17, 18 y 19 muestran que la temperatura afecta significativamente las supervivencias a un nivel de pH de 9, independientemente de la edad y la concentración de amonio, con un efecto más notable en el tratamiento con amonio, que en el tratamiento sin amonio. Los valores de sobrevivencia presentan una notable disminución de 100 a 20% en organismos tratados con amonio, en cambio para el grupo testigo, solo se presentó una disminución de 100 a 80%.

Las figuras 20 y 21 muestran que la edad afecta a la sobrevivencia dependiendo de la concentración de amonio, mientras que en el tratamiento con amonio se observó un incremento de la sobrevivencia con la edad, en el tratamiento testigo se observó lo contrario.

Las figuras 22 y 23 muestran que las sobrevivencias están bien correlacionadas con la temperatura en el pH de 9, observándose una pendiente negativa en ambos casos, con una pendiente más pronunciada en el tratamiento con amonio que en el testigo.

Las figuras 24 y 25 muestran que la edad está poco correlacionada con la supervivencia, pero se presenta una tendencia contradictoria entre el tratamiento con amonio y el testigo, mientras que en presencia de amonio se observa una mayor resistencia con la edad, en el tratamiento sin amonio se observa una menor resistencia con la edad.

En la figura 26 se observa que a 28 °C existe una relación entre la edad y la supervivencia, mientras que en las figuras 27, 28 y 29 se observó que este efecto es muy claro para temperaturas superiores a los 28 °C y edades menores a 25 días.

En las figuras 30 y 31 se observa que en agua libre de amonio, la excreción de este compuesto fué mayor conforme aumenta la edad, a diferencia del agua tratada previamente con amonio, donde se presentó una tendencia a inhibirse la excreción conforme la edad aumenta.



7.- DISCUSIÓN

Se han realizado numerosos estudios acerca de la toxicidad por amonio en organismos acuáticos, sin embargo, la mayoría de la información al respecto está basada en peces y en algunas especies de crustáceos (Emerson y colaboradores, 1975).

La toxicidad del amonio en organismos acuáticos ha sido atribuida a la forma $\text{NH}_3\text{-N}$, y en menor proporción a la forma NH_4^+ . Sin embargo, el presente estudio mostró que el efecto de la concentración de amonio y la edad de los organismos está condicionada por la combinación de pH y temperatura sobre la supervivencia, ya que en temperaturas bajas (26 y 28°C) y valores de pH de 6, 7 y 8, la supervivencia se mantiene constante. Caso contrario ocurre a un pH de 9 y temperaturas altas (30 y 32°C) donde se encontró una mayor mortalidad tanto para el grupo control, como para los organismos que fueron tratados previamente con amonio, lo que nos lleva a interpretar que el pH y la temperatura juegan un papel muy importante sobre la supervivencia de los organismos independientemente de la edad de los mismos, puesto que en todas las etapas larvarias se observó el mismo patrón.

Por otro lado, se observó claramente que el pH de 9 tiene un efecto tóxico mayor que el resto de los tratamientos en presencia del amonio, con lo que podemos decir que la toxicidad del amonio es dependiente de los valores de pH, puesto que la concentración de amonio tóxico en su forma $\text{NH}_3\text{-N}$ se ve incrementada cuando el pH es elevado (9). Del mismo modo ocurre en el grupo control, donde el efecto mortalidad también es notorio a un pH de 9 y temperatura de 30 y 32°C, aunque dicha mortalidad se presenta en menor proporción, debido a la menor concentración de amonio.

Los resultados obtenidos en este estudio con postlarvas de *P. vannamei* coinciden con la investigación realizada por Chu-Chen y Shean-Chin (1989), quienes encontraron que en

postlarvas de *Penaeus monodon* expuestas a 250 mg/l -1 de amonio-N, el tiempo letal medio declinó con el incremento del pH. El consumo de oxígeno también se vió afectado, por lo cual sugieren que con altos niveles de $\text{NH}_3\text{-N}$ y pH elevados (mayor de 9) existe una mayor mortalidad de organismos, a diferencia que se trataran con niveles de pH inferiores a 8. Asimismo, Bower y Bidwell (1978), encontraron que la toxicidad por amonio en postlarvas de *P. monodon* incrementa cuando los valores de temperatura y pH son elevados (25°C y pH de 8.5).

La temperatura también tiene una influencia importante en la sobrevivencia de los organismos, ya que cuando éstos se expusieron a temperaturas elevadas (30 y 32°C) y pH de 9, se presentaron altas tasas de mortalidad, observándose una pendiente negativa para ambos escenarios (organismos tratados con amonio y grupo control), lo que se complementa con la prueba estadística de regresión lineal aplicada a la sobrevivencia de las postlarvas (figura 22 y 23). Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos por Jiang y colaboradores (1999) quienes encontraron que las postlarvas de *P. vannamei* son menos tolerantes al amonio cuando se encuentran en temperaturas altas (30°C), a diferencia de temperaturas de 25°C y menores a ésta, donde se presenta una tolerancia mayor al tóxico. También se observó claramente que la sobrevivencia de los organismos es independiente de la edad en temperaturas altas, puesto que se presenta un efecto negativo en todas las edades, siendo este efecto más visible en temperaturas de 28, 30 y 32°C con pH de 9 y en presencia de amonio (7 mg/l), a diferencia del grupo testigo donde las postlarvas de mayor edad muestran una tendencia a ser más susceptibles a las altas temperaturas, viéndose menos afectadas la pL15 y pL20. Sin embargo, los organismos de 25 y 30 días presentan una resistencia menor a las temperaturas elevadas. Con esto se puede decir que la sobrevivencia es inversamente proporcional a la temperatura, ya que a mayor temperatura, menor sobrevivencia.

Sin embargo, Beltrame y colaboradores (1999) reportan que la sobrevivencia de postlarvas de *P. vannamei* incrementa cuando la temperatura se eleva. Esta diferencia se debe probablemente al estrés de las postlarvas cuando son manipuladas, aunque también el estado de muda pudo influir en este resultado, puesto que no fué tomado en cuenta, y en esas condiciones los organismos están mucho más susceptibles a los cambios ambientales. La temperatura también influye en el movimiento y conducta de los organismos. Se ha observado que en altas temperaturas, hay una movilidad mayor de los organismos, así como una mayor demanda en el consumo de oxígeno, también la alimentación y la excreción es mayor y por lo tanto, tienen una gran energía para crecer, moverse y para la reparación de tejidos dañados. Lo anterior se compara con los descrito por Aldrich y colaboradores (1968), quienes mencionan que la temperatura es el parámetro que domina la respuesta fisiológica y el comportamiento de la mayoría de los organismos acuáticos. Caso contrario ocurre en temperaturas bajas, puesto que el movimiento se reduce, el consumo de oxígeno es menor y los procesos metabólicos disminuyen, lo que implica un gasto menor de energía.

Darsey (1990) menciona que *P. aztecus* a temperaturas menores de 17°C se vuelve inactivo, mientras que para *P. californiensis* el crecimiento y supervivencia es menor a 15°C que a una temperatura de 25 y 32°C. Asimismo, *P. esculentus* a temperaturas inferiores de 20°C se vuelve inactivo y no emerge durante la noche. Por tales motivos, se puede afirmar que las variaciones en la temperatura ejercen una enorme influencia en los organismos acuáticos poiquiloterms, ya que marcan la pauta del metabolismo mediante el control de dinámicas moleculares (difusión, solubilidad y fluidez) (Armitage y Wall, 1982; Neill, 1989).

En cuanto a la edad, podemos decir que ésta no tiene relación alguna con la sobrevivencia, ya que en todos los estadios se presentó un efecto notable de la toxicidad del amonio en temperaturas elevadas con pH de 9, observándose este efecto más pronunciado en aquellos

organismos que se trataron con amonio, a diferencia del grupo control, donde los efectos no se presentan tan intensos pero sí visibles. Sin embargo, se presentó una contradicción entre el tratamiento con amonio y el testigo, puesto que en presencia del amonio se observó una mayor resistencia al efecto tóxico del mismo, en los organismos de mayor edad, mientras que en el testigo sucede de manera contraria, lo que puede deberse a que la excreción de las postlarvas más grandes se incrementa, haciéndolas más sensibles al efecto del pH que las de menor edad, pues se estresan con mayor facilidad, aunque también pudo influir el estado de muda y la morfofisiología del organismo.

Chin y Chen (1987), realizaron un estudio con los primeros estadios larvarios de *P. monodon* y encontraron que conforme la larva se desarrolla, ésta va presentando un incremento progresivo a tolerar niveles más elevados de amonio-N y $\text{NH}_3\text{-N}$. Posteriormente Chen y Lin (1992), concluyeron que la tolerancia del amonio en camarones peneidos se incrementa con la edad. Esto concuerda con los resultados obtenidos en el presente trabajo, donde se observó una clara tendencia a aumentar la resistencia de los organismos al efecto del amonio, conforme la edad aumenta. Por tanto, se puede decir que la sobrevivencia de los organismos está influenciada por los parámetros fisicoquímicos del ambiente en el que se desarrollan independientemente de la edad de los mismos.

Respecto a la excreción de amonio, se encontró que conforme aumenta la edad, la excreción también se incrementa en agua libre de amonio, mientras que en los organismos que fueron tratados con amonio, no se observó la misma tendencia, lo que puede deberse al exceso de amonio en el medio, ya que las concentraciones de éste, dificultan el proceso de difusión del amonio por el organismo hacia el exterior, provocando la acumulación del tóxico en el torrente sanguíneo, provocando así la muerte de los organismos por intoxicación. Lo anterior se documenta con los resultados obtenidos por Chen y colaboradores (1992) quienes mencionan que

en organismos subadultos de *P. chinensis* la excreción disminuye cuando los organismos son expuestos a concentraciones elevadas de amonio, en un rango de 10 a 20 mg/l. Esto nos lleva a concluir que la excreción de amonio en los organismos está influenciada por la concentración de éste existente en el medio.

Referente al pH, podemos inferir que éste no tiene la capacidad para inhibir o estimular la excreción en ambientes libres de amonio, puesto que las concentraciones de éste, se mantienen constantes a pesar del incremento del pH, no así para los ambientes con amonio, en donde es muy visible la tendencia que existe para inhibirse la excreción conforme el pH aumenta, lo que implica un efecto tóxico de mayor magnitud.

También se observó claramente que la temperatura no influye de manera significativa en la excreción del amonio para los organismos del grupo control, pues los niveles de excreción se mantienen muy similares entre las cuatro temperaturas analizadas. De la misma manera ocurre en los organismos que se trataron con amonio, pues la excreción es constante, aunque con una ligera variación a los 28°C, que se debió probablemente a una baja tasa metabólica, ya que los organismos ocupan su energía también en otros procesos. En cuanto a los organismos de 20 días, se observó que la excreción se incrementa ligeramente conforme la temperatura aumenta. Sin embargo, es notorio que el amonio exterior interfiere de sobremanera en la excreción, pues los organismos que se trataron previamente con amonio, tienden a disminuir su excreción con el aumento de la temperatura, lo que combinado con el efecto de los pH elevados, sobre la toxicidad del amonio, puede favorecer la inhibición de la excreción. Además, el periodo de muda afecta directamente el consumo de alimento, debido a que se presenta un cese en la alimentación lo que implica un descenso en la excreción. Estos resultados concuerdan con lo descrito por Chu Chen y Hua Nan en 1993, quienes reportan que cuando expusieron a un grupo de camarones a 0.015 mg/l de amonio-N, la excreción de éstos fue significativamente más alta que en aquellos que fueron

expuestos a 0.678 mg/l de amonio-N después de 6 horas. Por tanto, infieren que un ambiente con amonio, inhibe la excreción a través de la superficie del epitelio de los organismos, lo que provoca un incremento de amonio en la sangre, alcanzando niveles tóxicos para el organismo. Se han encontrado también resultados similares en peces como la trucha arcoiris y el pez dorado, quienes presentan un decremento en la excreción, cuando se incrementa el nivel de amonio en el ambiente acuático.

Todo lo anterior refleja la importancia de mantener un especial cuidado no sólo en la toxicidad del amonio, sino también en las condiciones ambientales en que se encuentran los organismos, de las cuales dependerá dicha toxicidad, por lo que podemos deducir que el amonio al ser dependiente del pH, requiere una mayor atención en el monitoreo tanto de la forma tóxica (NH_3), como de la forma no tóxica (NH_4^+), así como los valores de pH que deben ser menores de 9, y temperaturas inferiores a 30°C, para alcanzar éxito en el manejo del camarón en cautiverio.



8.- CONCLUSIONES

1. Un pH de 9 en el ambiente acuático afecta la supervivencia de las postlarvas independientemente de la edad, la temperatura y la concentración de amonio, sin embargo, este efecto se agrava con el incremento de la concentración de amonio.
2. El escenario ambiental de pH y temperatura tiene un efecto significativo sobre la sobrevivencia de las postlarvas de *P. vannamei* independientemente de la edad y la concentración de amonio.
3. Los valores óptimos de temperatura y pH para un manejo seguro de postlarvas de *P. vannamei* con una salinidad de 38‰ se estiman en 28°C y pH menores a 8.
4. La temperatura tiene un efecto significativo sobre la sobrevivencia de las postlarvas, la cual es muy notable a pH de 9 independientemente de la edad y la concentración de amonio, a mayor temperatura menor sobrevivencia, siendo más notable el efecto con la presencia de amonio. Dichos valores oscilan entre 85% y 99% (con amonio y sin amonio respectivamente) con 26°C. 52% a 96% con 28°C. 35% a 87% con 30°C y 21% a 76% con 32°C.
5. La edad está poco correlacionada con la sobrevivencia, excepto a temperaturas de 28°C, donde se observa un incremento de la resistencia de las postlarvas con la edad en presencia de amonio.
6. La edad tiene un efecto similar a temperaturas superiores a los 28 °C y edades menores de 20 días.
7. La excreción de amonio aumenta con la edad en agua marina libre de amonio, mientras que en agua marina con 7 mg/l de amonio, este efecto no es evidente.



10.- LITERATURA CITADA

- Aldrich, D.V., Wood, C.E. and Baxter, K.N. 1968. An ecological interpretation of low temperature responses in *Penaeus aztecus* and *Penaeus setiferus* postlarvae. Bull. Mar. Sci. 18 (1), 61-67.
- Armstrong, D.A., 1978. Toxicity and metabolism of nitrogen compounds: Effects on survival growth and osmoregulation of the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. D. Disseration, Ecology group. Univ. Calif. Davis, 94 pp.
- Armitage, K.B. and Wall, T.J. 1982. The effects of body size, starvation and temperature acclimation on oxygen consumption of the crayfish *Orconectes nais*. Comp. Biochem. Physiol. 73A, 63-68.
- Bassanesi, D.A.T. 1987. Análisis de un cultivo de camarón blanco (*Penaeus vannamei* Boone, 1931) en estanques rústicos en San Blas, Nayarit. México UNAM pp. 194-228.
- Beltrame, E., Moreno, P. y Seiffert, W. Q. 1999. Minimal lethal temperature establishment on post larva of *penaeus vannamei*. Federal University of Sta. Catarina. pp. 13.
- Bliss, D.F. 1983. The biology of crustacea. Economics aspects: fisheries and culture. Academic Press INC. 5, 2-21.
- Bower, C.E. and Bidwell, J.P. 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. J. Fish.Res.Board. 35, 1012-1016.
- Bowman, T.E. and Abele, L.G. 1983. Classification of the recent crustacea. En: The biology of crustacea (Bliss y Mantel, eds) Vol.1, Academic press, New York. 1-27.
- Boyd, C.E. 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Alabama Agricultural experiment. Birmingham. 80-87 y 156-159.
- Brockway, D.R. 1950. Metabolic products and their effects. Prog. Fish. Cult. 12, 127-129.
- Cáceres, M.C. 1997. Estado actual del cultivo de moluscos en México. En: 3a. Reunión Nacional de Redes de Investigación en Acuicultura. 1-7.
- Colt, J.E. and Armstrong, D.A. 1979. Nitrogen toxicity to fish, crustaceans and mollusc. Department of civil engineering. University of California, 30 pp.
- Colt, J.E. and Armstrong, D.A. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. In: L.J. Allen and E.C. Kinney (editors), proceedings of the Bio-Engineering symposium for fish culture. Culture section of the american Fisheries Society (FCS publ. 1), 34-47.
- Chin, T.S. and Chen, J.C. 1987. Acute toxicity of ammonia to larvae of the tiger prawn, *Penaeus monodon*. Aquaculture 66, 247-253.

- Chen, J.C. and Kou, Y.Z. 1991. Accumulation of ammonia in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambiente ammonia. *Dis Aquat Org.* 11, 187-191.
- Chen, J.C. and Lin, C.Y. 1992. Effect of ammonia on growth of *Penaeus monodon* juveniles. *Comp. Biochem. Physiol.* (in press).
- Chu Chen, J. y Hua Nan, F. 1992. Effect of ambient ammonia on ammonia-N excretion and ATPase activity of *Penaeus chinensis*. *Aquatic Toxicology.* (23), 1-10.
- Chu Chen, J. and Huan Lai, S. 1993. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. *Exp. Mar. Biol. Ecolaboradores* 165 (2), 161-170.
- Chu Chen, J. and Hua Nan, F. 1993. Effects of ammonia on oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* after prolonged exposure to ammonia. *Bull. Environ. Contam. Toxicolaboradores* (51), 122-129.
- Chu Chen, J. and Shean-Chin, T. 1989. Effect to ammonia at different PH levels on *Penaeus monodon* Postlarvae. *Asian fisheries Science* (2), 233-238.
- Darsey, K.T. 1990. The influence of temperature, salinity on the growth and survival of California brown shrimp *Penaeus californiensis* (Holmes). M. Se. Thesis, University of Arizona. 43 pp.
- Díaz, H.O., Pérez, C.E., Luna, F.J., Tapia, G.A. and Rosas, V.C. 1992. Oxygen consumption, ammonia excretion and osmoregulation of *Callinectes similis* juveniles (Crustacea:Portunidae) exposed to fluctuating salinities. *Cienc. Mar.* 18 (3), 93-104.
- Dore, I. and Frimoldt, C. 1987. An illustrated guide to shrimp of the world. Osprey Books. 229 pp.
- Eckert, R. 1989. Fisiología animal, mecanismos y adaptaciones. Mc Graw-Hill. Interamericana de España, 429-433 y 511-512.
- Emerson, K., Russo, R.L. and Thurston, R.V. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: Effects of pH and temperature. *J. Fish. Res. Board* 32. 2379-2388.
- Escutia, S. 1997. Situación actual del cultivo de camarón ante el embate de ambientalistas. En: *Panorama acuícola.* 2 (3), 20-21.
- Flaherty, M. and Karnjanakesorn, C. 1995. Marine shrimp aquaculture and natural resources degradation in Thailand. *Environmental management.* 19 (1), 27-37.
- Frías, E.M.G. 1997. Estudio sobre el efecto del amonio en postlarvas y juveniles de *Penaeus vannamei*. Tesis. U.N.A.M. México, 85 pp.

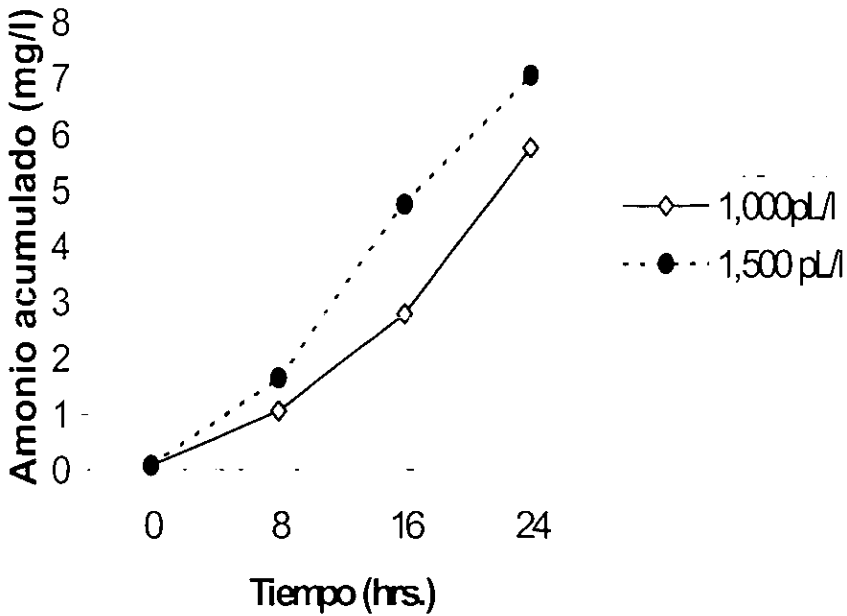
- From, P.O. and Gillette, J.R. 1968. Effect of ambient ammonia on blood ammonia and nitrogen excretion of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.* (26), 887-896.
- Geoff, L.A. and Maguire, G.B. 1992. Effects of pH and salinity on survival, growth and osmoregulation in *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture* (107), 33-47.
- Hampson, B.L. 1977. Relationship between total ammonia and free ammonia in terrestrial and ocean waters. *J. du conseil.* (37), 117-122.
- Hazel, C.R., Thomsen, W. and Meith, S.J. 1971. Sensitivity of striped bass and stickleback to ammonia in relation to temperature and salinity. *Calif. Fish Game.* (3), 154-161.
- Jiang, D., Lawrence, A.L., Neirl, W.H., Grant, W.E., Gong, H. 1999. Lethal effect of ammonia to postlarval *Penaeus vannamei* at two temperatures, 25 and 30° C. *Texas University Shrimp Mariculture Project.* pp-77.
- Kinne, O. 1970. Temperature, animals, invertebrates. In *Marine Ecology vol. I. Environmental factors, part 2.* London, U.K. 407-514.
- Kiame, O. 1976. Cultivation of marine organisms: water quality management and technology. In: O. Kinne (editor), *Marine Ecology.* (3), 79-300.
- Kramer, G.L. 1975. Studies on the lethal dissolved oxygen levels for young brown shrimp, *Penaeus aztecus* Ives. *Proceeding of the world. Mariculture Society* (6), 157-167.
- Lloyd, R. and Orr, L.D. 1969. The diuretic response by rainbow trout to sub-lethal concentrations of ammonia. *Wat. Res.* 3, 335-344.
- Martínez, G.J.E. 1996. Condiciones para el crecimiento de camarón blanco *Penaeus setiferus*. Modelos para su cultivo. Tesis. U.N.A.M. México, 95 pp.
- Mazón, S.D., Magallón, B.F., Portillo, C.G. y Hernández L.A. 1996. Cultivo de camarón *Penaeus spp.* En: Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. Casas V.M. y G. Ponce (eds.) vol. II, 551-569.
- McLaughlin, P.A. 1983. Internal Anatomy. In: *The biology of crustacea* (Bliss y Mantel, eds.) Vol.5, Academic Press, New York. 1-53.
- Meade, J.W. 1985. Allowable ammonia for fish culture. *Prog. Fish cult.* 47, 135-145.
- Milne, M.D., Scribner, B.H. and Craford, M.A. 1958. Non-ionic diffusion and excretion of weak acids and bases. *Am. J. Med.* (24). 709-729.
- Neill, W. 1989. Efectos de temperatura and oxygen on biology of aquatic organism: implications for aquaculture. *Journal of the world Aquaculture Society.* 20 (1), 54 pp.

- New, M.B. 1997. Aquaculture and fisheries. *World Aquaculture*. 28 (2), 11-30.
- Ocampo, V.L. 1998. Efecto del oxígeno disuelto y la temperatura en el crecimiento, metabolismo respiratorio y energética de juveniles de camarón café *Penaeus californiensis*. Tesis Doctorado. CIBNOR. La Paz, B.C. Sur.
- Pérez-Farfante. 1988. Illustrated key to penaeoid shrimps of commerce in the americas. NOAA Technical report NMFS 64. U.S. Department of commerce. 1-32.
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh water crustacea. *Biology Rev.* (62), 1-24.
- Rosenthal, H. 1994. The trend toward intensification has caused considerable socioeconomic conflict. *World Aquaculture*. 25(2), 5-11.
- Sepúlveda, M.A. 1981. Estimación de la mortalidad natural y por pesca del camarón blanco *Penaeus vannamei* en el sistema lagunar Huizache-Caimanero, Sin. durante la temporada 76-77. *Ciencia pesquera*. (1),54-59.
- Schmitt, A.S.C.and Uglow, R.F. 1996. Effects of temperature change rate on nitrogen effluxes of *Macrobranchium rosenbergii* (De Man). *Aquaculture* (140), 373-378.
- SEPESCA (Secretaría de Pesca). 1994. Proyecto para el desarrollo de la acuicultura en el estado de Baja California Sur, presentado al banco mundial. Secretaría de Pesca. Gobierno del Edo. de B.C.S. 33 pp.
- Sierra, O.R., 1996. Experiencias en el cultivo de camarón en México. *Camaronicultura*, 96. Foro Internacional. Banco de México. Mazatlán, Sin. 1-4.
- Smith, C.E. and Piper, R.G. 1975. Lesions associated with chronic exposure to ammonia In: W.E. Ribelin and G. Migaki (editors) *The pathology of fishes*. University of Wisconsin, 497-514.
- Solórzano, L. 1969. Determination of ammonio in natural waters by phenol-hipoclorite method. *Limnology and Oceanography* 14, 799-801.
- Sousa, R.J. and Meade, T.L. 1977. The influence of ammonia on the oxygen delivery system of coho salmon hemoglobin. *Comp. Biochem. Physiol.* (58), 8-23.
- Teichert, C.D. (1994). La calidad del agua y su manejo en estanques de camarón. *Memorias del Seminario Internacional de camaroni-cultura*. pp. 1-13.
- Treece, G.D. and Yates, M.E. 1988. Laboratory manual fo r the culture of penaeidae shrimp larvae. Texas A&M university sea Grant College Program. Galveston, Texas. 75 pp.

- Tomasso, J.R., Goudie, C.A., Simco, B.A. and Davis, K.B. 1980. Effects of environment pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 109, 229-234.
- Tucker, L., Boyd, C.E., and Mc Coy. 1979. Effects of feeding rate on water quality, production of channel catfish, and economic returns. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 108, 247-390.
- Vega, A.J. y De la Cruz, S.A. 1988. Efecto de la temperatura, la salinidad y el pH sobre las larvas de camarón blanco *Penaeus schmitti*. Universidad de la Habana, Cuba. *Revista de Investigaciones marinas* 9, 125-132.
- Wheaton, W.F. 1982. Acuicultura. Diseño y construcción de sistemas. AGT editor. México, 558-560.
- Whitfield, M. 1974. The hydrolysis of ammonium ions in sea water a theoretical study. *J.marine biology* 54, 565-580.

Cuadro 1.- Concentración de amonio acumulada durante un empaque con pL10, de *P. vannamei* a diferentes densidades, en un lapso de 24 horas.

Tiempo	Densidad=1,000pL/l	pH final	Densidad=1.500pL/l	pH final
0 hrs.	0.084 mg	7.8	0.084 mg	7.8
8 hrs.	1.052 mg	6.7	1.634 mg	6.5
16 hrs.	2.779 mg	6.3	4.751 mg	6.3
24 hrs.	5.753 mg	6.5	7.061 mg	6.5



Cuadro 2.- Porcentaje de sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH y temperatura de 26° C.

Porcentaje de sobrevivencia (%)												
Organismos tratados con amonio (7mg/l)							Organismos tratados sin amonio					
pH	ESTADÍO						ESTADÍO					
	pL5	pL10	pL15	pL20	pL25	pL30	pL5	pL10	pL15	pL20	pL25	pL30
6	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
7	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
8	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
9	83.8	91.2	93.8	95	62.5	83.8	100	100	100	100	96.2	100

Cuadro 3.- Porcentaje de sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH y temperatura de 28° C.

Porcentaje de sobrevivencia (%)												
Organismos tratados con amonio (7mg/l)							Organismos tratados sin amonio					
pH	ESTADÍO						ESTADÍO					
	pL5	pL10	pL15	pL20	pL25	pL30	pL5	pL10	pL15	pL20	pL25	pL30
6	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
7	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
8	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
9	28.8	31.3	62.5	65	61.3	67.5	100	100	100	90	93.8	93.8

Cuadro 4.- Porcentaje de sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH y temperatura de 30° C.

Porcentaje de sobrevivencia (%)												
Organismos tratados con amonio (7 mg/l)							Organismos tratados sin amonio					
pH	ESTADÍO						ESTADÍO					
	pL5	pL10	pL15	pL20	pL25	pL30	pL5	pL10	pL15	pL20	pL25	pL30
6	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
7	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
8	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
9	25	27.5	56.3	45	25	28.8	83.8	90	90	82.5	87.5	87.5

Cuadro 5.- Porcentaje de sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH y temperatura de 32° C.

Porcentaje de sobrevivencia (%)												
Organismos tratados con amonio (7 mg/l)							Organismos tratados sin amonio					
pH	ESTADÍO						ESTADÍO					
	pL5	pL10	pL15	pL20	pL25	pL30	pL5	pL10	pL15	pL20	pL25	pL30
6	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
7	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
8	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
9	10	6.3	23.8	32.5	8.8	47.5	83.8	83.8	83.8	88.8	50	63.8

Cuadro 6.- Concentración de amonio total al final del experimento en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 26°C. La desviación estándar se indica entre paréntesis.

pH	Organismos tratados con amonio.						Organismos tratados sin amonio.					
	ESTADIO						ESTADIO					
	PL 5	PL 10	PL 15	PL 20	PL 25	PL 30	PL 5	PL 10	PL 15	PL 20	PL 25	PL 30
6	0.8436 (0.0123)	0.8278 (0.0059)	0.8773 (0.0213)	0.8623 (0.0039)	0.8487 (0.0069)	0.8309 (0.0126)	0.6981 (0.0057)	0.7006 (0.0029)	0.7153 (0.0035)	0.7214 (0.0012)	0.7239 (0.0009)	0.7247 (0.0025)
7	0.8429 (0.0159)	0.8761 (0.0099)	0.8498 (0.0183)	0.8734 (0.0083)	0.8520 (0.0036)	0.8302 (0.0106)	0.7013 (0.0016)	0.7080 (0.0009)	0.7148 (0.0030)	0.7171 (0.0032)	0.7223 (0.0007)	0.7258 (0.0002)
8	0.8647 (0.0072)	0.8622 (0.0102)	0.8197 (0.0132)	0.8296 (0.0044)	0.8264 (0.0041)	0.8280 (0.0137)	0.7009 (0.0063)	0.7072 (0.0012)	0.7124 (0.0008)	0.7170 (0.0029)	0.7222 (0.0011)	0.7256 (0.0003)
9	0.9237 (0.0013)	0.8163 (0.0051)	0.8278 (0.0070)	0.8086 (0.0034)	0.8155 (0.0039)	0.8245 (0.0025)	0.7027 (0.0059)	0.7054 (0.0024)	0.7073 (0.0029)	0.7123 (0.0002)	0.7134 (0.0031)	0.7210 (0.0031)

Cuadro 7.- Concentración de amonio total al final del experimento en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 28°C. La desviación estándar se indica entre paréntesis.

pH	Organismos tratados con amonio.						Organismos tratados sin amonio.					
	ESTADIO						ESTADIO					
	PL 5	PL 10	PL 15	PL 20	PL 25	PL 30	PL 5	PL 10	PL 15	PL 20	PL 25	PL 30
6	0.8353 (0.0019)	0.8847 (0.0035)	0.8423 (0.0022)	0.8677 (0.0027)	0.8679 (0.0130)	0.8076 (0.0009)	0.6978 (0.004)	0.7125 (0.0037)	0.7140 (0.0009)	0.7208 (0.0004)	0.7240 (0.0038)	0.7254 (0.0009)
7	0.8289 (0.0098)	0.8815 (0.0077)	0.8349 (0.0030)	0.8654 (0.0045)	0.8610 (0.0029)	0.8131 (0.0056)	0.6989 (0.0038)	0.7134 (0.0024)	0.7139 (0.0015)	0.7194 (0.0027)	0.7256 (0.0004)	0.7255 (0.0003)
8	0.8151 (0.0119)	0.8751 (0.0131)	0.8190 (0.0086)	0.8240 (0.0056)	0.8271 (0.0072)	0.8140 (0.0024)	0.7034 (0.0037)	0.7095 (0.0037)	0.7148 (0.0021)	0.7180 (0.0027)	0.7253 (0.0007)	0.7247 (0.0010)
9	0.8901 (0.0107)	0.8230 (0.0079)	0.8105 (0.0029)	0.8108 (0.0462)	0.8132 (0.0041)	0.8140 (0.0058)	0.7061 (0.0062)	0.7068 (0.0032)	0.7117 (0.0004)	0.7094 (0.0023)	0.7137 (0.0020)	0.7219 (0.0011)

Cuadro 8.- Concentración de amonio total al final del experimento en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 30°C. La desviación estándar se indica entre paréntesis.

pH	Organismos tratados con amonio.						Organismos tratados sin amonio.					
	ESTADIO						ESTADIO					
	PL 5	PL10	PL15	PL 20	PL 25	PL30	PL5	PL10	PL15	PL20	PL25	PL30
6	0.8248 (0.0029)	0.8194 (0.0159)	0.8284 (0.0020)	0.8399 (0.0061)	0.8696 (0.0045)	0.8320 (0.0047)	0.6944 (0.0015)	0.7002 (0.0002)	0.7130 (0.0013)	0.7224 (0.0019)	0.7250 (0.0016)	0.7247 (0.0004)
7	0.8851 (0.0272)	0.8579 (0.0103)	0.8122 (0.0005)	0.8414 (0.0194)	0.8766 (0.0106)	0.8495 (0.0138)	0.6981 (0.0062)	0.7109 (0.0032)	0.7194 (0.0014)	0.7226 (0.0020)	0.7244 (0.0017)	0.7248 (0.0011)
8	0.9141 (0.0043)	0.8934 (0.0060)	0.8101 (0.0003)	0.8018 (0.0025)	0.8403 (0.0076)	0.8158 (0.0097)	0.7018 (0.0056)	0.7096 (0.0036)	0.7110 (0.0008)	0.7216 (0.0024)	0.7253 (0.0009)	0.7254 (0.0015)
9	0.8221 (0.0079)	0.8823 (0.0466)	0.8075 (0.0033)	0.8098 (0.0189)	0.8197 (0.0103)	0.8217 (0.0089)	0.7001 (0.0056)	0.7083 (0.0037)	0.7186 (0.0071)	0.7081 (0.0015)	0.7173 (0.0024)	0.7216 (0.0016)

Cuadro 9.- Concentración de amonio total al final del experimento en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de pH a temperatura de 32°C. La desviación estándar se indica entre paréntesis.

pH	Organismos tratados con amonio.						Organismos tratados sin amonio.					
	ESTADIO						ESTADIO					
	PL 5	PL10	PL15	PL 20	PL 25	PL30	PL5	PL10	PL15	PL20	PL25	PL30
6	0.8188 (0.0095)	0.8965 (0.0079)	0.8167 (0.0112)	0.8167 (0.0112)	0.8275 (0.0044)	0.8208 (0.0034)	0.7033 (0.0796)	0.7074 (0.0072)	0.7157 (0.0018)	0.7180 (0.0012)	0.7226 (0.0013)	0.7242 (0.0022)
7	0.8830 (0.0324)	0.9060 (0.0109)	0.8366 (0.0023)	0.8366 (0.0023)	0.8525 (0.0041)	0.8306 (0.0069)	0.6991 (0.0071)	0.7102 (0.0052)	0.7168 (0.0028)	0.7216 (0.0027)	0.7258 (0.0003)	0.7260 (0.0002)
8	0.8689 (0.0215)	0.8693 (0.0112)	0.8182 (0.0038)	0.8182 (0.0038)	0.8299 (0.0052)	0.8237 (0.0028)	0.7008 (0.0058)	0.7111 (0.0043)	0.7121 (0.0025)	0.7192 (0.0013)	0.7260 (0.0003)	0.7257 (0.0005)
9	0.8340 (0.0053)	0.8085 (0.0046)	0.8309 (0.0049)	0.8309 (0.0049)	0.8269 (0.0089)	0.8262 (0.0068)	0.6998 (0.0038)	0.7076 (0.0037)	0.7110 (0.0014)	0.7090 (0.0009)	0.7189 (0.0019)	0.7253 (0.0005)

Cuadro10.- Análisis de Varianza practicado a los datos de sobrevivencia para pL5, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	Organismos tratados con amonio					Organismos tratados sin amonio				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	792.1875	3	264.0625	5.571429	0	0.00	3	0.00	0	0
28°	15229.69	3	5076.563	98.45454	0	0.00	3	0.00	0	0
30°	16200	3	5400	144	0	792.1875	3	264.0625	169	0
32°	23475	3	7825	170.7273	0	792.1875	3	264.0625	46.09091	0

Prueba de Tukey, aplicada para sobrevivencia.

Organismos tratados con amonio						Organismos tratados sin amonio					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	--	pH6	100	--
pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	--	pH7	100	--
pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	--	pH8	100	--
pH9	83.8	* * *	pH9	28.8	* * *	pH9	100	--	pH9	100	--

30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*
pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*
pH8	95	*	pH8	95	*	pH8	100	*	pH8	100	*
pH9	25	* * *	pH9	10	* * *	pH9	83.8	* * *	pH9	83.8	* * *

Cuadro 11.- Análisis de Varianza practicado a los datos de sobrevivencia para **pL10**, tratadas con y sin amonio.

<u>Organismos tratados con amonio</u>						<u>Organismos tratados sin amonio</u>				
Temperatura	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	229.6875	3	76.5625	7.736842	0	0.00	3	0.00	0	0
28°	14179.69	3	4726.563	336.1111	0	0.00	3	0.00	0	0
30°	15768.75	3	5256.25	87	0	300	3	100	24	0
32°	26367.19	3	8789.063	625	0	792.1875	3	264.0625	169	0

Prueba de Tukey, aplicada para sobrevivencia.

<u>Organismos tratados con amonio</u>						<u>Organismos tratados sin amonio</u>					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	--	pH6	100	--
pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	--	pH7	100	--
pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	--	pH8	100	--
pH9	91.25	* * *	pH9	31.3	* * *	pH9	100	--	pH9	100	--
30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*
pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*
pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	*
pH9	27.5	* * *	pH9	6.3	* * *	pH9	90	* * *	pH9	83.8	* * *

Cuadro 12.- Análisis de Varianza practicado a los datos de sobrevivencia para **pL15**, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	Organismos tratados con amonio					Organismos tratados sin amonio				
	Suma de cuadrados	Gl.	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	117.1875	3	39.0625	3.94736	0	0.00	3	0.00	0	0
28°	4218.75	3	1406.25	27	0	0.00	3	0.00	0	0
30°	5742.188	3	1914.063	334.0909	0	300	3	100	24	0
32°	17442.19	3	5814.063	112.7576	0	792.1875	3	264.0625	169	0

Prueba de Tukey, aplicada para sobrevivencia.

Organismos tratados con amonio						Organismos tratados sin amonio					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	--	pH6	100	*	pH6	100	--	pH6	100	--
pH7	100	--	pH7	100	*	pH7	100	--	pH7	100	--
pH8	100	--	pH8	100	*	pH8	100	--	pH8	100	--
pH9	93.8	--	pH9	62.5	* * *	pH9	100	--	pH9	100	--

30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*
pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*
pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	*
pH9	56.3	* * *	pH9	23.8	* * *	pH9	90	* * *	pH9	83.8	* * *

Cuadro 13.- Análisis de Varianza practicado a los datos de sobrevivencia para **pl.20**, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	<u>Organismos tratados con amonio</u>					<u>Organismos tratados sin amonio</u>				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	75	3	25	6	0	0.00	3	0.00	0	0
28°	36	3	1225	8.909091	0	379.6875	3	126.5625	6.942857	0
30°	9075	3	3025	145.2	0	918.75	3	306.25	11.30769	0
32°	13668.75	3	4556.25	104.1429	0	379.6875	3	126.5625	12.78947	0

Prueba de Tukey, aplicada para sobrevivencia.

<u>Organismos tratados con amonio</u>						<u>Organismos tratados sin amonio</u>					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	--	pH6	100	*
pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	--	pH7	100	*
pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	--	pH8	100	*
pH9	95	* * *	pH9	65	* * *	pH9	100	--	pH9	88.8	* * *

30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*
pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*
pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	*
pH9	45	* * *	pH9	32.5	* * *	pH9	82.5	* * *	pH9	88.8	* * *

Cuadro 14.- Análisis de Varianza practicado a los datos de sobrevivencia para pL25, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	Organismos tratados con amonio					Organismos tratados sin amonio				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	4218.75	3	1406.25	61.3636	0	42.1875	3	14.0625	2.4545	0
28°	4504.688	3	1501.563	31.68132	0	117.1875	3	39.0625	25	0
30°	16875	3	5625	90	0	468.75	3	156.25	75	0
32°	24979.69	3	8326.563	1453.364	0	7500	3	2500	75	0

Prueba de Tukey, aplicada para sobrevivencia.

Organismos tratados con amonio						Organismos tratados sin amonio					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	--	pH6	100	*
pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	--	pH7	100	*
pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	--	pH8	100	*
pH9	62.5	* * *	pH9	61.3	* * *	pH9	96.3	--	pH9	93.8	* * *

30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*	pH6	100	*
pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*	pH7	100	*
pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	*	pH8	100	*
pH9	25	* * *	pH9	8.8	* * *	pH9	87.5	* * *	pH9	50	* * *

Cuadro 15.- Análisis de Varianza practicado a los datos de sobrevivencia para **pL30**, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	<u>Organismos tratados con amonio</u>					<u>Organismos tratados sin amonio</u>				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	792.1875	3	264.0625	5.57142	0	0.00	3	0.00	0	0
28°	3168.75	3	1056.25	101.4	0	4.6875	3	1.5625	1	0
30°	15229.69	3	5076.563	513	0	468.75	3	156.25	15	0
32°	8268.759	3	2756.25	147	0	3942.188	3	1314.063	33.64	0

Prueba de Tukey, aplicada para sobrevivencia.

<u>Organismos tratados con amonio</u>						<u>Organismos tratados sin amonio</u>					
26°	Medias	diferencia significativa		28°	Medias	diferencia significativa		26°	Medias	diferencia significativa	
pH6	100	*		pH6	100	*		pH6	100	--	
pH7	100	*		pH7	100	*		pH7	100	--	
pH8	100	*		pH8	100	*		pH8	100	--	
pH9	83.8	* * *		pH9	67.5	* * *		pH9	100	--	

30°	Medias	diferencia significativa		32°	Medias	diferencia significativa		30°	Medias	diferencia significativa	
pH6	100	*		pH6	100	*		pH6	100	*	
pH7	100	*		pH7	100	*		pH7	100	*	
pH8	100	*		pH8	100	*		pH8	100	*	
pH9	28.8	* * *		pH9	47.5	* * *		pH9	87.5	* * *	

Cuadro 16.- Análisis de Varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pLS, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	Organismos tratados con amonio					Organismos tratados sin amonio				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	.017336	3	.005779	50.01245	.00	.000044	3	.000015	.52673	.60
28°	.017812	3	.005937	66.01601	.00	.00018	3	.000006	3.4431	.05
30°	.025231	3	.00841	39.19396	.00	.000121	3	.00004	1.54195	.25
32°	.010674	3	.003558	8.7246	.00	.000036	3	.000012	.29527	.82

Prueba de Tukey, aplicada para la concentración total de amonio.

Organismos tratados con amonio						Organismos tratados sin amonio					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8436	--	pH6	.8353	*	pH6	.6981	--	pH6	.6978	--
pH7	.8429	--	pH7	.8289	*	pH7	.7013	--	pH7	.6989	--
pH8	.8647	--	pH8	.8151	*	pH8	.7009	--	pH8	.7034	--
pH9	.9237	--	pH9	.9016	* *	pH9	.7027	--	pH9	.7061	--

30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8436	*	pH6	.8353	* *	pH6	.6944	--	pH6	.7033	--
pH7	.8429	* *	pH7	.8289	*	pH7	.6981	--	pH7	.6994	--
pH8	.8647	* *	pH8	.8151	*	pH8	.7018	--	pH8	.7008	--
pH9	.9237	* *	pH9	.9016	*	pH9	.7001	--	pH9	.6998	-

Cuadro 17.-Análisis de Varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para p1.10, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	Organismos tratados con amonio					Organismos tratados sin amonio				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	.00952	3	.003173	47.58243	0	.000131	3	.000044	10.09181	.00
28°	.010076	3	.003359	43.6116	0	.00011	3	.000037	3.281271	.05
30°	.012886	3	.004295	6.7313	0	.000281	3	.000094	9.905005	.00
32°	.023129	3	.00771	93.4324	0	.00003	3	.000013	.465164	.71

Prueba de Tukey, aplicada para la concentración total de amonio.

Organismos tratados con amonio						Organismos tratados sin amonio					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8278	* *	pH6	.8847	*	pH6	.7006	* * *	pH6	.7125	--
pH7	.8761	* *	pH7	.8815	*	pH7	.7080	*	pH7	.7134	--
pH8	.8622	*	pH8	.8751	*	pH8	.7072	*	pH8	.7095	--
pH9	.8163	* *	pH9	.8230	* * *	pH9	.7054	*	pH9	.7068	--

30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8194	* *	pH6	.8965	* *	pH6	.6944	* * *	pH6	.7074	--
pH7	.8579		pH7	.9060	*	pH7	.6981	*	pH7	.7100	--
pH8	.8934	*	pH8	.8693	*	pH8	.7018	*	pH8	.7	--
pH9	.8823	*	pH9	.8085	* *	pH9	.7001	*	pH9	.7076	--

Cuadro 18.- Análisis de Varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL15, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	Organismos tratados con amonio					Organismos tratados sin amonio				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	.007994	3	.002665	10.45687	.00	.000162	3	.000054	6.946227	.00
28°	.002521	3	.00084	34.82293	.00	.000021	3	7.0E-06	3.45843	.05
30°	.001072	3	.000357	28.14498	.00	.000315	3	.000105	41.62244	.00
32	.001124	3	.000375	5.2478	.01	.000092	3	.000031	6.298068	.00

Prueba de Tukey, aplicada para la concentración total de amonio.

Organismos tratados con amonio						Organismos tratados sin amonio					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8773	* *	pH6	.8423	* *	pH6	.7153	*	pH6	.7140	
pH7	.8498		pH7	.8349	* *	pH7	.7148	*	pH7	.7139	
pH8	.8197	*	pH8	.8190	* *	pH8	.7124		pH8	.7148	*
pH9	.8278	*	pH9	.8105	* *	pH9	.7073	* *	pH9	.7117	*
30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8284	* * *	pH6	.8327	*	pH6	.7130	*	pH6	.7157	
pH7	.8122	*	pH7	.8326	*	pH7	.7194		pH7	.7168	* *
pH8	.8101	*	pH8	.8194		pH8	.7110	*	pH8	.7121	* *
pH9	.8075	*	pH9	.8134	* *	pH9	.7072		pH9	.7110	*

Cuadro 19.- Análisis de Varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL20, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	Organismos tratados con amonio					Organismos tratados sin amonio				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	.010614	3	.003538	123.4475	0	.000165	3	.000055	10.4511	.00
28°	.00624	3	.00208	3.791009	.04	.000313	3	.000104	20.1284	.00
30°	.004986	3	.001662	8.502986	.00	.000598	3	.000199	49.37403	.00
32°	.001135	3	.000378	8.846148	.00	.000362	3	.000121	40.87579	.00

Prueba de Tukey, aplicada para la concentración total de amonio.

Organismos tratados con amonio						Organismos tratados sin amonio					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8623	*	pH6	.8677	--	pH6	.7214	*	pH6	.7208	*
pH7	.8734	*	pH7	.8654	--	pH7	.7171		pH7	.7194	*
pH8	.8298	* *	pH8	.8240	--	pH8	.7170		pH8	.7180	*
pH9	.8086	* *	pH9	.8308	--	pH9	.7123	*	pH9	.7094	* * *

30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8399	* *	pH6	.8167	* *	pH6	.7224	*	pH6	.7180	*
pH7	.8414	* *	pH7	.8366	* *	pH7	.7226	*	pH7	.7216	*
pH8	.8018	* *	pH8	.8182	*	pH8	.7216	*	pH8	.7192	*
pH9	.8098	* *	pH9	.8309	*	pH9	.7081	* * *	pH9	.7090	* *

Cuadro 20.- Análisis de Varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL25, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	Organismos tratados con amonio					Organismos tratados sin amonio				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	.003781	3	.00126	123.4475	0	.000262	3	.000087	29.87014	0
28°	.008335	3	.002778	3.791009	0	8.0E-06	3	.3.0E-06	517718	.67
30°	.00815	3	.002717	8.502986	0	.000175	3	.000058	19.00231	.00
32°	.001812	3	.000604	8.846148	0	.000134	3	.000045	31.96717	.00

Prueba de Tukey, aplicada para la concentración total de amonio.

Organismos tratados con amonio						Organismos tratados sin amonio					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8492	*	pH6	.8679	* *	pH6	.7239	*	pH6	.7240	--
pH7	.8520	*	pH7	.8610	* *	pH7	.7223	*	pH7	.7256	--
pH8	.8264	* *	pH8	.8271	* *	pH8	.7222	*	pH8	.7253	--
pH9	.8155	* *	pH9	.8132	* * *	pH9	.7136	* * *	pH9	.7242	--

30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8696	*	pH6	.8275	*	pH6	.7250	*	pH6	.7226	* *
pH7	.8754	*	pH7	.8525	* * *	pH7	.7244	*	pH7	.7258	*
pH8	.8403	* *	pH8	.8299	*	pH8	.7253	*	pH8	.7260	*
pH9	.8197	* *	pH9	.8269	*	pH9	.7173	* * *	pH9	.7189	*

Cuadro 21.- Análisis de Varianza practicado a los datos de concentración de amonio residual para pL30, tratadas con y sin amonio.

Temperatura	Organismos tratados con amonio					Organismos tratados sin amonio				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F	P
26°	.000101	3	.000034	2.88072	.83	.00006	3	.00002	4.943555	.01
28°	.000112	3	.000037	2.05618	.15	.000035	3	.000012	13.89531	.00
30°	.002616	3	.000872	8.98797	.00	.000034	3	.000011	6.7841	.00
32°	.000204	3	.000068	2.38507	.12	7.0E-06	3	2.0E-06	1.766232	.20

Prueba de Tukey, aplicada para la concentración total de amonio.

Organismos tratados con amonio						Organismos tratados sin amonio					
26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa	26°	Medias	diferencia significativa	28°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8309	--	pH6	.8076	--	pH6	.7247		pH6	.7254	*
pH7	.8302	--	pH7	.8131	--	pH7	.7258	*	pH7	.7255	*
pH8	.8280	--	pH8	.8140	--	pH8	.7256	*	pH8	.7247	*
pH9	.8245	--	pH9	.8140	--	pH9	.7210	* *	pH9	.7219	* * *
30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa	30°	Medias	diferencia significativa	32°	Medias	diferencia significativa
pH6	.8320		pH6	.8208	--	pH6	.7247	*	pH6	.7242	--
pH7	.8495	* *	pH7	.8306	--	pH7	.7248	*	pH7	.7260	--
pH8	.8158	*	pH8	.8237	--	pH8	.7254	*	pH8	.7257	--
pH9	.8217	*	pH9	.8262	--	pH9	.7216	* * *	pH9	.7253	--

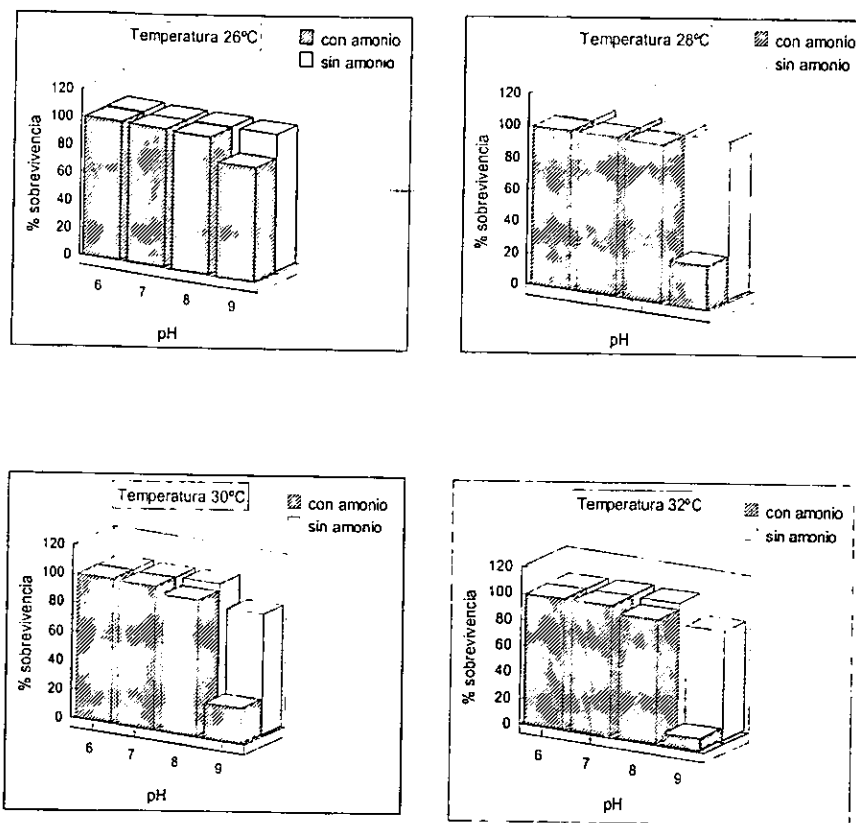


Figura 4.- Porcentaje de sobrevivencia de pL5, de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de temperatura y pH a una salinidad de 38‰.

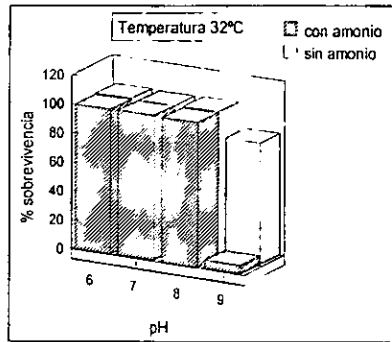
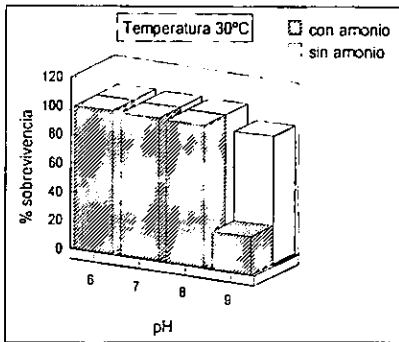
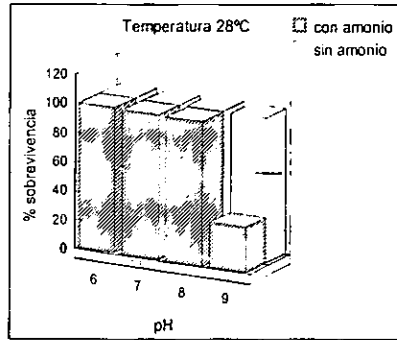
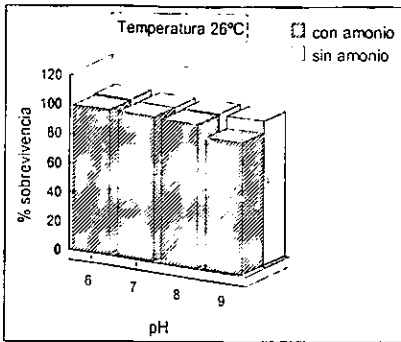


Figura 5.- Porcentaje de sobrevivencia de pL10, de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes niveles de temperatura y pH a una salinidad de 38‰.

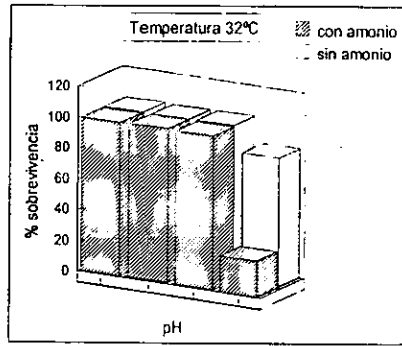
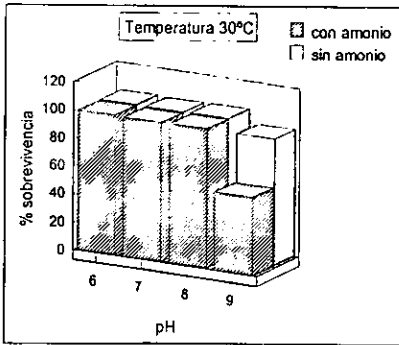
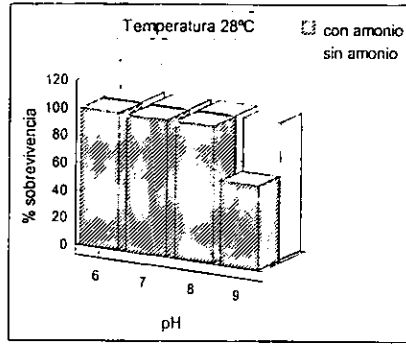
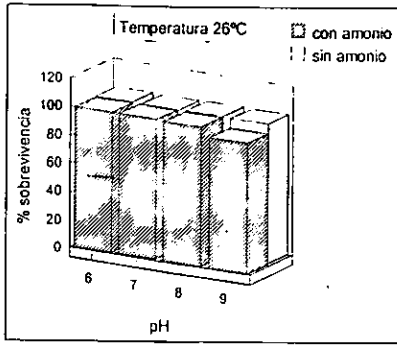


Figura 6.- Porcentaje de sobrevivencia de pL15, de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de temperatura y pH a una salinidad de 38‰.

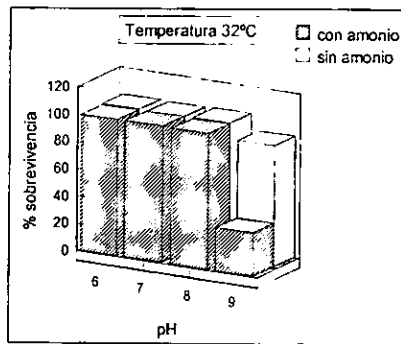
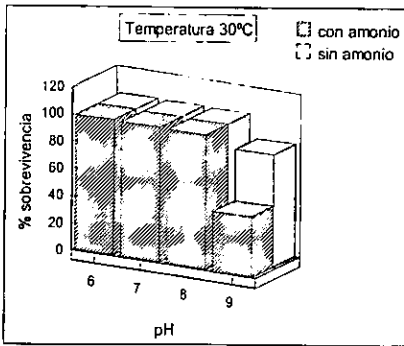
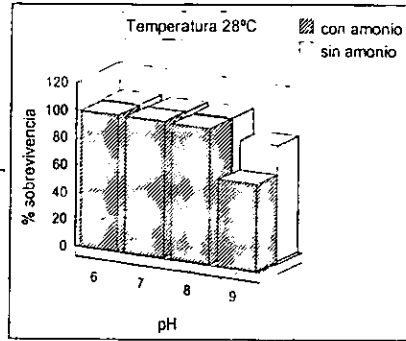
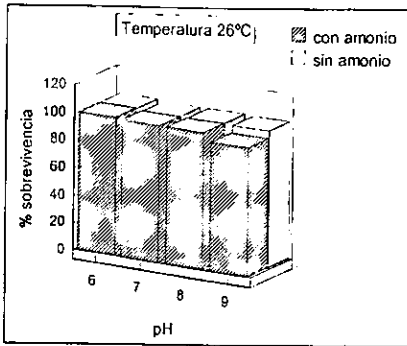


Figura 7.- Porcentaje de sobrevivencia de pL20, de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de temperatura y pH a una salinidad de 38‰.

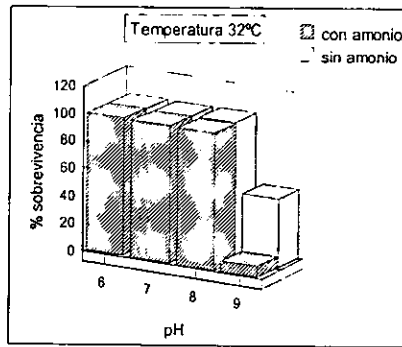
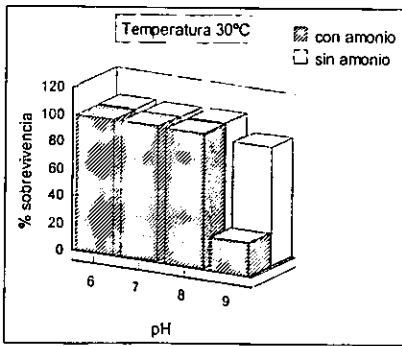
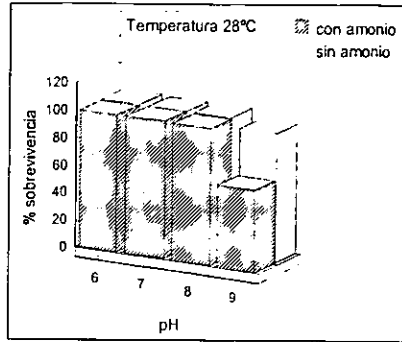
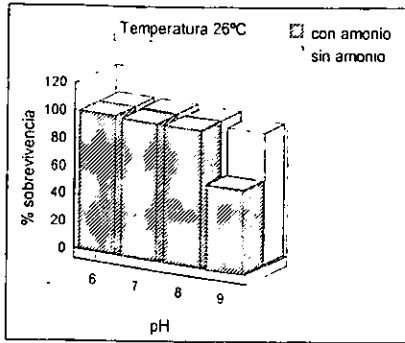


Figura 8.- Porcentaje de sobrevivencia de pL25, de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de temperatura y pH a una salinidad de 38‰.

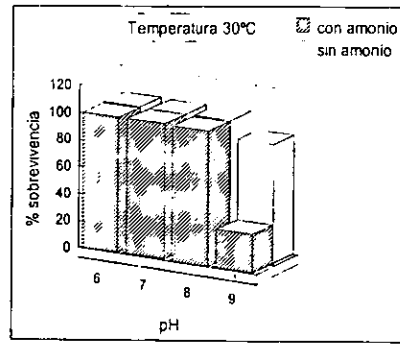
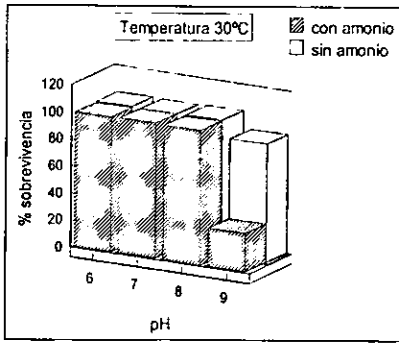
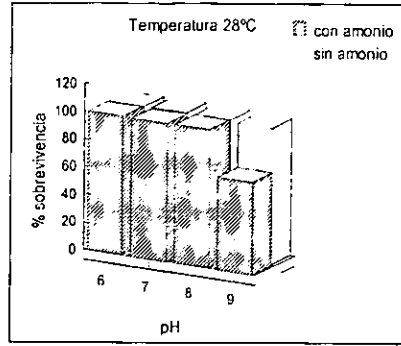
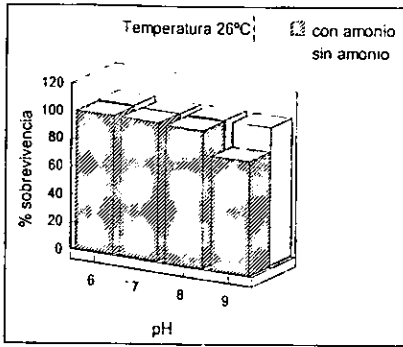


Figura 9.- Porcentaje de sobrevivencia de pL30, de *P. vannamei* tratadas con y sin amonio bajo diferentes valores de temperatura y pH a una salinidad de 38‰.

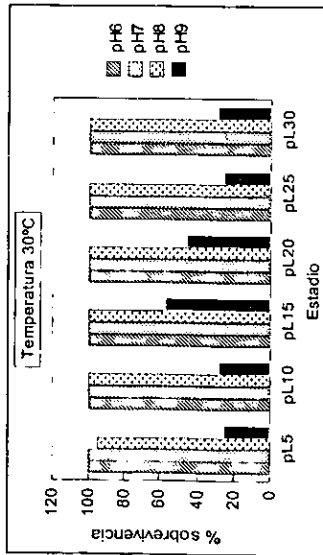
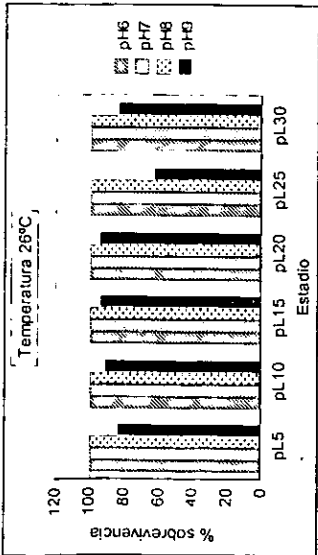
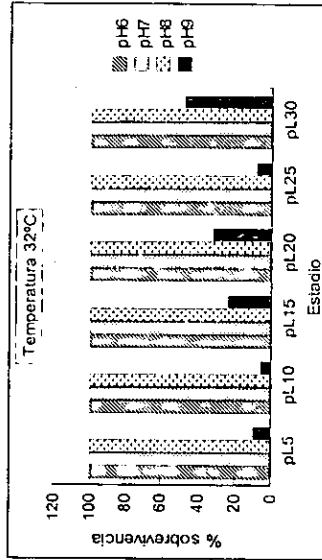
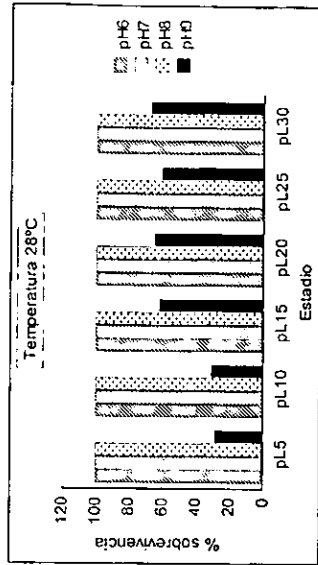


Figura 10.- Porcentaje de sobrevivencia de postlarvas de distinta edad de *P. vannamei* tratadas con amonio bajo distintos valores de temperatura y pH a una salinidad de 38‰.

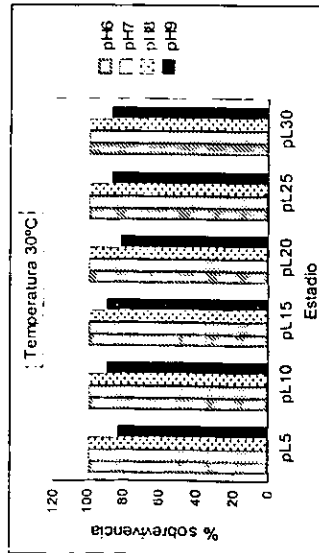
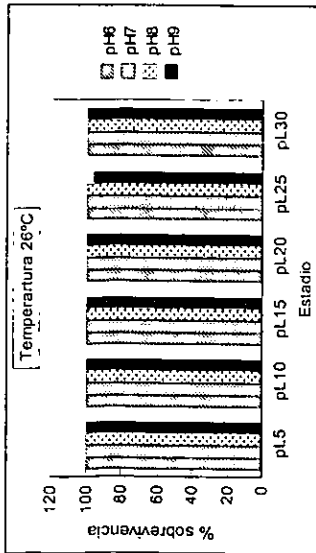
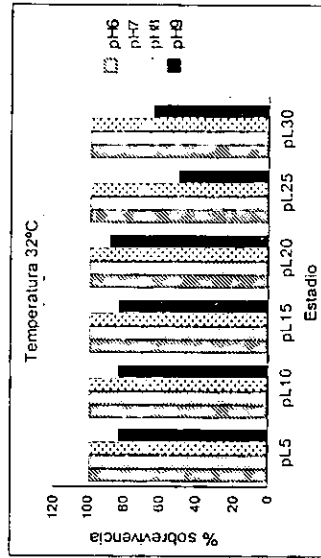
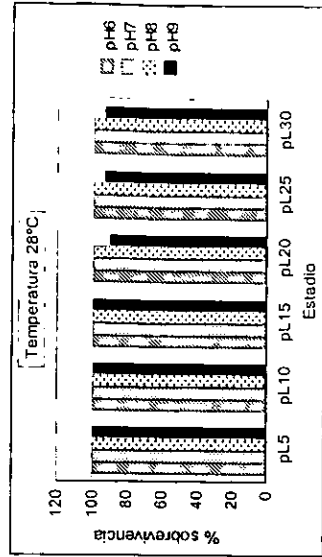


Figura 11.- Porcentaje de sobrevivencia de postlarvas de distinta edad de *P. vannamei* tratadas sin amonio bajo distintos valores de temperatura y pH a una salinidad de 38‰/oo.

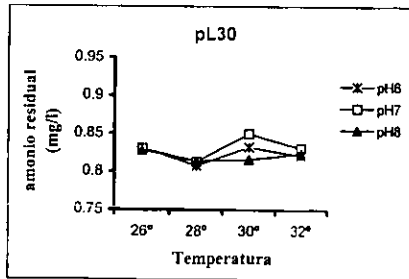
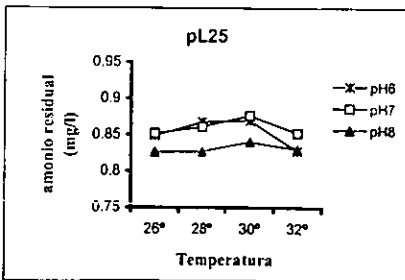
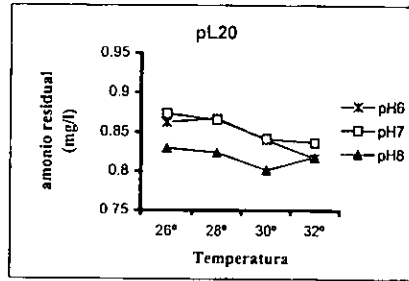
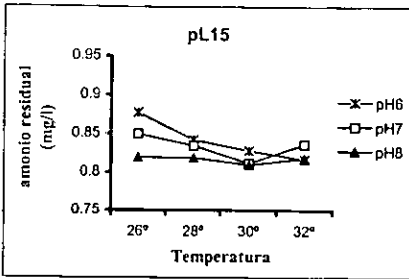
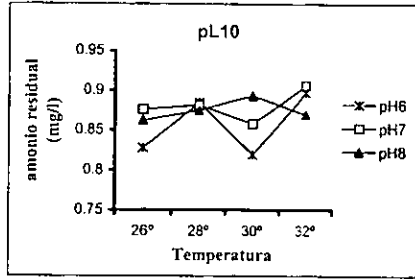
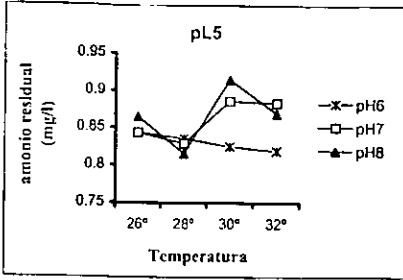


Figura 12.- Muestra la cantidad de amonio acumulada al final del experimento en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas con amonio, bajo diferentes valores de pH y temperatura.

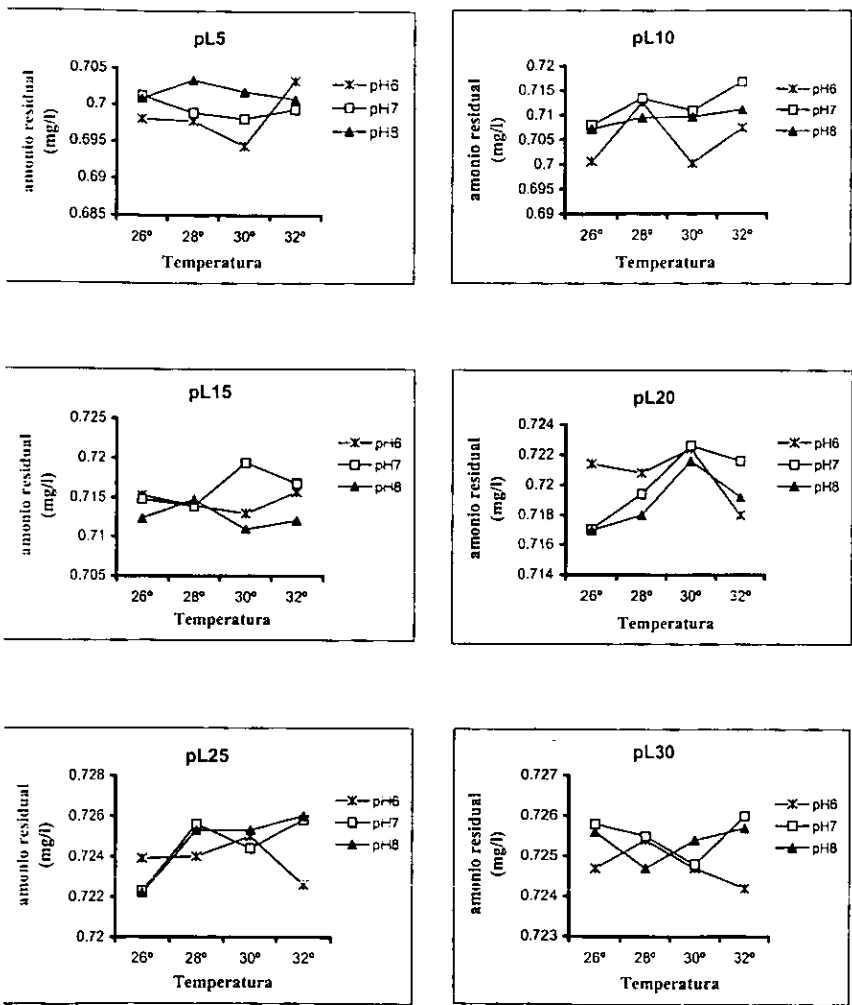


Figura 13.- Muestra la cantidad de amonio acumulada al final del experimento en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* tratadas sin amonio, bajo diferentes valores de pH y temperatura.

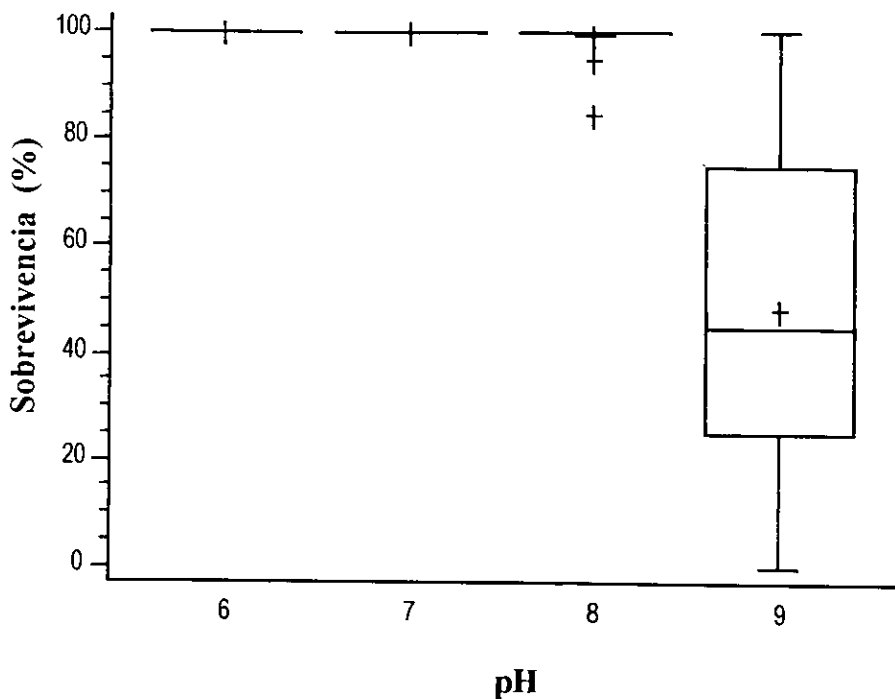


Figura 14.- Gráfica de cajas y bigotes de la sobrevivencia de postlarvas de todas las edades de *P. vannamei*, tratadas con 7 mg/l de amonio con diferentes valores de pH.

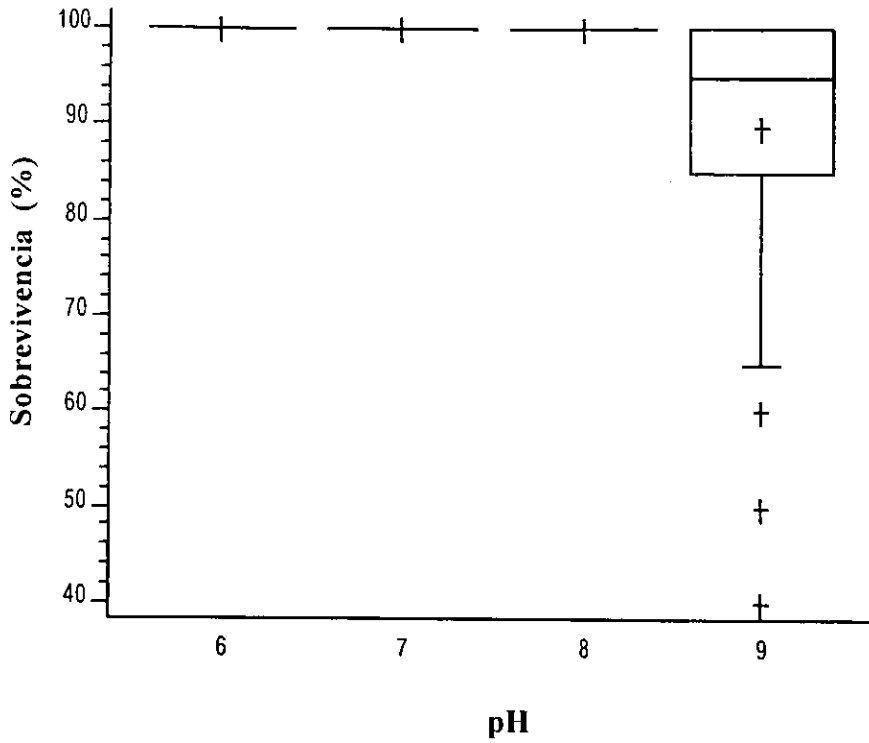


Figura 15.- Gráfica de cajas y bigotes de la sobrevivencia de postlarvas de todas las edades de *P. vannamei*, en el tratamiento testigo (sin amonio), con diferentes valores de pH.

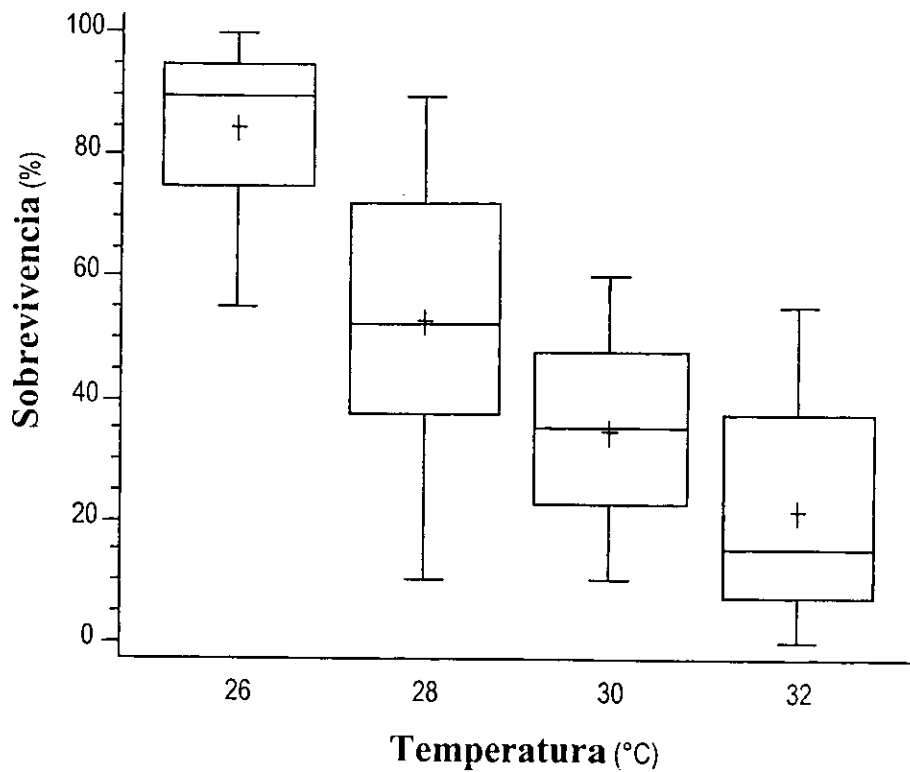


Figura 16.- Gráfica de la sobrevivencia de postlarvas de *P. vannamei* de todas las edades, sometidas a un pH de 9 y una concentración de 7mg/l de amonio, en las diferentes temperaturas tratadas.

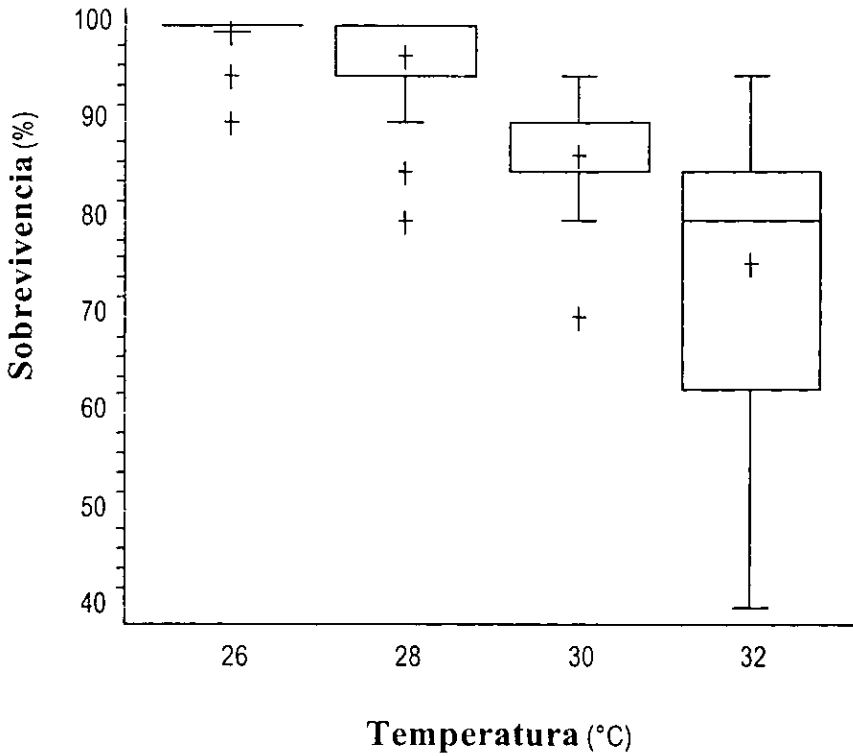


Figura 17.- Gráfica de cajas y bigotes de la sobrevivencia de postlarvas de *P. vannamei* de todas las edades en el grupo testigo (sin amonio sometidas a un pH de 9 y diferentes valores de temperatura).

**ESTA TESIS NO SALI
DE LA BIBLIOTECA**

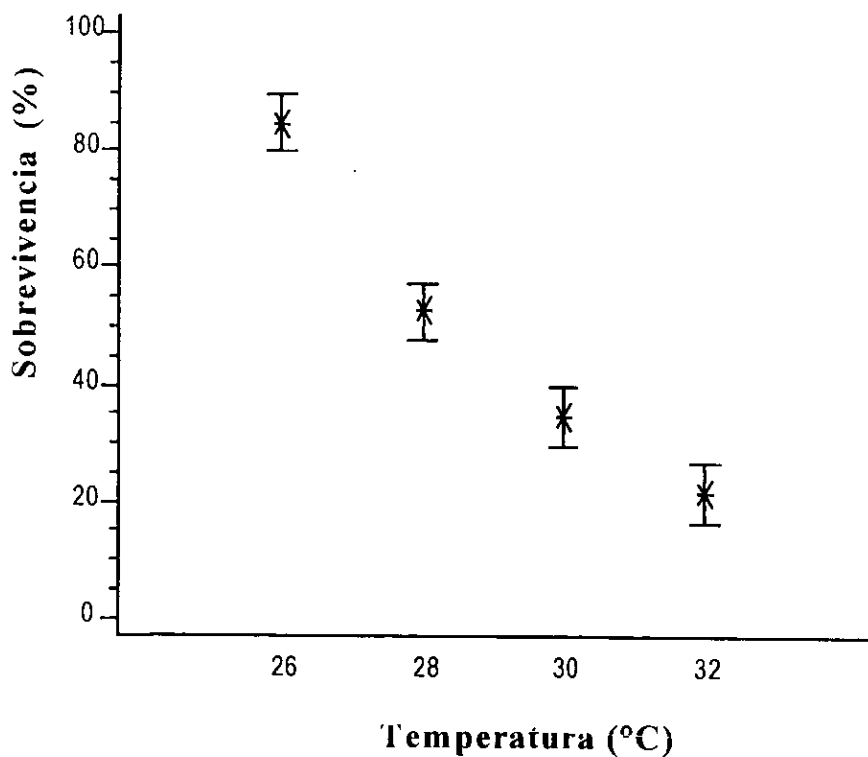


Figura 18.- Gráfica de las sobrevivencias medias y límites de confianza al 95% de postlarvas de *P. vannamei* sometidas a un pH de 9 y 7 mg/l de amonio en diferentes temperaturas.

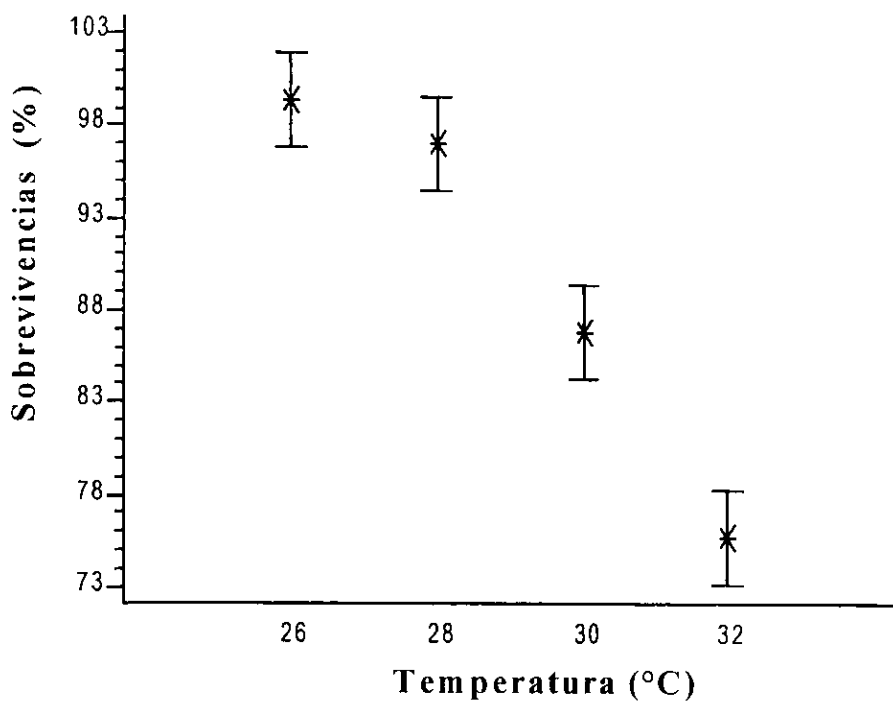


Figura 19.- Gráfica de las sobrevivencias medias y límites de confianza al 95% del grupo testigo de postlarvas de *P. vannamei* de todas las edades, sometidas a un pH de 9 con distintos valores de temperatura

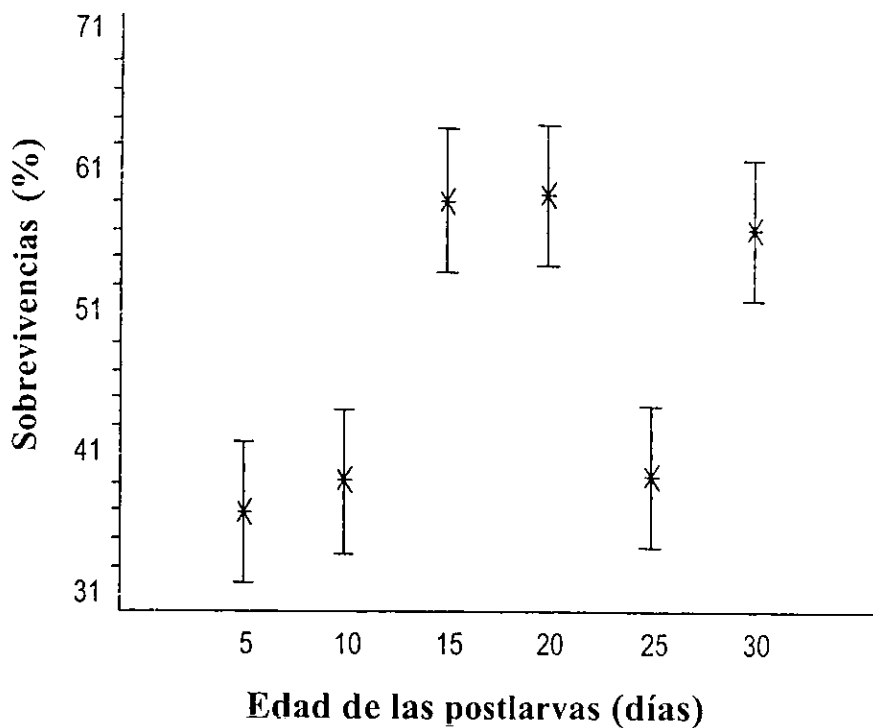


Figura 20.- Gráfica de sobrevivencias medias y límites de confianza al 95% para las distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* sometidas a 7 mg/l de amonio y un pH de 9.

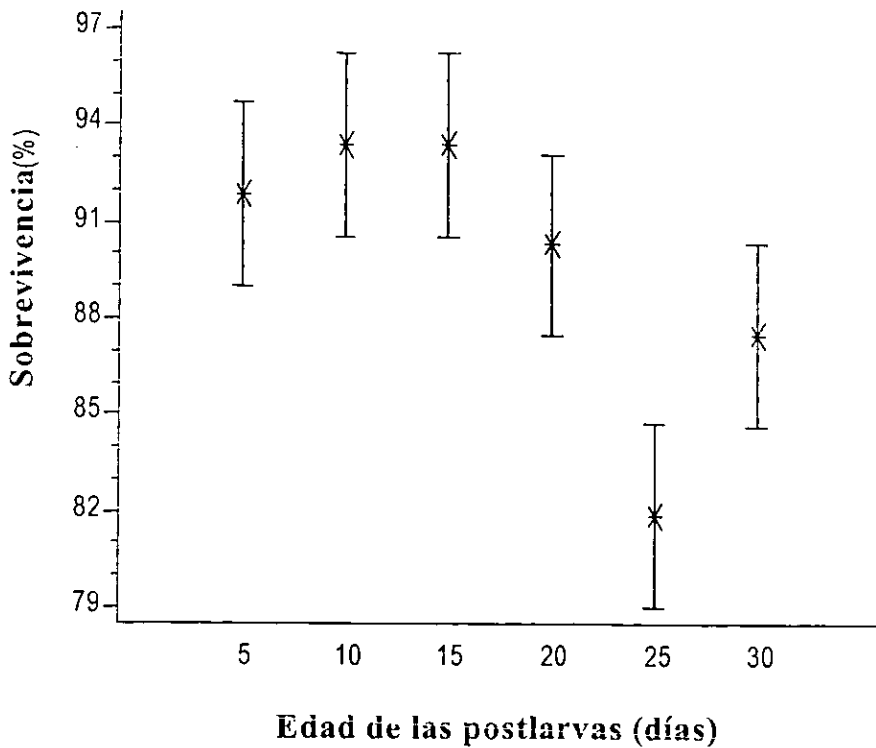


Figura 21.- Gráfica de sobrevivencias medias y límites de confianza al 95% para las distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* sometidas a un pH de 9 y libres de amonio.

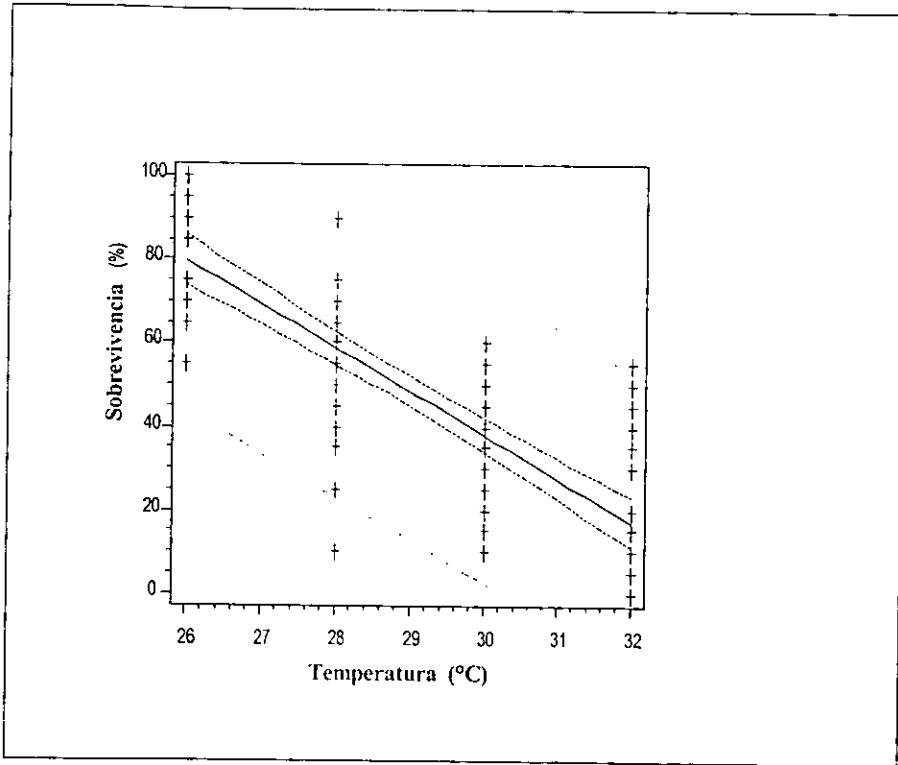


Figura 22.- Gráfica de la regresión lineal de la sobrevivencia de postlarvas de *P. vannamei* con respecto a la temperatura, sometidas a 7 mg l de amonio con pH de 9.

Ecuación: $S = 351 - 1.43T$ $r = -0.7970$

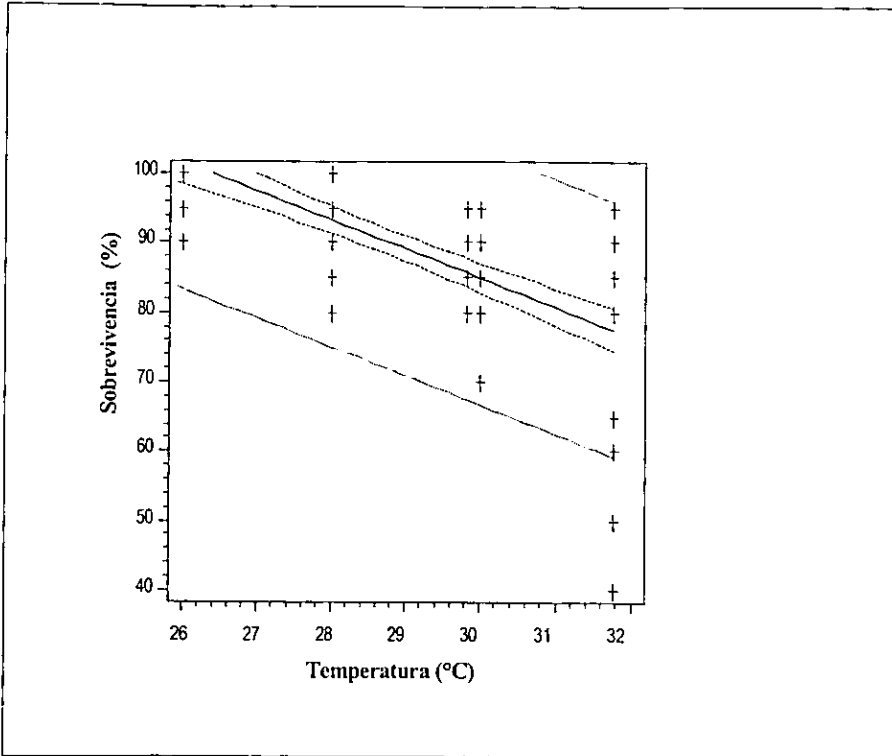


Figura 23.- Gráfica de la regresión lineal de la sobrevivencia de postlarvas de *P. vannamei* con respecto a la temperatura, sometidas a un pH de 9 y libres de la exposición al amonio.
Ecuación: $S = 207 - 4.07T$ $r = -0.7092$

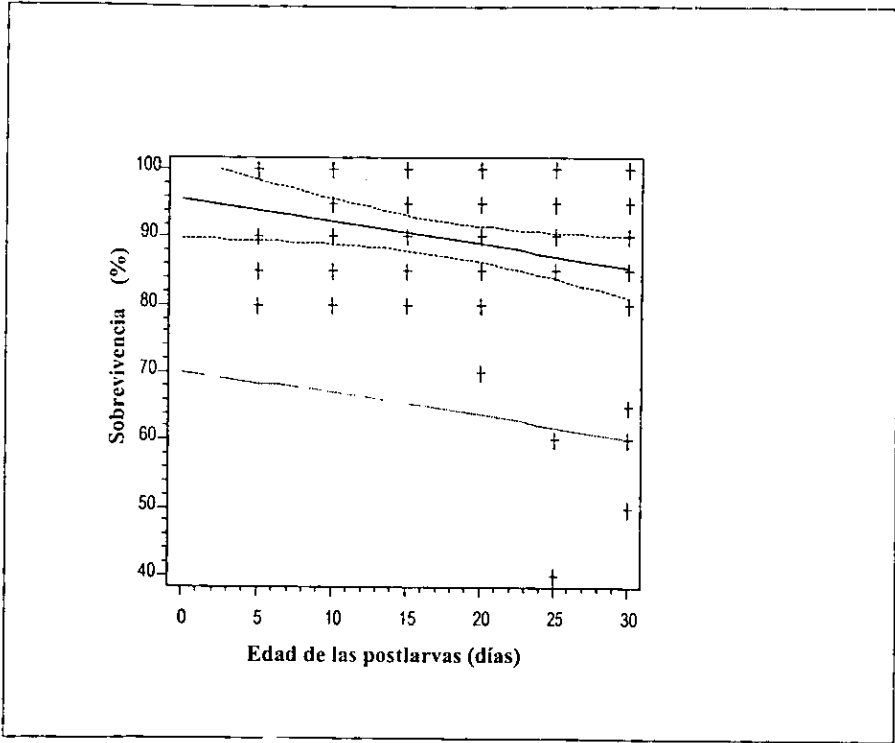


Figura 24.- Gráfica de la regresión lineal de la sobrevivencia de las distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* con respecto a la edad, sin la aplicación de amonio a un pH de 9.

Ecuación: $S = 95.7 - 0.3410 E$ $r = -0.2268$

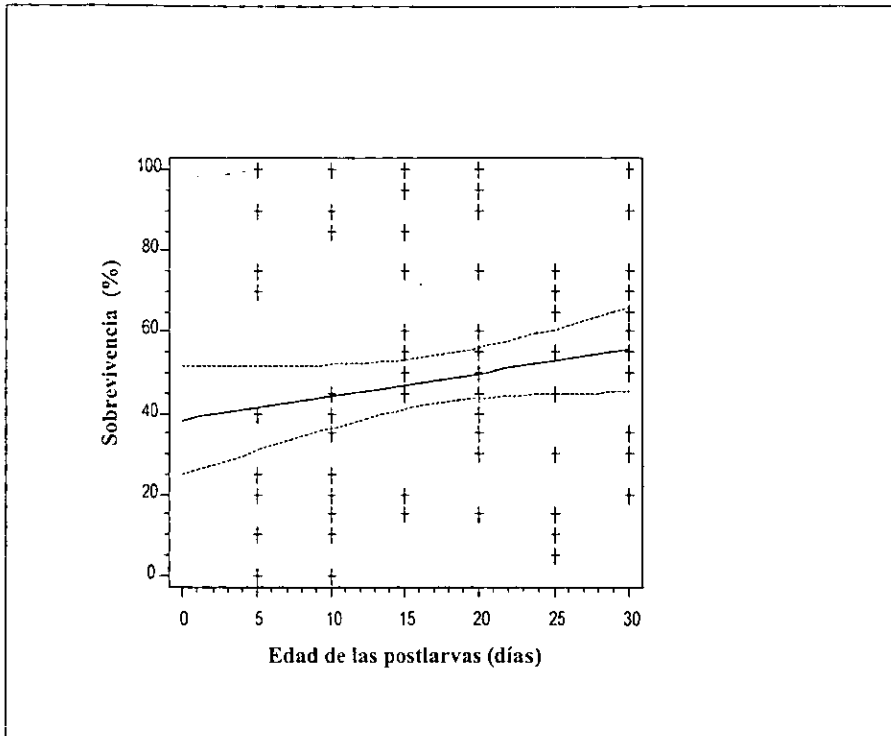


Figura 25.- Gráfica de la regresión lineal de la sobrevivencia de las distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* con respecto a la edad, sometidas a 7 mg/l de amonio con un pH de 9.
 Ecuación: $S = 38.31 + 0.5785 E$ $r = 0.1685$

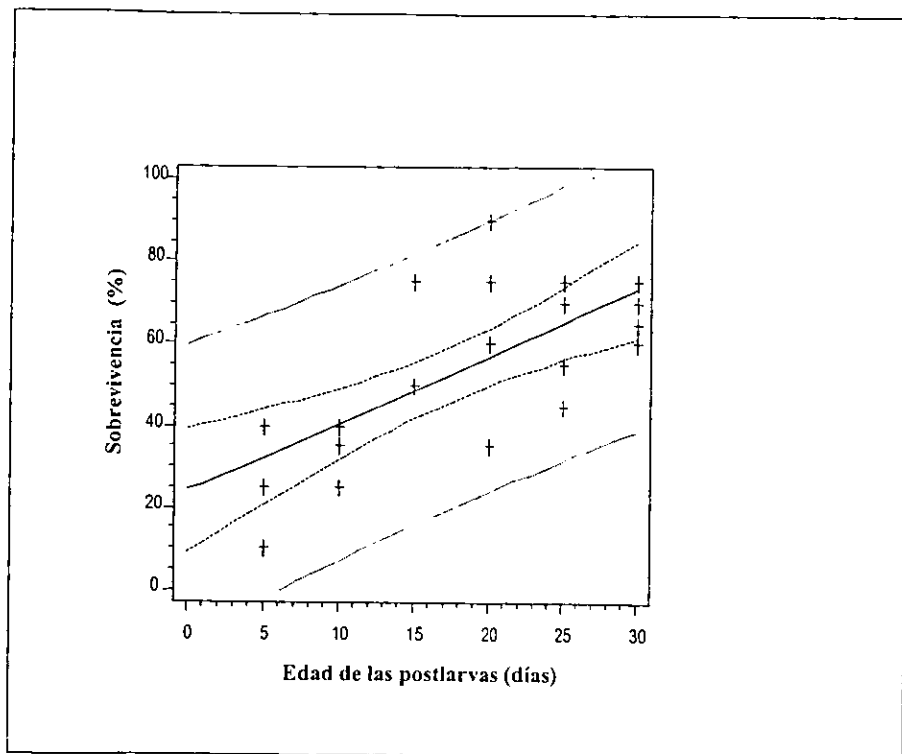


Figura 26.- Gráfica de la regresión lineal de la sobrevivencia de las distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* con respecto a la edad, sometidas a 7 mg/l de amonio con pH de 9 y temperatura de 28°C.
Ecuación: $S = 24.08 + 1.6357 E$ $r = 0.06825$

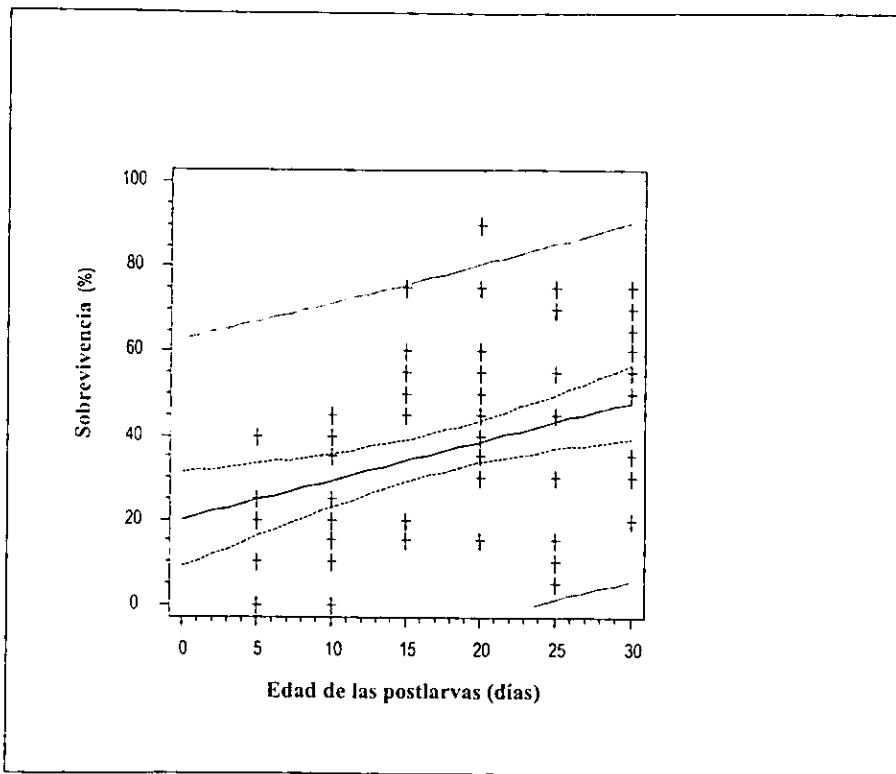


Figura 27.- Gráfica de la regresión lineal de la sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* con respecto a la edad, sometidas a 7 mg/l de amonio con un pH de 9 y temperatura superior a 28°C. Ecuación: $S = 19.91 + 0.9333 E$ $r = 0.3618$

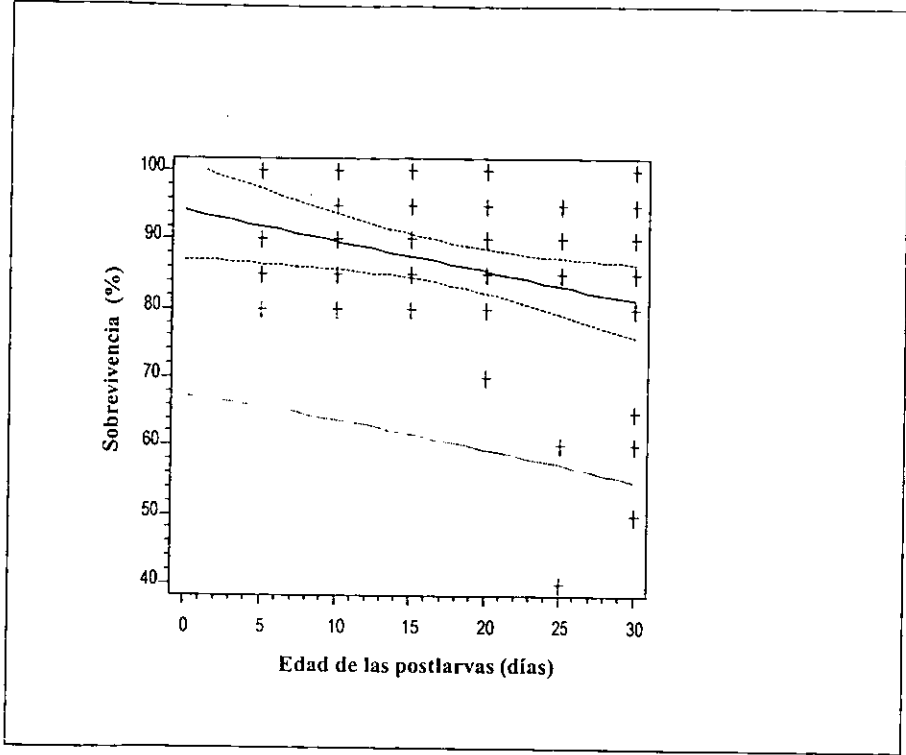


Figura 28.- Gráfica de la regresión lineal de la sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* con respecto a la edad, tratadas con un pH de 9 y libras de amonio en temperaturas superiores a 28°C. Ecuación: $S = 94.11 - 0.4333 E$ $r = -0.2782$

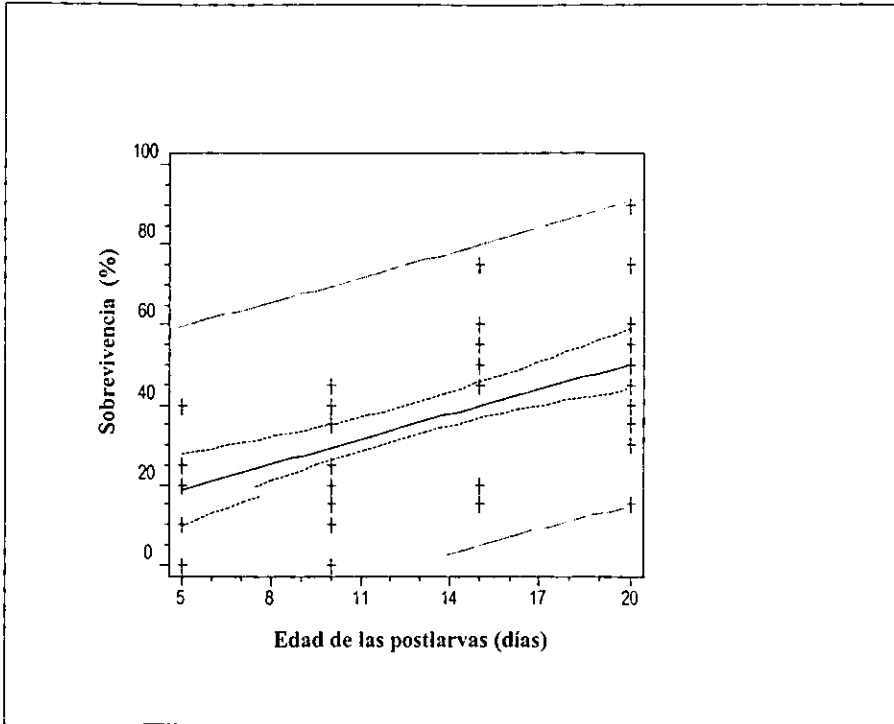


Figura 29.- Gráfica de la regresión lineal de la sobrevivencia en distintas edades de postlarvas de *P. vannamei* (hasta la postlarva 20) con respecto a la edad, expuestas a 7 mg/l de amonio y con temperatura superior a 28°C. Ecuación: $S = 8033 + 2.09 E$ $r = 0.5429$

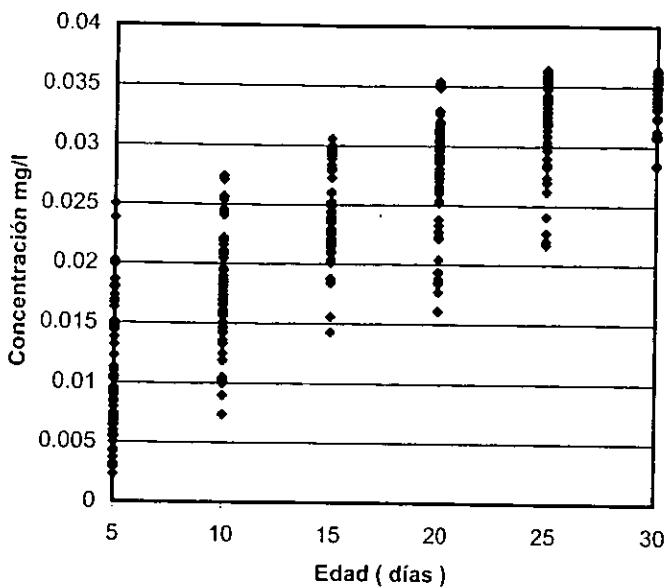


Figura 30.- Gráfica del efecto de la edad sobre la excreción de amonio en postlarvas de *P. vannamei* tratadas en un ambiente libre de amonio. (Las concentraciones que aparecen en la gráfica son el resultado de restar el valor real y la concentración mínima obtenida de amonio, para observar con mayor claridad la tendencia).

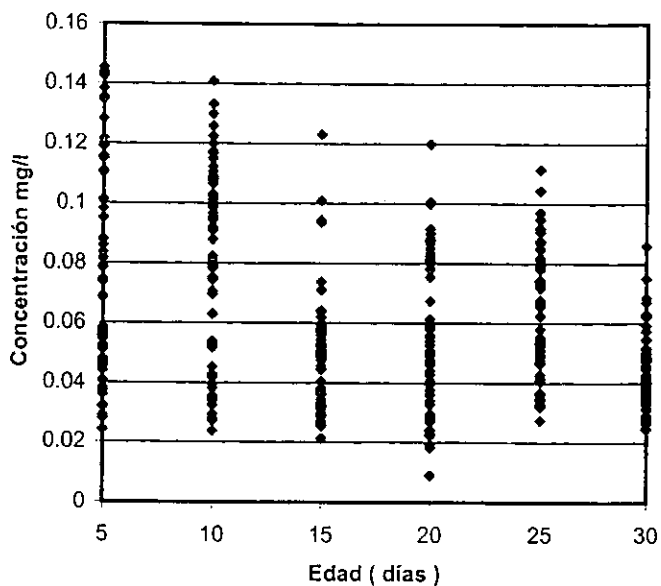


Figura 31.- Gráfica del efecto de la edad sobre la excreción de amonio en postlarvas de *P. vannamei* sometidas a 7mg/l de amonio. (Las concentraciones que aparecen en la gráfica son el resultado de restar el valor real y la concentración mínima obtenida de amonio, para observar con mayor claridad la tendencia).