



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

“Efecto de las condiciones de cultivo sobre la fisiología y el crecimiento de postlarvas y juveniles del camarón blanco del Golfo de México *Litopenaeus setiferus*.”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**Maestra en Ciencias**  
(Biología de Sistemas y Recursos Acuáticos)

P R E S E N T A

**Iveth Gabriela Palomino Albarrán**

Director de Tesis: Dr. Carlos Rosas Vázquez

Comité Tutorial:  
Dra. Gabriela Gaxiola Cortés  
Dra. Elva Escobar Briones  
Dr. Luis A. Soto González  
Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldia  
Dr. Xavier Chiappa Carrara  
Dr. F. Nuno Días Márquez Simoes

Sisal, Yucatán

2010



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Este trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Biología Marina Experimental de la Facultad de Ciencia, Sede Cd. del Carmen, Campeche. Bajo la dirección del Dr. Carlos Rosas Vázquez. En el marco del proyecto FIES 96-49-VI y con el apoyo de la beca otorgada por CONAC y T.

Se agradece en particular al personal técnico por su apoyo para la obtención de animales y su mantenimiento: Ing. Adriana del Carmen Paredes Medina, Ing. Tomás García, Biol. Manuel Valenzuela, M en C. Claudia Durruty.

*DEDICADA*

***A la memoria de Mario Albarrán Figueroa***

*A mi hija Camilla  
A mi mamá Beatríz A.*

## AGRADECIMIENTOS

A mi tutor Dr. Carlos Rosas Vázquez por brindarme la oportunidad de trabajar en su proyecto, por su total confianza y su amistad.

Al los miembros del comité tutorial:

Dra. Gabriela Gaxiola, Dr. Nuno Simoes, Dr. Xavier Chiappa Carrara, Dra. Elva Escobar Briones, Dra. Guillermina Alcaráz y Dr. Luis Soto por las aportaciones tan valiosas al mejoramiento del escrito.

Al personal técnico del Laboratorio de Biología Marina Experimental ahora UMDI Sisal: Ing. Adriana del Carmen Paredes Medina responsable del área de cría larval de camarón, al Ing. Tomás García responsable del área de maduración de camarón, M en C. Claudia Durruty Lagunes responsable del área de alimento vivo y al Biol. Manuel Valenzuela responsable del área de estanques.

A la Dra. Maite Mascaró, Dra. Cristina Pascual, Dr. Pedro Gallardo Espinosa, Dr. Roberto Brito por su apoyo académico en sus respectivas áreas, por estar siempre dispuestos a apoyarme.

A mi familia por su apoyo incondicional, su confianza y su cariño: mamá, hermanos y sobrinos

A Paty y Daniel por apoyarme incondicionalmente, espero, ja ja ja, por su cariño, paciencia, confianza y por darme siempre ánimos en todo momento, los quiero ;

Y a mis amigos por recibir su cariño, su apoyo, sus palabras de aliento, estar siempre conmigo en las buenas y en las malas y echarme porras: .Adriana, Cris, Maite, Nuno, Maru, Brito, Gaby, Ariadna, Paty B.y en especial a Pedro

A Willy aún siendo tan ajeno a esto, quisiera compartir este logro tan importante para mí.

Y a todas las personas que pudiera olvidar que por una u otra razón ayudaron a realizar este trabajo.

## Índice

<b>ÍNDICE</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	
<b>CAPÍTULO I</b> .....	
<b>“EFECTO COMBINADO DE LA DENSIDAD DE SIEMBRA Y RECAMBIO DE AGUA EN EL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE POSTLARVAS DE <i>LITOPENAEUS SETIFERUS</i>”</b> .....	
<b>RESUMEN</b> .....	
<b>ANTECEDENTES</b> .....	
<b>HIPÓTESIS</b> .....	
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b> .....	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	
ORIGEN DE LOS ANIMALES .....	
CRITERIOS PARA ESTABLECER LAS VARIABLES EXPERIMENTALES .....	
DISEÑO EXPERIMENTAL .....	
MONTAJE DEL EXPERIMENTO .....	
RUTINA DE MANTENIMIENTO .....	
ALIMENTACIÓN .....	
1.- EVALUACIÓN DE LA TASA DE CRECIMIENTO, LA SOBREVIVENCIA Y EL ÍNDICE DE RENDIMIENTO .....	
2.- EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS DEL AGUA .....	
<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS</b> .....	
<b>RESULTADOS</b> .....	
1. INDICADORES ZOOTÉCNICOS .....	
1.1. <i>Tasa de crecimiento</i> .....	
1.2. <i>Sobrevivencia</i> .....	

1.3. Índice de rendimiento .....	
2.- PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL AGUA .....	
2.1. Oxígeno disuelto, temperatura y pH.....	
2.2. Salinidad .....	
2.3. Amonio .....	
2.4. Nitrito .....	
<b>DISCUSIÓN.....</b>	
<b>CONCLUSIONES .....</b>	
<b>CAPÍTULO II .....</b>	
<b>“EFECTO DE LA SALINIDAD EN COMBINACIÓN CON NIVELES ALTOS Y BAJOS DE AMONIO - NITRITO EN EL METABOLISMO ENERGÉTICO, EN LA OSMORREGULACIÓN Y EN EL MANEJO DE RESERVAS EN POSTLARVAS Y JUVENILES DE <i>LITOPENAEUS SETIFERUS</i>”</b>	
<b>RESUMEN .....</b>	
<b>ANTECEDENTES.....</b>	
<b>HIPÓTESIS.....</b>	
<b>OBJETIVOS PARTICULARES.....</b>	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	
ORIGEN DE LOS ANIMALES .....	
CRITERIOS PARA ESTABLECER LAS VARIABLES EXPERIMENTALES	
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	
MONTAJE DEL EXPERIMENTO .....	
ALIMENTACIÓN.....	
EVALUACIÓN DE ÍNDICES FISIOLÓGICOS .....	
1.- EXPERIMENTO CON POSTLARVAS.....	
1. 1. Consumo de oxígeno en postlarvas.....	
1. 2. Excreción nitrogenada en postlarvas.....	
1. 3. Razón O:N en postlarvas.....	
1. 4. Glucógeno en la glándula digestiva en postlarvas ....	
2.- EXPERIMENTO CON JUVENILES.....	
2. 1. Consumo de oxígeno en juveniles .....	
2. 2. Excreción nitrogenada en juveniles.....	

- 2. 3. Razón O:N en juveniles.....
- 2. 4. Glucógeno en la glándula digestiva en juveniles .....
- 2. 5. Osmolaridad de la hemolinfa ( $mOsmol\ kg^{-1}$ ) en juveniles

**ANÁLISIS DE RESULTADOS.....**

**RESULTADOS.....**

- 1.- EXPERIMENTO CON POSTLARVAS.....
  - 1. 1. Consumo de oxígeno en postlarvas.....
  - 1. 2. Excreción nitrogenada en postlarvas.....
  - 1. 3. Razón O:N en postlarvas.....
  - 1. 4. Glucógeno en hepatopáncreas en postlarvas
- 2.- EXPERIMENTO CON JUVENILES.....
  - 2. 1. Consumo de oxígeno en juveniles .....
  - 2. 2. Excreción nitrogenada en juveniles .....
  - 2. 3. Razón O:N en juveniles.....
  - 2. 4. Glucógeno en juveniles.....
  - 2. 5. Capacidad osmótica en juveniles .....

**DISCUSIÓN.....**

**CONCLUSION .....**

**LITERATURA CITADA .....**



# Índice

## ÍNDICE

### INTRODUCCIÓN GENERAL

### OBJETIVO GENERAL

### CAPÍTULO I

### “EFECTO COMBINADO DE LA DENSIDAD DE SIEMBRA Y RECAMBIO DE AGUA EN EL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE POSTLARVAS DE *LITOPENAEUS SETIFERUS*”

### RESUMEN

### ANTECEDENTES

### HIPÓTESIS

### OBJETIVOS PARTICULARES

### MATERIALES Y MÉTODOS

ORIGEN DE LOS ANIMALES

CRITERIOS PARA ESTABLECER LAS VARIABLES EXPERIMENTALES

DISEÑO EXPERIMENTAL

MONTAJE DEL EXPERIMENTO

RUTINA DE MANTENIMIENTO

ALIMENTACIÓN

1.- EVALUACIÓN DE LA TASA DE CRECIMIENTO, LA SOBREVIVENCIA Y EL ÍNDICE DE RENDIMIENTO

2.- EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL AGUA

### ANÁLISIS DE RESULTADOS

### RESULTADOS

1. INDICADORES ZOOTÉCNICOS

1.1. *Tasa de crecimiento*

1.2. *Sobrevivencia*

1.3. *Índice de rendimiento*

2.- PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL AGUA

2.1. *Oxígeno disuelto, temperatura y pH*

2.2. *Salinidad*

2.3. *Amonio*

2.4. *Nitrito*

## **DISCUSIÓN**

## **CONCLUSIONES**

## **CAPÍTULO II**

**“EFECTO DE LA SALINIDAD EN COMBINACIÓN CON NIVELES ALTOS Y BAJOS DE AMONIO - NITRITO EN EL METABOLISMO ENERGÉTICO, EN LA OSMORREGULACIÓN Y EN EL MANEJO DE RESERVAS EN POSTLARVAS Y JUVENILES DE *LITOPENAEUS SETIFERUS*”**

## **RESUMEN**

## **ANTECEDENTES**

## **HIPÓTESIS**

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

ORIGEN DE LOS ANIMALES

CRITERIOS PARA ESTABLECER LAS VARIABLES EXPERIMENTALES

DISEÑO EXPERIMENTAL

MONTAJE DEL EXPERIMENTO

ALIMENTACIÓN

EVALUACIÓN DE ÍNDICES FISIOLÓGICOS

1.- EXPERIMENTO CON POSTLARVAS

1. 1. *Consumo de oxígeno en postlarvas*

1. 2. *Excreción nitrogenada en postlarvas*

1. 3. *Razón O:N en postlarvas*

1. 4. *Glucógeno en la glándula digestiva en postlarvas*

2.- EXPERIMENTO CON JUVENILES

2. 1. *Consumo de oxígeno en juveniles*

2. 2. *Excreción nitrogenada en juveniles*

2. 3. *Razón O:N en juveniles*

2. 4. *Glucógeno en la glándula digestiva en juveniles*

2. 5. *Osmolaridad de la hemolinfa ( $mOsmol\ kg^{-1}$ ) en juveniles*

## **ANÁLISIS DE RESULTADOS**

## **RESULTADOS**

1.- EXPERIMENTO CON POSTLARVAS

1. 1. *Consumo de oxígeno en postlarvas*
1. 2. *Excreción nitrogenada en postlarvas*
1. 3. *Razón O:N en postlarvas*
1. 4. *Glucógeno en hepatopáncreas en postlarvas*
- 2.- EXPERIMENTO CON JUVENILES
  2. 1. *Consumo de oxígeno en juveniles*
  2. 2. *Excreción nitrogenada en juveniles*
  2. 3. *Razón O:N en juveniles*
  2. 4. *Glucógeno en juveniles*
  2. 5. *Capacidad osmótica en juveniles*

## **DISCUSIÓN**

## **CONCLUSION**

## **LITERATURA CITADA**

Palabras clave: camarón, *Litopenaeus setiferus*, densidad de siembra, recambio de agua, crecimiento, sobrevivencia, índices fisiológicos, salinidad, niveles amonio - nitrito.



## INTRODUCCIÓN GENERAL

La acuicultura representa un importante sector de la producción alimentaria mundial y constituye una importante fuente de proteínas, empleo e ingresos, siendo la base del sustento de una gran parte de la población mundial. En concreto, el camarón es un producto de alto valor, que se produce principalmente en Asia y América Latina, fundamentalmente para su exportación, generando riqueza en muchos de los países en vías de desarrollo de estas regiones (FAO, 2004).

Desde la década de los noventa hasta la fecha, han surgido considerables problemas en el cultivo del camarón, en particular en América Latina, donde *Litopenaeus vannamei* es la principal especie cultivada. Estos problemas están asociados principalmente con enfermedades virales y bacterianas, enfermedades que se han diseminado por todo el continente americano, afectando incluso a especies del Golfo de México (FAO, 2004), enfermedades que afectan el crecimiento y la sobrevivencia, causando un estancamiento en la producción haciendo difícil conseguir larvas libres de patógenos.

Este referente, hace la necesidad de tener un gran interés por el camarón blanco del Golfo de México, *Litopenaeus setiferus*, ya que podría ser una especie alternativa para la acuicultura en la costa Atlántica de las Américas si el suministro de postlarvas de *L. vannamei* se encarece o se infecta por IHHN (Sandifer *et al.*, 1990; Williams *et al.*, 1996), ofreciendo las siguientes ventajas a los cultivadores: Es una especie nativa; no es un huésped natural para el virus del IHHN, por lo que se desarrollaría un stock libre de IHHNV; las crías están disponibles en el campo, por lo tanto no dependería de la importación y permisos; el escape accidental no representaría una amenaza ecológica para el Golfo de México y sur del océano Atlántico.

Existen evidencias experimentales que han demostrado que *Litopenaeus setiferus* es una especie con gran potencial para la acuicultura con un crecimiento aproximado al de *Litopenaeus vannamei* (Robertson *et al.* 1993) e incluso se considera una especie manejable para un sistema de cultivo intensivo, ya que se ha

cultivado con éxito a una densidad de 40 ind m<sup>-2</sup> con una sobrevivencia del 97.5 % produciendo 5,258 Kg ha<sup>-1</sup> con un peso promedio de 13.5g (Sandifer *et al.* 1990; Browdy *et al.*, 1991)

La única desventaja que presenta el camarón blanco del Golfo *L. setiferus* es que su crecimiento comercial es significativamente más lento que el de *L. vannamei* (Browdy *et al.*, 1991).

El éxito de la producción intensiva de camarón juvenil se limita principalmente a *Litopenaeus vannamei*, especie preferida para los cultivadores en la costa Atlántica de las Américas, por tener un potencial de producción superior en cultivos semi-intensivo e intensivos en estanques con un rápido crecimiento y una elevada supervivencia lograda en densidades de hasta 4,514 camarones m<sup>-3</sup> (Samocha *et al.*, 1993b; Samocha, 2001).

La producción intensiva de camarón juvenil en todo el mundo está ganando cada vez más atención como un medio potencial para mejorar la producción de la acuicultura mediante la aplicación de un sistema de guarderías de transición (es decir, entre la sala de incubación y los estanques de engorde), esperando por ejemplo, un aumento en la supervivencia de camarones en el estanque, una reducción en el tiempo de salida al estanque, aumentando el número de cosechas al año y la mejora de la eficiencia de conversión alimenticia (Sandifer *et al.*, 1988; Samocha *et al.*, 1993a, b; Peterson y Griffith, 1999).

Además, la producción intensiva de camarón juvenil podría apoyar y mejorar la demanda comercial de la pesquería natural y mitigar los problemas asociados con el rendimiento de la pesca variable debido a las fluctuaciones estacionales en el reclutamiento de larvas (Loneragan *et al.*, 1998; Rothlisberg *et al.*, 1999).

El éxito en el manejo de camarones peneidos en cautiverio, con vistas a lograr el cultivo integral, consiste en el conocimiento de cada uno de los aspectos relacionados a su fisiología y requerimientos nutricionales, así como los factores ambientales que pueden alterarla. Entre los factores que determinan el éxito de la camaronicultura están la densidad de siembra y la calidad ambiental asociada con un recambio de agua óptimo, los cuales impactan directamente en el crecimiento y

la sobrevivencia, ambos, producto de los mecanismos fisiológicos que permiten a los organismos vivir en una amplia diversidad de ambientes.

## **OBJETIVO GENERAL**

El presente estudio fue diseñado con el objetivo de generar información que permita por un lado establecer los efectos de la densidad de siembra y el recambio de agua sin las interferencias propias de otros factores que normalmente se presentan en condiciones de cultivo, y por el otro, describir o establecer la forma en que los camarones despliegan las respuestas fisiológicas que les permiten mantener la homeostasis en condiciones que no siempre están dentro del intervalo de tolerancia para la especie.

En el primer caso, el aislamiento de las variables recambio de agua y densidad de siembra en condiciones de laboratorio, permitirá establecer con más precisión la forma en que éstas actúan sobre los animales y así, dejar a los usuarios una guía general de las posibles respuestas que pueden los organismos desplegar ante una condición particular de cultivo.

En este contexto, la segunda parte del estudio pretende ofrecer información que amplíe los conocimientos de la biología de los camarones y al mismo tiempo permita que al entender los mecanismos fisiológicos compensatorios asociados a un ambiente en particular, se puedan establecer líneas de investigación y/o condiciones de producción en las que se favorezcan las capacidades adaptativas de estos organismos.

Para responder a este objetivo el presente estudio se dividió en dos capítulos:

### Capítulo I

“Efecto combinado de la densidad de siembra y recambio de agua en el crecimiento y sobrevivencia de postlarvas de *Litopenaeus setiferus*.”

### Capítulo II

“Efecto de la salinidad y niveles altos y bajos de una combinación de amonio y nitrito en el metabolismo energético, en la osmorregulación y en el manejo de reservas en juveniles de *Litopenaeus setiferus*.”

# Capítulo I

## “Efecto combinado de la densidad de siembra y recambio de agua en el crecimiento y sobrevivencia de postlarvas de *Litopenaeus setiferus*”

### RESUMEN

Se realizó un experimento con postlarvas de *Litopenaeus setiferus* con nueve días después de la última muda metamórfica (PL 9), con una duración de 28 días en tanques de 5L, en el cual se determinó el efecto combinado de las densidades de siembra (50, 150, 250 y 350 ind m<sup>-2</sup>) y la tasa de recambio de agua por día (0, 6, 12 y 18 % d<sup>-1</sup>) sobre el crecimiento, la sobrevivencia y el índice de rendimiento. Se observó que el recambio de agua, así como la combinación de éste con la densidad de siembra tuvieron un efecto significativo sobre el crecimiento ( $p < 0.05$ ) no teniendo efecto por sí sola la densidad de siembra. Los mejores crecimientos (0.556, 0.531, 0.469 y 0.377 mg d<sup>-1</sup> ph) se obtuvieron con una tasa de recambio de agua del 12% d<sup>-1</sup> con las diferentes densidades de siembra (50, 150, 250 y 350 ind m<sup>-2</sup>) respectivamente, observándose una disminución en el crecimiento conforme se incrementa la densidad. La sobrevivencia tuvo valores variables con las más altas a densidades de 50 y 150 ind m<sup>-2</sup> con los diferentes recambios de agua en un intervalo de 74.95 - 100 %. Se observó un importante incremento en la sobrevivencia, conforme aumentaba el recambio de agua para las diferentes densidades de siembra ( $p < 0.05$ ).

Asimismo se detectó que el amonio, el nitrito y la salinidad fueron los factores que se modificaron a consecuencia de la tasa de recambio de agua y la densidad de siembra. Se registraron valores de amonio (0.04 a 3.10 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> L<sup>-1</sup>), de nitrito (0.04 a 6.19 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>) y de salinidad de 38 a 93 ups, asociados con los valores más altos cuando no hubo recambio 0% d<sup>-1</sup> y los valores más bajos a un recambio de agua del 18% d<sup>-1</sup> para las diferentes densidades de siembra. Se concluyó que *L. setiferus* puede ser cultivado en altas densidades, considerando las necesidades propias del cultivador.

## ANTECEDENTES

Dada la problemática económica actual mundial de la pesquería natural, surge la necesidad de hacer más eficientes los sistemas de cultivo de camarón mediante la intensificación de los cultivos

Las investigaciones sobre la intensificación de los cultivos (densidad de siembra) y la tasa de recambio de agua por día, factores que inciden en la producción final del cultivo de estos organismos (Hopkins *et al*, 1993), están enfocadas principalmente para determinar el desarrollo de un cultivo con una determinada especie que resulte potencialmente comercial.

### Tasa de recambio de agua

El cultivo de los camarones marinos (familia Penaeidae) se practica en varias partes del mundo. A menudo la tecnología de cultivo varía entre y dentro de las regiones geográficas. Sin embargo, todos los métodos de cultivo de camarón exigen una cierta cantidad de recambio de agua. Los procedimientos del recambio de agua están basados en observaciones del trabajador, más que en una evaluación sistemática de los parámetros de la calidad del agua que los organismos pueden necesitar. Sin embargo, en la mayoría de los lugares, las investigaciones sistemáticas para la determinación de la tasa de recambio de agua en sistemas de producción son escasas (Hopkins *et al.*, 1996).

La tecnología utilizada en los estanques de cultivo de camarón ha sido categorizada como extensiva, semi-intensiva e intensiva (Clifford 1985). En un cultivo extensivo, el recambio de agua está pensado para introducir al estanque presas adicionales que sirvan para la alimentación de los camarones (Allan y Maguire 1993) y/o reclutar postlarvas o juveniles silvestres (Whetstone *et al.*, 1988). En los sistemas semi-intensivos el recambio de agua puede servir para mitigar los efectos de la eutrofización resultado de la adición excesiva de alimento suplementario; de esta forma se pueden suministrar altas cantidades de alimento al sistema sin utilizar aireación complementaria (Brune y Drapcho 1991). En un encierro intensivo en estanques, el recambio de agua es necesario para prevenir la acumulación de metabolitos tóxicos (Chamberlain 1987). Otro propósito del recambio de agua en sistemas de cultivo de camarones es el de

reemplazar las pérdidas por evaporación o evitar la disminución de oxígeno disuelto en el agua.

La tasa de recambio de agua de los sistemas de cultivo, generalmente se incrementa al acercarse la época de cosecha, y en algunos casos, incrementa con los niveles de intensificación del sistema.

Se han reportado tasas de recambio de agua para varias especies de camarones con valores desde el 5 hasta 30 %  $d^{-1}$  del volumen del estanque entre el tiempo de siembra y la cosecha, con intervalos de densidades de siembra de 5 a 200 ind  $m^{-2}$  (Aquacop, 1984). También se han reportado tasas de recambio promedio para sistemas extensivos, semi-intensivos e intensivos del 1 al 5 %, del 5 al 15 % y del 25 al 30 % por día respectivamente (Clifford, 1985) y tasas de recambio de agua promedio para sistemas semi-intensivos, intensivos y super-intensivos del 12.6%, 18.5% y 20.6 % por día respectivamente (Kongkeo, 1990).

Se ha reportado también que el recambio de agua se puede reducir a niveles bajos  $\leq 4\% d^{-1}$  e inclusive eliminar completamente sin afectar negativamente la producción de camarón, siempre y cuando se mantengan los niveles de oxígeno disuelto (Sandifer *et al.*, 1991).

Aunque el recambio de agua mejora la calidad de agua, también un incremento de éste puede producir efectos contrarios. Se ha reportado que cuando se utilizan recambios de agua muy elevado, se remueve junto con el amonio y los desechos el fitoplancton y las bacterias asociadas al detritus, los cuales suelen ser parte del primer paso en el procesamiento del amonio presente en la columna de agua. Así, aunque el amonio en la columna de agua puede ser removido de manera efectiva por un rápido intercambio de agua, este mismo proceso reduce la capacidad del estanque de procesar el amonio disuelto a través de la interacción con las partículas suspendidas, las bacterias y el fitoplancton (Hopkins *et al.*, 1996).

#### Intensificación de sistemas de cultivo de camarón

La intensificación de los cultivos, se ha sugerido como un primer recurso para mejorar la situación económica de los sistemas de cultivo (Wyban y Sweeney, 1989).

La intensificación de un sistema de producción en estanques es ejemplificado por los trabajos de Sandifer *et al.*, (1987a, 1987b, 1988, 1993), en donde concluyeron que la densidad de siembra y el recambio de agua no tienen un efecto significativo en el crecimiento y sobrevivencia de *L. vannamei* y *L. setiferus*, pero que la producción de cosecha incrementa directamente con la intensificación, asumiendo una buena aireación, un recambio de agua baja y un buen manejo de las condiciones del estanque.

En otros estudios de prácticas de manejo de estanques comerciales de camarón también concluyeron que el recambio de agua y el nivel de intensificación del sistema no tuvieron un efecto significativo sobre el crecimiento y /o la sobrevivencia (Wyban *et al.*, 1988; Hopkins *et al.*, 1991; Hopkins y Villalón 1992; Browdy *et al.*, 1993).

Sin embargo, se ha demostrado para *P. monodon* (Whay y Chien, 1992), *L. setiferus* (Williams *et al.*, 1996), *L. vannamei* (Reid y Arnold, 1992; Williams *et al.*, 1996; Moss y Moss, 2004) y *Penaeus esculentus* (Stuart *et al.*, 2005, Stuart *et al.*, 2006), que la densidad de siembra así como el recambio de agua si afectan significativamente el crecimiento y/o la sobrevivencia del camarón concluyendo que hay una reducción en el crecimiento y una disminución en la sobrevivencia con un incremento en la densidad de siembra.

Aunque se han realizado considerables avances en las técnicas de cultivo intensivo, hay poco entendimiento acerca de la forma en que las distintas variables que intervienen en el crecimiento modulan el desempeño de los camarones en cultivo. Por esta razón el presente estudio fue diseñado para responder la siguiente pregunta:

### **Pregunta de investigación**

1. ¿De qué forma la calidad del agua (definida como niveles de amonio, nitrito, oxígeno disuelto y salinidad) determinan el crecimiento y la sobrevivencia de los camarones mantenidos en diferentes combinaciones de recambio de agua y densidad de siembra en el laboratorio?

## HIPÓTESIS

Si en estudios realizados a la fecha se ha observado que el crecimiento y la sobrevivencia pueden o no ser afectados por la densidad de siembra y que este efecto podría estar relacionado con la pérdida de la calidad del agua necesaria para sostener el crecimiento y la sobrevivencia de los camarones, entonces aquellas combinaciones de densidad-recambio que mantengan los parámetros de la calidad del agua dentro de los intervalos de tolerancia de las postlarvas de *L. setiferus* (salinidades entre 5 y 35; amonio total menor de 2 mg N-NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> y nitritos menores de 10 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>) serán las que reflejen los mayores crecimientos y las mejores sobrevivencias en condiciones de cultivo.

Para esto se plantearon los siguientes objetivos particulares.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Determinar el efecto de la densidad de siembra y la tasa de recambio de agua en el crecimiento y la sobrevivencia de postlarvas de *Litopenaeus setiferus*.
- 2) Determinar la variación de los parámetros de la calidad del agua en relación a la densidad de siembra y la tasa de recambio de agua en un sistema experimental para el cultivo de postlarvas de *Litopenaeus setiferus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Origen de los animales

En mayo de 1998 se realizó la captura de reproductores de camarón blanco *L. setiferus* frente a la Isla del Carmen en la Laguna de Términos, localizada en el litoral del Golfo de México a 19° 10' 40.22" de latitud norte y 92° 28' 12.80" longitud oeste (CONANP, 2000) en el estado de Campeche, a una profundidad máxima de cuatro brasas, utilizando una red de deriva con apertura de malla de ¾ de pulgada. El trabajo experimental se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental de la Facultad de Ciencias, UNAM, Sede Cd del Carmen, Campeche.

Los organismos capturados se aclimataron en el área de maduración de dicha instalación. Las larvas fueron obtenidas de una hembra madura de medio natural la cual fue inseminada artificialmente. De un desove se obtuvieron 10,000 larvas (nauplio V) que fueron cultivadas en tanques de 400 L en el área de cría del mismo laboratorio. Se alimentaron con el esquema propuesto por Gallardo *et al.* (1995), que consiste en una combinación de microalgas (Diatomea: *Chaetoceros ceratosporum* y Flagelado: *Thetraselmis chuii*) y nauplios de artemia (*Artemia franciscana*).

Una vez que las larvas tenían nueve días después de la última muda metamórfica (PL<sub>9</sub>), se cosecharon únicamente 600 postlarvas para el montaje del experimento.

El resto de las postlarvas se siguieron cultivando hasta PL<sub>20</sub>. Estas postlarvas se cosecharon y se transfirieron al área de engorde del mismo laboratorio en donde se sembraron en un estanque exterior de 20 m<sup>3</sup>. En esa etapa la alimentación fue a base de alimento balanceado particulado, con un diámetro mayor de 500µm. Estas postlarvas fueron posteriormente utilizadas para realizar la segunda etapa de experimentos en etapa juvenil.

### **Criterios para establecer las variables experimentales**

La densidad de siembra fue establecida considerando como base los métodos tradicionales de cultivo de camarón, siendo la mínima utilizada en sistemas de producción comercial (50 PL m<sup>-2</sup>) y otras tres densidades por arriba de ésta: 150, 250 y 350 PL m<sup>-2</sup>. El número de postlarvas que fue colocada por tanque fue calculado tomando en consideración la densidad de siembra deseada y el área del tanque experimental (área de 0.060m<sup>2</sup>). La tasa de recambio de agua se calculó de acuerdo al volumen total del tanque (5L), considerando éste el 100% (Tabla 1).

### **Diseño experimental**

El experimento fue diseñado para conocer los efectos de la combinación de la densidad de siembra y la tasa de recambio de agua por día en el crecimiento y la sobrevivencia de postlarvas de *Litopenaeus setiferus*.

Se plantearon cuatro densidades de siembra (50, 150, 250, 350 ind m<sup>-2</sup>) y cuatro tasas de recambio de agua por día (0, 6, 12, 18 % d<sup>-1</sup>).

La combinación de estas dos variables dio una resultante de 16 tratamientos. Cada tratamiento se llevó por triplicado haciendo un total de 48 tanques experimentales (Tabla 1).

Tabla 1.- Diseño Experimental para evaluar el efecto de diferentes densidad de siembra en combinación con diferentes tasas de recambio de agua sobre el crecimiento y sobrevivencia de *Litopenaeus setiferus*.

Tasa de recambio de agua		Densidad de siembra (ind m <sup>-2</sup> )**			
		50	150	250	350
ml	(% d <sup>-1</sup> )*	Número de postlarvas por tanque			
		3	9	15	21
0	0	R1D1 = N 3	R1D2 = N 3	R1D3 = N 3	R1D4 = N 3
300	6	R2D1 = N 3	R2D2 = N 3	R2D3 = N 3	R2D4 = N 3
600	12	R3D1 = N 3	R3D2 = N 3	R3D3 = N 3	R3D4 = N 3
900	18	R4D1 = N 3	R4D2 = N 3	R4D3 = N 3	R4D4 = N 3

\*R 1, 2, 3, 4 = diferentes tasas de recambio,

\*\*D 1, 2, 3, 4 = diferentes densidades de siembra, N3 = tres repeticiones.

Los ml denotan el volumen de recambio diario correspondiente al % del volumen total del dispositivo experimental utilizado (5L).

## Montaje del experimento

La designación de densidad de siembra y tasa de recambio de agua para los 48 tanques experimentales se realizó al azar. Los tanques se llenaron con 5L de agua de mar (salinidad de 38 ± 1, pH 7.3 ± 0.5, T°C 30 ± 1) filtrada (20 µm) y esterilizada con UV. La aireación fue suministrada a cada tanque utilizando una manguera de 3/16" de diámetro acoplada a distribuidores de aire. Cada uno de los tanques fue cubierto con una malla con luz de 2mm para evitar el salto de las postlarvas. Las postlarvas se sembraron una por una (PL<sub>9</sub>) en cada tanque experimental según su correspondencia con la densidad de siembra experimental (Tabla 1). El tiempo de experimentación fue de 28 días.

## **Rutina de mantenimiento**

Después de medir los parámetros fisicoquímicos del agua, se llevó a cabo la limpieza de los tanques, al retirar los residuos de alimento y heces del fondo por medio de un sifón. Posteriormente se realizó el recambio de agua correspondiente a cada condición experimental (Tabla 1). Finalmente los camarones eran alimentados con su ración correspondiente (Tabla 3).

## **Alimentación**

La alimentación de las postlarvas fue a base de alimento artificial microparticulado con un 50% de proteína, con un tamaño de partícula entre 210 y 364 $\mu$ m. El alimento fue preparado de acuerdo a la formulación propuesta por Gaxiola (1994), Tabla 2.

Los camarones se alimentaron dos veces al día (8:00 am. y 8:00 pm.) a razón del 120 % del peso corporal (Gaxiola 1994). La ración diaria se calculó con el peso promedio de 50 postlarvas (PL<sub>9</sub>), (0.83mg por postlarva). Este valor se consideró como el 100 % de la biomasa corporal y se utilizó para calcular la cantidad de alimento a suministrar por animal. Así, para un 120 % de biomasa se proporcionó 1mg de alimento por postlarva por día (1mg ind<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>). Al cabo de 13 días de experimento se incrementó la ración de alimento a 1.5mg por postlarva por día (mg ind<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), (Tabla 3).

## **1.- Evaluación de la tasa de crecimiento, la sobrevivencia y el índice de rendimiento**

Después de 28 días se desmontó el experimento y se cuantificaron el número de postlarvas vivas de cada tanque para evaluar la sobrevivencia y el crecimiento.

1.- La tasa de crecimiento (C) se evaluó como la diferencia entre el peso final y el peso promedio inicial de las postlarvas de cada tratamiento. Las postlarvas de cada tratamiento se pesaron individualmente en una balanza analítica estándar OHAUS modelo AS120 (peso húmedo: ph), considerando como peso inicial el promedio de 50 postlarvas y como peso final el peso húmedo individual de los organismos sobrevivientes en cada tratamiento. El crecimiento se expresó en

función a la ecuación 2, mg de peso húmedo (ph) por día:

### **Ecuación 1**

$$C = \frac{Pf - Pi}{t} = \Delta P/t$$

Donde:  $\Delta P/t$  es la diferencia entre el peso final (Pf) y el peso inicial (Pi) de las postlarvas y (t) es el tiempo de duración del experimento (28 días).

2.- La sobrevivencia (S%) se calculó como la diferencia del número de postlarvas que sobrevivieron a cada tratamiento con respecto a las postlarvas sembradas al inicio. Estos resultados se expresaron en porcentaje:

### **Ecuación 2**

$$S = (No. PL_i - No. PL_f) * 100$$

Donde: (No. PL<sub>i</sub>) es el número de postlarvas sembradas al inicio menos el número de postlarvas al final del experimento (No. PL<sub>f</sub>) por 100.

3.- El índice de rendimiento (IR) se calculó como un indicador práctico que combina la tasa de crecimiento y la sobrevivencia (Taboada *et al.* 1998).

### **Ecuación 3**

$$IR = TC(mg.día^{-1} ph) * S (\%)$$

Donde: (TC) es la tasa de crecimiento por la sobrevivencia (S)

Tabla 2.- Composición del alimento microparticulado para postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus*.

Ingredientes	Postlarvas	Juveniles
	(50% Proteínas)	(40% Proteínas)
Harina de pescado	31	25
Harina de calamar	15	10
Harina de soya	33	36
Almidón	8.5	16.0
Lecitina de soya	1.0	1.0
Aceite vegetal	1.5	1.74
Aceite de harina de	1.5	1.74
Colesterol	0.5	0.5
Ac. Ascórbico	0.5	0.5
Premezcla de vitaminas**	1.7	1.8
Premezcla de minerales**	0.8	0.7
CMC*	5.0	5.0
Total	100%	100%

\*Carboximetil celulosa (aglutinante)

\*\* Donadas por Ralstron Purina de México

Tabla 3.- Cantidad de alimento a suministrar por día a cada tratamiento experimentas en función a la densidad de siembra

Densidad de siembra (ind m <sup>-2</sup> )	Postlarvas por tanque	Ración de alimento PL <sub>9</sub> - PL <sub>21</sub> (1 mg ind <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	Ración de alimento PL <sub>22</sub> - PL <sub>35</sub> (1.5 mg ind <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )
50	3	3	4.5
150	9	9	13.5
250	15	15	22.5
350	21	21	31.5

## 2.- Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del agua

Todos los días se escogió al azar un tanque de cada uno de los 16 tratamientos a los que se les registraron los siguientes parámetros: **Oxígeno disuelto y temperatura** ( $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$ ) con un oxímetro de campo modelo YSI55 conectado a un electrodo polarográfico con sensibilidad ( $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ); **pH** con un equipo

ORION modelo 1290 ( $\pm 0.05$ ); **salinidad** con un refractómetro marca ATAGO con una precisión ( $\pm 1$  ‰). Cada cinco días se midieron los **niveles de amonio y nitrito** (técnica de azul de indofenol y sulfanilamida, respectivamente; APHA, 1992) tomando una muestra de 5ml de los 16 tanques representantes de cada tratamiento.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se realizó un análisis de varianza de dos vías para evaluar el efecto de los tratamientos sobre la tasa de crecimiento y la sobrevivencia. Se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos (Zar 1974).

## RESULTADOS

### 1. Indicadores zootécnicos

#### 1.1. Tasa de crecimiento

El análisis estadístico demostró que la densidad de siembra no tuvo un efecto significativo sobre el crecimiento ( $P > 0.05$ ), sin embargo, la tasa de recambio de agua, así como la interacción entre la densidad de siembra y el recambio de agua si tuvieron un efecto significativo sobre el crecimiento ( $P < 0.05$ ).

La tasa de crecimiento obtenida por los camarones bajo las diferentes condiciones experimentales tuvo un intervalo de 0.185 mg d<sup>-1</sup>ph a 0.557 mg d<sup>-1</sup>ph (Tabla 4). El valor mayor fue obtenido con una combinación de recambio de agua del 12% d<sup>-1</sup> con 50 ind m<sup>-2</sup> y el valor mínimo se obtuvo sin recambio de agua 0% d<sup>-1</sup> con 250 ind m<sup>-2</sup>.

Se puede observar que las mayores tasas de crecimiento se obtuvieron con una tasa de recambio de agua del 12% d<sup>-1</sup> para cada una de las diferentes densidades de siembra (50, 150, 250 y 350 ind m<sup>-2</sup>), siendo éstas tasas de crecimiento significativamente mayores a las obtenidas con una tasa sin recambio de agua de 0 % d<sup>-1</sup> para las densidades de 50, 150 y 250 ind m<sup>-1</sup> ( $P <$

0.05; Fig. 1). Se observó también una disminución en el crecimiento conforme se incrementa la densidad de siembra aunque ésta no resultó ser estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ).

Asimismo se pudo observar que conforme hay un incremento en el recambio de agua para cada una de las densidades de siembra (50, 150, 250 y 350 ind m<sup>-2</sup>) hay un incremento en la tasa de crecimiento con los recambios de agua de (0, 6 y 12% d<sup>-1</sup>), disminuyendo la tasa de crecimiento con una tasa de recambio de agua del 18% d<sup>-1</sup>, (Tabla 4; Fig. 1).

Las tasas de crecimiento con una densidad de siembra de 50 ind m<sup>-2</sup> con los diferentes recambios de agua resultaron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ), mientras que con la densidad de siembra de 150 ind m<sup>-2</sup> solo existe diferencia significativa en el crecimiento con un 12 % de recambio. Con una densidad de 250 ind m<sup>-2</sup> la tasa de crecimiento es significativamente diferente con recambios de agua del 6 y 12% d<sup>-1</sup>, mientras que con una densidad con 350 ind m<sup>-2</sup> la tasa de crecimiento no tiene diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre las diferentes tasas de recambio de agua, (Tabla 4; Fig. 1).

## 1.2. Supervivencia

La tasa de recambio de agua tuvo un efecto significativo en la supervivencia ( $P < 0.05$ ), mientras que la densidad de siembra y la interacción entre la densidad de siembra y el recambio de agua no tuvieron un efecto significativo en la supervivencia ( $P > 0.05$ ).

La supervivencia de los diferentes tratamientos tuvo un intervalo de entre 25 a 100 % (Tabla 4; Fig. 2), obteniendo la supervivencia más alta con una combinación de recambio - densidad de 6% d<sup>-1</sup> y 50 ind m<sup>-2</sup> y la mínima con una combinación 0% d<sup>-1</sup> y 50 ind m<sup>-2</sup>. Las supervivencias más bajas se obtuvieron cuando no hubo recambio de agua (0% d<sup>-1</sup>) con las diferentes densidades de siembra teniendo un comportamiento muy variable. Se pudo observar que la supervivencia de los organismos cuando se someten a un recambio de agua del 6 y 12% d<sup>-1</sup> disminuye conforme se incrementa la densidad de siembra hasta 250 ind m<sup>-2</sup> e incrementa sin ser significativa ( $P > 0.05$ ) con una densidad de 350 ind m<sup>-2</sup>. Mientras que, con un recambio de 18% d<sup>-1</sup> podemos observar

claramente que la sobrevivencia disminuye conforme se incrementa la densidad de siembra con un intervalo de sobrevivencia de 73.3% a 100%. En general se pudo observar que la sobrevivencia con tasas de recambio de agua de 6, 12 y 18%  $d^{-1}$  tiende a disminuir conforme se incrementa la densidad de siembra manteniéndose con un intervalo de sobrevivencia de 73.3% a 100%. A diferencia cuando no hay recambio de agua (0%  $d^{-1}$ ), la sobrevivencia es significativamente menor en relación a las tasas de recambio de agua de 6, 12 y 18%  $d^{-1}$  y muy variable con respecto a las diferentes densidad de siembra, con un intervalo de sobrevivencia de 25 a 84.9%, (Tabla 4; Fig. 2).

### **1.3. Índice de rendimiento**

Utilizando el índice de rendimiento (IR) como una herramienta para comprender el efecto de la densidad de siembra y el recambio de agua sobre el crecimiento y la sobrevivencia, podemos observar que existe una reducción del IR en relación con un incremento en la densidad de siembra, excepto cuando no hay recambio de agua. El intervalo de valores del IR fue de entre 0.054 hasta 0.517, (Tabla 4; Fig.3). Como se puede apreciar, el IR mayor fue obtenido con una tasa de recambio de agua del 12%, decreciendo conforme se incrementaba la densidad de siembra (50,150, 250 y 350  $ind\ m^{-2}$ ) con un intervalo de IR de 0.502 a 0.302. Este comportamiento se puede observar también para las tasas de recambio de agua de 6 y 18 %  $d^{-1}$ . Mientras que el IR menor fue obtenido en camarones mantenidos sin recambio de agua (0%  $d^{-1}$ ) con un comportamiento variable con respecto a la densidad de siembra, con un intervalo de IR (0.083 a 0.247), (Tabla 4; Fig.3).

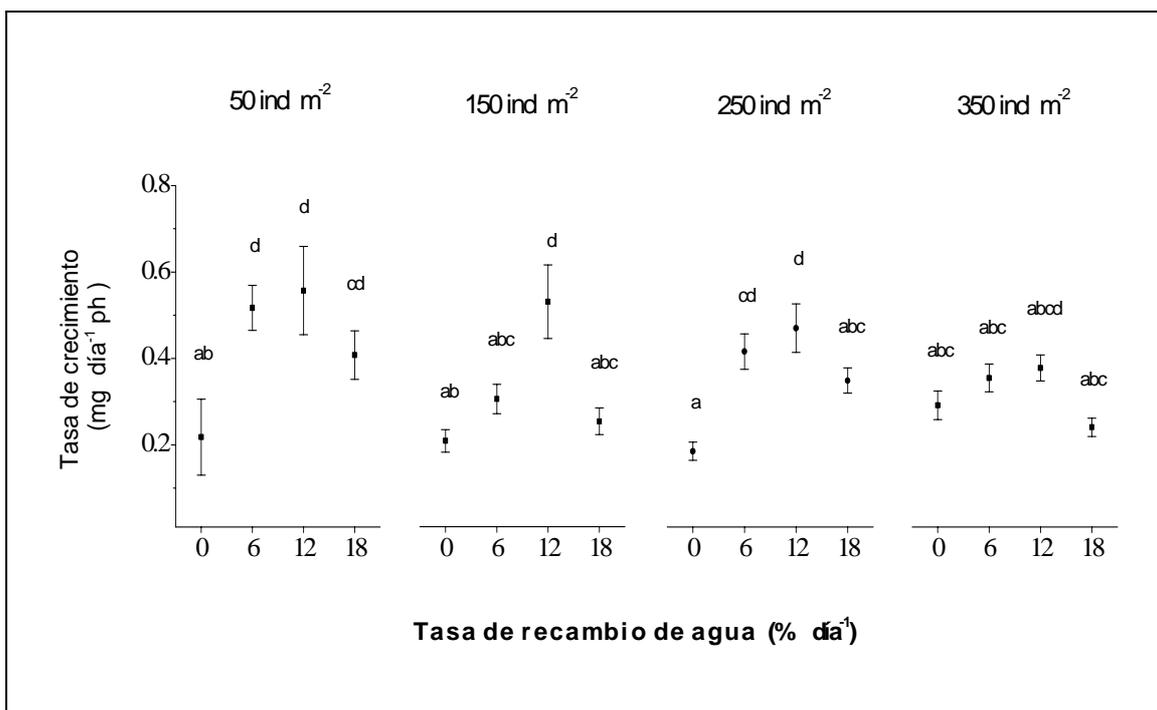


Fig. 1.- Tasa de crecimiento ( $mg\ d^{-1}ph$ ) de postlarvas de *Litopenaeus setiferus* expuestas por un periodo experimental de 28 días a una combinación de cuatro densidades de siembra (50, 150, 250, 350  $ind\ m^{-2}$ ) con diferentes tasas de recambio de agua (0, 6, 12, 18  $\%\ d^{-1}$ ). Valores expresados en promedio  $\pm$  Error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos.

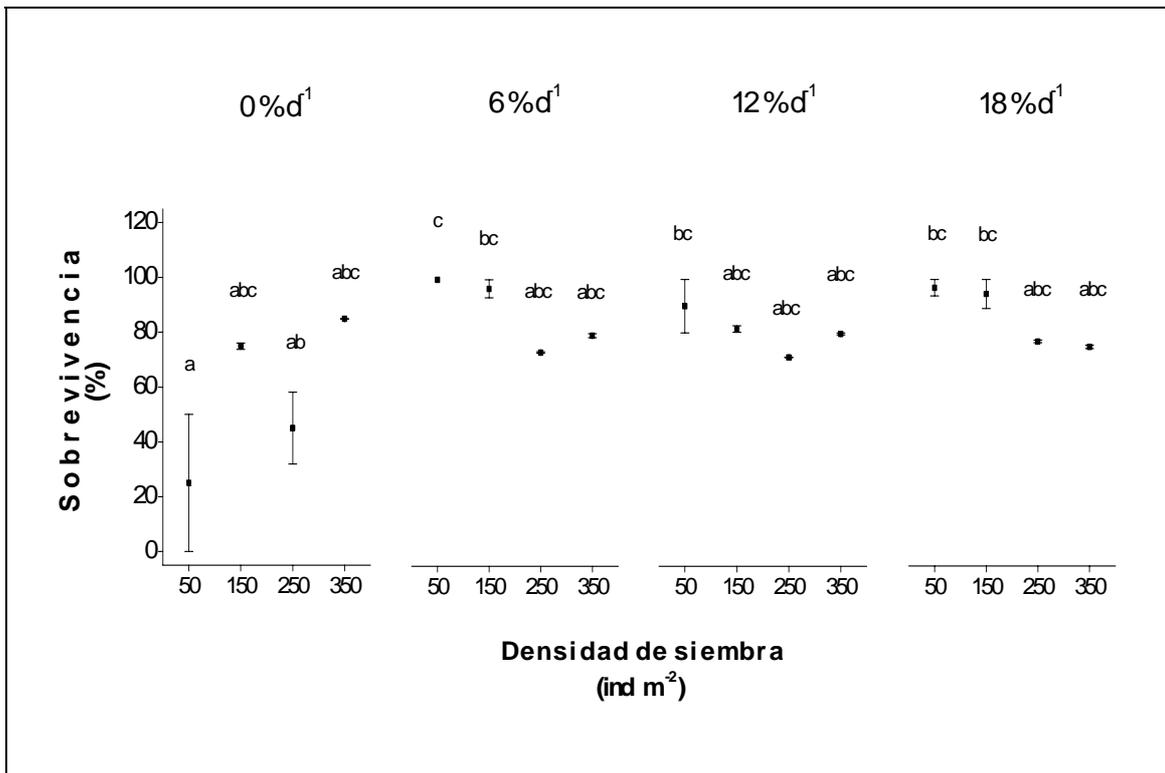


Fig. 2.- Sobrevivencia (%) en postlarvas de *Litopenaeus setiferus* expuestas por un periodo experimental de 28 días a una combinación de cuatro tasas de recambio de agua (0, 6, 12, 18 % d<sup>-1</sup>) con diferentes densidades de siembra (50, 150, 250, 350 ind m<sup>-2</sup>). Valores expresados en promedio ± Error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos.

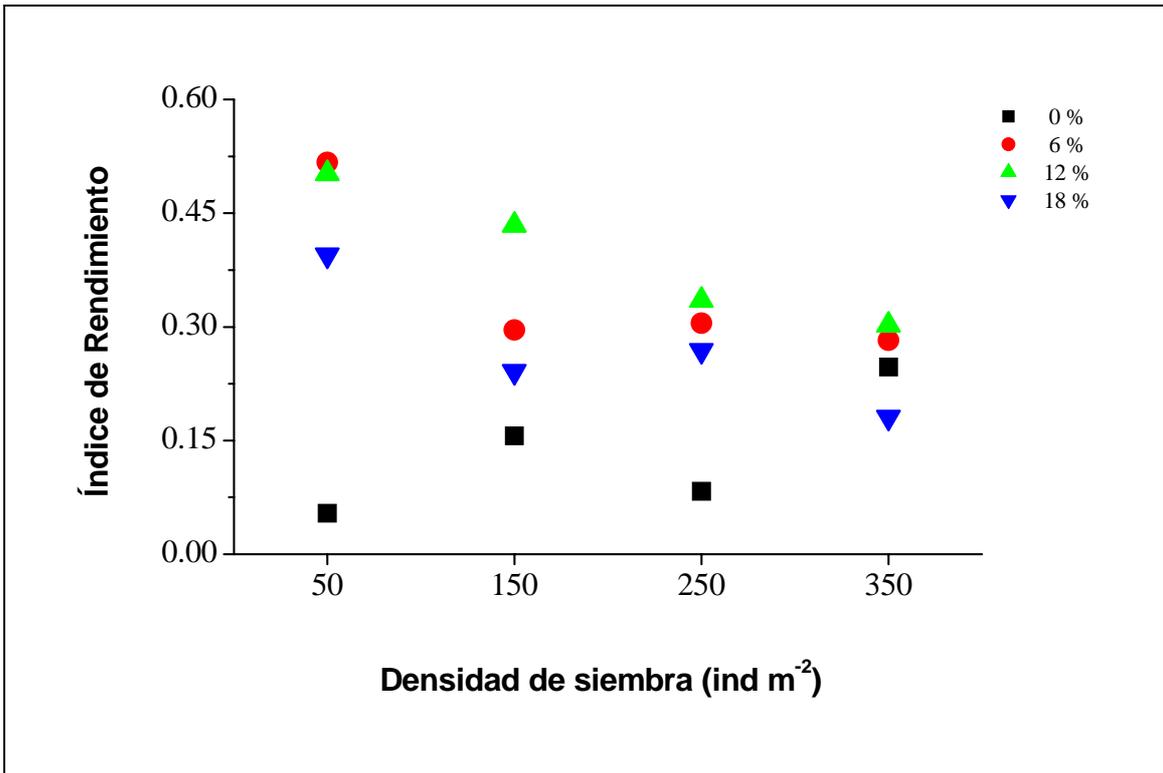


Fig. 3.- Índice de rendimiento de postlarvas de *Litopenaeus setiferus* expuestas por un periodo experimental de 28 días a una combinación de cuatro densidades de siembra (50, 150, 250, 350 ind m<sup>-2</sup>) con diferentes tasas de recambio de agua (0, 6, 12, 18 % d<sup>-1</sup>).

Tabla 4. Tasa de crecimiento ( $mg\ día^{-1}\ ph$ ), Supervivencia (%) e Índice de rendimiento de postlarvas de *Litopenaeus setiferus* expuestas por un periodo experimental de 28 días a una combinación de diferentes tasas de recambio de agua (0, 6, 12 y 18 %  $día^{-1}$ ) y diferentes densidades de siembra (50, 150, 250 y 350  $ind\ m^{-2}$ ). La densidad de siembra está expresada también como postlarvas por tanque. Datos expresados en Promedio  $\pm$  error estándar ES. Las letras diferentes en superíndice indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ).

Tasa de recambio de agua por día (% $día^{-1}$ )	Densidad de siembra ( $ind\ m^{-2}$ )	Postlarvas por tanque	Tasa de crecimiento ( $mg\ día^{-1}\ ph$ )	Supervivencia (%)	Índice de rendimiento
0	50	3	$0.218 \pm 0.088^{ab}$	$25 \pm 25^a$	0.054
	150	9	$0.209 \pm 0.026^{ab}$	$74.95 \pm 1.17^{abc}$	0.156
	250	15	$0.185 \pm 0.021^a$	$45.06 \pm 13.09^{ab}$	0.083
	350	21	$0.291 \pm 0.033^{abc}$	$84.87 \pm 0.01^{abc}$	0.247
6	50	3	$0.517 \pm 0.052^d$	$100 \pm 0^c$	0.517
	150	9	$0.306 \pm 0.034^{abc}$	$96.68 \pm 3.32^{bc}$	0.296
	250	15	$0.415 \pm 0.041^{cd}$	$73.35 \pm 0.25^{abc}$	0.305
	350	21	$0.354 \pm 0.032^{abc}$	$79.53 \pm 0.73^{abc}$	0.282
12	50	3	$0.557 \pm 0.102^d$	$90.20 \pm 9.80^{bc}$	0.502
	150	9	$0.531 \pm 0.085^d$	$81.84 \pm 1.20^{abc}$	0.434
	250	15	$0.469 \pm 0.056^d$	$71.49 \pm 0.11^{abc}$	0.335
	350	21	$0.377 \pm 0.030^{abcd}$	$80.05 \pm 0.34^{abc}$	0.302
18	50	3	$0.408 \pm 0.056^{cd}$	$96.98 \pm 3.02^{bc}$	0.395
	150	9	$0.254 \pm 0.031^{abc}$	$94.72 \pm 5.28^{bc}$	0.241
	250	15	$0.348 \pm 0.029^{abc}$	$77.30 \pm 0.46^{abc}$	0.269
	350	21	$0.240 \pm 0.021^{abc}$	$75.32 \pm 0.63^{abc}$	0.181

## **2.- Parámetros fisicoquímicos del agua**

### **2.1. Oxígeno disuelto, temperatura y pH**

El oxígeno disuelto se mantuvo sin grandes fluctuaciones debido a que los tratamientos tuvieron una regulación constante en la aireación, obteniendo un intervalo de entre 5.15 y 6.87 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> con un promedio de 5.96 ± 0.012 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>.

El régimen de temperatura en los tanques experimentales se controló mediante el uso de un equipo de aire acondicionado, obteniendo un intervalo entre 27 y 28.5 °C con una temperatura promedio de 27.5 ± 0.5°C. El pH fluctuó entre 7.9 y 8.8 (8.32± 0.02) durante todo el periodo experimental.

Los parámetros fisicoquímicos de salinidad, amonio y nitrito registrados en este estudio, presentaron variaciones importantes a lo largo de los 28 días experimentales (Fig. 4).

### **2.2. Salinidad**

Los intervalos de salinidad para la combinación de cada recambio de agua (% d<sup>-1</sup>) con las diferentes densidades de siembra (ind m<sup>-2</sup>) se muestran en la tabla 5.

El comportamiento de la salinidad fue oscilante y con una tendencia a incrementar en el transcurso del tiempo dependiendo de la tasa de recambio de agua (% d<sup>-1</sup>), a mayor recambio de agua menor es el incremento de la salinidad. Se puede observar claramente un incremento de la salinidad en los tratamientos que no tuvieron recambio de agua (0% d<sup>-1</sup>), obteniendo los valores más altos de salinidad con un intervalo de entre 42 y 93 ups (Tabla 5; Fig. 4). Al calcular la diferencia de la salinidad entre los valores al inicio y final del experimento se pudo notar que en los tanques con 0 recambio hubo un incremento neto de 36 a 48 ups en el transcurso del experimento, (Tabla 5; Fig. 4).

Con un recambio de agua del 6% d<sup>-1</sup> se obtuvo un incremento en la salinidad de entre 40 a 56 ups, con un incremento neto de salinidad de 11 a 15 ups. Con un recambio de agua del 12% d<sup>-1</sup> tenemos un incremento de la salinidad con un intervalo de 40 a 50 ups, el cual significó un incremento neto de 7 a 10 ups. Y

finalmente con un recambio de agua del 18% d<sup>-1</sup> se obtuvieron los valores más bajos de salinidad con un intervalo de 38 y 49 ups con un incremento neto de 6 a 9 ups, (Tabla 5; Fig. 4).

*Tabla 5. Intervalos de salinidad obtenidos cuando postlarvas de L. setiferus estuvieron expuestas por un periodo experimental de 28 días a diferentes combinaciones de tasas de recambio de agua (0, 6, 12, 18 % d<sup>-1</sup>) y densidad de siembra (50, 150, 250 y 350 ind m<sup>-2</sup>).*

Densidad de siembra (ind m <sup>-2</sup> )	Tasa de recambio de agua (% día <sup>-1</sup> )			
	0	6	12	18
50	45 – 93 <sub>48</sub>	41 – 56 <sub>15</sub>	40 – 48 <sub>8</sub>	40 – 46 <sub>6</sub>
150	42 – 78 <sub>36</sub>	41 – 52 <sub>11</sub>	40 – 50 <sub>10</sub>	40 – 49 <sub>9</sub>
250	43 – 83 <sub>40</sub>	40 – 55 <sub>14</sub>	41 – 50 <sub>9</sub>	40 – 46 <sub>6</sub>
350	42 – 78 <sub>36</sub>	42 – 54 <sub>12</sub>	41 – 48 <sub>7</sub>	38 – 47 <sub>9</sub>

El subíndice denota la diferencia de la salinidad para cada intervalo, indicando el incremento neto de ups en 28 días.

### 2.3. Amonio

Como era de esperarse el comportamiento del amonio fue incrementando en los tratamientos con respecto a un aumento en la densidad de siembra (ind m<sup>-2</sup>) y con una disminución en la tasa de recambio de agua (% d<sup>-1</sup>) a lo largo del tiempo (Fig. 4).

Los valores más altos de amonio (0.76, 1.26, 1.52 y 3.10 mg N-NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) fueron obtenidos cuando los tratamientos no tuvieron recambio de agua (0% d<sup>-1</sup>) para cada densidad de siembra (50, 150, 250 y 350 ind m<sup>-2</sup>) respectivamente. Los valores más bajos (0.04 mg N-NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) se obtuvieron con una combinación de recambio de agua – densidad de siembra de 6% d<sup>-1</sup> – 50, 150 ind m<sup>-2</sup> y 18% d<sup>-1</sup> – 50 ind m<sup>-2</sup>. Los valores de 0.14 y 0.23 mg N-NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> se obtuvieron con una tasa de recambio de agua del 18 % d<sup>-1</sup> con densidades de siembra de 250 y 350 ind m<sup>-2</sup> respectivamente (Tabla 6; Fig. 4).

Tabla 6.- Intervalos de concentraciones de amonio ( $\text{mgN-NH}_3 \text{ L}^{-1}$ ) obtenidos cuando postlarvas de *L. setiferus* estuvieron expuestas por un periodo experimental de 28 días a diferentes combinaciones de tasas de recambio de agua (0, 6, 12, 18 %  $\text{d}^{-1}$ ) y densidad de siembra (50, 150, 250 y 350  $\text{ind m}^{-2}$ ).

Densidad de siembra ( $\text{ind m}^{-2}$ )	Tasa de recambio de agua (% $\text{día}^{-1}$ )			
	0	6	12	18
50	0.08 – 0.76	0.04 – 0.36	0.05 – 0.44	0.04 – 0.28
150	0.24 – 1.26	0.04 – 0.77	0.08 – 0.49	0.15 – 0.38
250	0.32 – 1.52	0.21 – 1.02	0.26 – 0.76	0.14 – 0.60
350	0.37 – 3.10	0.34 – 2.76	0.27 – 1.97	0.23 – 1.55

## 2.4. Nitrito

Se observó en todos los tratamientos un incremento pronunciado en las concentraciones de nitrito en el tiempo en relación a un incremento en la densidad de siembra y una disminución en la tasa de recambio de agua (Fig. 4).

Los niveles de nitrito más altos fueron observados cuando no hubo recambio de agua (0%  $\text{d}^{-1}$ ) con valores (3.54, 4.95 y 6.19  $\text{mgNO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ), correspondientes a las densidades de 50, 150 y 350  $\text{ind m}^{-2}$  respectivamente. Y un valor de nitrito de 5.62  $\text{mgNO}_2^- \text{ L}^{-1}$  en los tanques mantenidos con una densidad de 250  $\text{ind m}^{-2}$  con un recambio de agua del 6%  $\text{d}^{-1}$ , (Tabla 7; Fig. 4).

Los valores más bajos (0.04 y 0.09  $\text{mgNO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) se observaron con un recambio de agua del 18% en los tanques mantenidos con densidades de siembra de 50 y 250  $\text{ind m}^{-2}$  y (0.06 y 0.08  $\text{mgNO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) con un recambio de agua del 12% para las densidades de 150 y 350  $\text{ind m}^{-2}$  (Tabla 7; Fig. 4). Es interesante resaltar que a partir del día 20, los niveles de nitrito tuvieron un incremento brusco hasta el día 25 y disminuyeron de igual forma en todos los tanques con particular intensidad en los que contenían densidades de siembra de 150, 250 y 350  $\text{ind m}^{-2}$  (Fig. 4).

Tabla 7.- Intervalos de concentraciones de nitrito ( $\text{mgN-NO}_2^- \text{L}^{-1}$ ) obtenidos cuando postlarvas de *L. setiferus* estuvieron expuestas por un periodo experimental de 28 días a diferentes combinaciones de tasas de recambio de agua (0, 6, 12, 18 %  $\text{d}^{-1}$ ) y densidad de siembra (50, 150, 250 y 350  $\text{ind m}^{-2}$ ).

Densidad de siembra ( $\text{ind m}^{-2}$ )	Tasa de recambio de agua (% $\text{día}^{-1}$ )			
	0	6	12	18
50	0.14 – 3.54	0.08 – 2.12	0.13 – 1.07	0.04 – 0.62
150	0.16 – 4.95	0.12 – 4.84	0.06 – 2.85	0.09 – 2.10
250	0.09 – 5.18	0.14 – 5.62	0.09 – 2.94	0.09 – 1.92
350	0.12 – 6.19	0.12 – 2.87	0.08 – 4.11	0.09 – 2.92

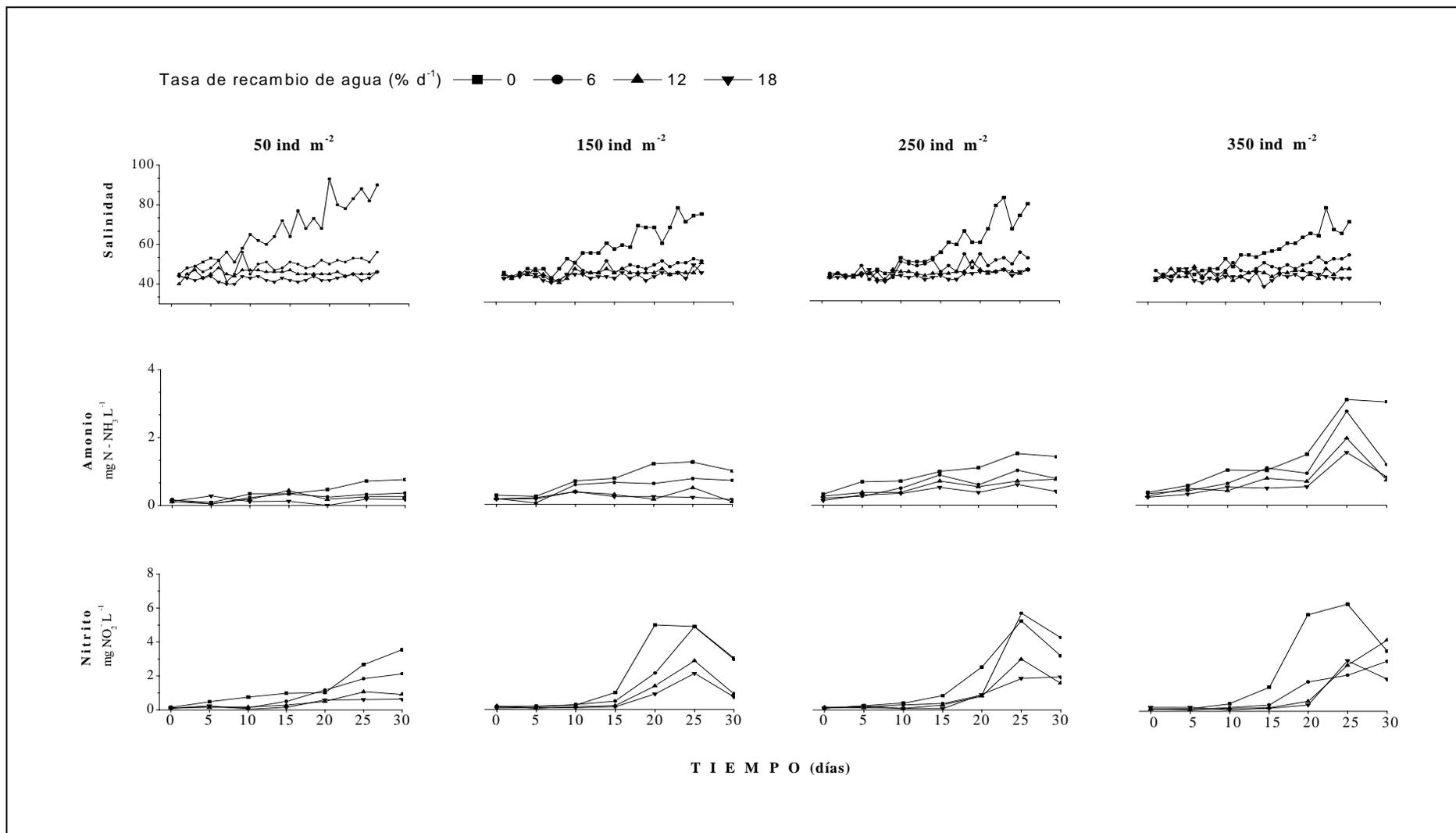


Fig. 4.- Parámetros fisicoquímicos del agua donde se mantuvieron postlarvas de *Litopenaeus setiferus* por un periodo de exposición de 28 días con diferentes densidades de siembra (50, 150, 250, 350 ind m<sup>2</sup>) con diferentes tasa de recambio de agua (0, 6, 12 18 % d<sup>1</sup>).

## DISCUSIÓN

A la fecha se han desarrollado una variedad de investigaciones para determinar el efecto de la densidad de siembra y/o el recambio de agua en sistemas de cultivo de camarón sobre la tasa de crecimiento y / o la sobrevivencia, en algunos casos se ha concluido que la densidad y / o el recambio de agua no tienen un efecto significativo sobre el crecimiento y / o la sobrevivencia (Sandifer *et al.*, 1985, 1986, 1987 a, b; Wyban *et al.*, 1988; Hopkins *et al.*, 1991; Hopkins y Villalón 1992; Browdy *et al.*, 1993), sin embargo otras investigaciones han determinado que la densidad de siembra y / o el recambio de agua si tienen un efecto significativo sobre la tasa de crecimiento y / o la sobrevivencia concluyendo que las causas principales de estos efectos podrían estar relacionadas con la interacción entre las variaciones de los factores del medio ambiente (oxígeno disuelto, amonio, nitrito, pH, salinidad, etc.) (Sandifer *et al.* 1987a; Browdy *et al.* 1993; Hopkins *et al.* 1993), así como a un incremento en la competencia por el espacio, debido a la aglomeración o hacinamiento de individuos provocada por altas densidades (Williams *et al.*, 1996; Peterson y Griffith, 1999; Stuart *et al.*, 2006), y/o a los efectos causados por el canibalismo (Abdusamad y Thampy, 1994; Stuart *et al.*, 2006), y/o a la competencia por el alimento de origen natural (Robertson *et al.*, 1993; Maguirre y Leedow, 1983; Peterson y Griffith, 1999). Como se puede apreciar hay una variedad de razones y ninguna en particular.

En el presente estudio se concluyó que la densidad de siembra por sí sola no causó un efecto significativo sobre la tasa de crecimiento ni la sobrevivencia, mas sin embargo la interacción entre la densidad de siembra y el recambio de agua, sí ocasionaron un efecto significativo en la tasa de crecimiento.

Investigaciones previas sobre prácticas de manejo de estanques de camarón comercial (Hopkins y Villalón 1992) encontraron una correlación inconsistente entre el recambio de agua y los niveles de intensificación del cultivo. A este respecto Hopkins *et al.* (1993) reportaron que el crecimiento no se vio afectado por el recambio de agua, sin embargo, la sobrevivencia si fue afectada significativamente por la densidad de siembra y el recambio de agua. Estos autores observaron

mortalidad masiva de postlarvas de *L. setiferus* cuando se cultivaron a una densidad de 66 y 44 ind m<sup>-2</sup> y 0% de recambio de agua. Bajo estas condiciones y después de haber realizado mediciones detalladas de diferentes parámetros de la calidad del agua, concluyeron que, aunque los parámetros ambientales por separado no pudieron ser correlacionados directamente con la mortalidad masiva porque no llegaron a niveles tóxicos, la interacción de éstos, con el aumento de la materia orgánica suspendida, más la reducción de la superficie respiratoria en las branquias producida por el crecimiento de algas y bacterias epicomensales y una disminución del oxígeno disuelto producido por el incremento en la densidad y los excesos de alimento, pudieran estar asociadas a la baja sobrevivencia y a la mortalidad masiva. Aunque en nuestro estudio no se realizaron observaciones de las branquias de los organismos muertos es posible pensar que las algas en las branquias y los epicomensales no fueron un factor determinante de la sobrevivencia pues en nuestras condiciones el agua de mar que se usó fue siempre filtrada a través de filtros de 20 µm y esterilizada con UV. Por el contrario el exceso de alimento pudo haber jugado un papel en la sobrevivencia sobre todo si se considera que la ración se mantuvo constante independientemente de la mortalidad diaria.

Asimismo, Sandifer *et al.* (1987b) señalaron que la tasa de crecimiento y la sobrevivencia no se vieron afectados significativamente cuando los camarones se mantuvieron a densidades relativamente altas (60 , 80 y 100 ind m<sup>-2</sup>) con recambios de agua relativamente bajos (13.6 ,18.4 y 20.8% d<sup>-1</sup>). Aunque no se observó un efecto significativo sobre el crecimiento, se observó una tendencia clara hacia una talla pequeña de los organismos con un incremento en la densidad. De igual manera, Browdy *et al.* (1993), determinaron el efecto de la tasa de recambio de agua (10, 50 y 100 % d<sup>-1</sup>) con dos densidades de siembra y alta densidad (60 y 100 ind m<sup>-2</sup>) en postlarvas de *L. vannamei* y señalaron que la tasa de recambio de agua no afectó significativamente la tasa de crecimiento así como tampoco la sobrevivencia excepto para una combinación de bajo recambio 10% d<sup>-1</sup> con 60 ind m<sup>-2</sup>. La concentración baja de oxígeno disuelto provocó mortalidad en masa en varias ocasiones. Estos autores concluyeron que intervalos de recambio de agua ente 10 – 100% d<sup>-1</sup> tienen muy poco impacto sobre el crecimiento y la

sobrevivencia, siempre y cuando los niveles de oxígeno disuelto al amanecer se mantengan dentro los niveles aceptados, dejando claro que altos niveles de recambio de agua no mejoran el crecimiento o la sobrevivencia.

En el presente estudio se observó que la sobrevivencia fue afectada significativamente por la tasa de recambio de agua, principalmente en condiciones sin recambio de agua (0 % d<sup>-1</sup>) independientemente de la densidad de siembra, aunque hubo una tendencia a disminuir con un incremento en la densidad sin llegar a tener un efecto significativo. Se observó mortalidad del 100% en dos de los tres tanques experimentales mantenidos en ésta tasa de recambio de agua con densidades de siembra de 50 ind m<sup>-2</sup> y un tanque a 250 ind m<sup>-2</sup>, poniendo en evidencia los efectos de la tasa de recambio de agua sobre la sobrevivencia.

Al igual que Hopkins *et al.* (1993), la causa de la mortalidad en el presente trabajo, no se le pudo atribuir a un efecto tóxico de cualquiera de los parámetros medidos de calidad de agua. Ya que el oxígeno disuelto, el pH y la temperatura se mantuvieron controlados dentro de los niveles aceptados de cultivo.

Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio con respecto a la salinidad, la cual varió entre los tratamientos en respuesta a la tasa de recambio de agua y a la evaporación, muestran que los tratamientos sin recambio de agua (0 % d<sup>-1</sup>) alcanzaron un intervalo (78 hasta 93ups) muy por encima de los niveles recomendados como óptimos (25‰) para las postlarvas de esta especie (Rosas *et al.* 1999b), afectando posiblemente la tasa de crecimiento y la sobrevivencia bajo estas condiciones, aun siendo considerada como una especie altamente eurihalina.

Meade, (1985) menciona que el amonio es uno de los factores causantes de la mortalidad de los organismos acuáticos. En el presente estudio los niveles de amonio y nitrito incrementaron con una disminución en la tasa de recambio de agua y con un incremento en la densidad de siembra. Los niveles de amonio más altos se registraron con una densidad de siembra de 350 ind m<sup>-2</sup> (3.10, 2.76, 1.97 y 1.55 mg L<sup>-1</sup>) con tasas de recambio de agua (0, 6, 12 y 18% d<sup>-1</sup>), respectivamente. Los valores de nitrito más altos, también se registraron con una densidad de siembra de 350 ind m<sup>-2</sup> (6.19, 4.11 y 2.92 mg L<sup>-1</sup>) con tasas de recambio de agua de 0, 12 y

18% d<sup>-1</sup> respectivamente y 5.62 mg L<sup>-1</sup> con un 6% d<sup>-1</sup> con una densidad de 250 ind m<sup>-2</sup>.

Los valores de amonio obtenidos en el presente estudio resultaron ser 65% más bajos que los niveles tóxicos reportados para esta especie (8.69 mg L<sup>-1</sup>; Alcaráz *et al.*, 1999), sugiriendo que los niveles registrados ahora pudieran estar dentro de niveles sub letales que afectaron la tasa de crecimiento. A este respecto Hopkins *et al.*, (1993), trabajando con la misma especie, sin recambio de agua (0 % d<sup>-1</sup>) y con densidades de 22, 44 y 66 ind m<sup>-2</sup> en las que registró mortalidad masiva, obtuvo valores de amonio (2.1, 2.8 y 2.6 mg L<sup>-1</sup>) y de nitrito (3.1, 6.3 y 15.0 mg L<sup>-1</sup>) respectivamente, concluyendo que la mortalidad no se pudo correlacionar con ninguno de los parámetros de la calidad de agua. Esos valores de amonio y nitrito se acercaron pero no llegaron a los niveles tóxicos reportados para *P. japonicus* (Kou y Chen, 1991) y letales en el caso del nitrito para *P. monodon* (Chen y Lei, 1990), ya que la mortalidad no ocurrió cuando se registraron estos valores. Chin y Chen, (1987) sugieren que los niveles de seguridad de amonio –N de postlarvas de *P. monodon* están en 1.15 mg L<sup>-1</sup> y Chin y Chen, (1988) sugieren que los niveles de seguridad del nitrito en postlarvas de esta especie están en 1.355 mg L<sup>-1</sup>. El incremento del amonio en el agua en un cultivo de la langosta americana (*Homarus americanus*) fue gradual permitiendo con esto a los organismos aclimatarse al ambiente hasta el punto donde el crecimiento fue afectado pero no la sobrevivencia (Delistraty *et al.*, 1977). Ray y Chien, (1992) investigaron el efecto de la densidades de siembra y el sustrato en *P. monodon* (PL35) y mencionan que los metabolitos tóxicos son proporcionales a la densidad de siembra lo cual afecta directamente la calidad de agua, en particular, el amonio en el agua que incrementó con la densidad de siembra con una concentración promedio de 0.285 mg L<sup>-1</sup>. Estos autores mencionaron que el valor de amonio registrado está por debajo de los niveles de seguridad para esta especie (1.15mg l, Chin y Chen 1987) y concluyeron que el amonio afectó el crecimiento, aun cuando el incremento de amonio fue gradual permitiendo al organismo aclimatarse al ambiente.

De acuerdo con todo esto es posible pensar que en *L. setiferus*, al igual que en otras especies de camarones y langostas el amonio y el nitrito pudieron haber

afectado el crecimiento sin afectar la sobrevivencia simplemente porque los organismos tuvieron la oportunidad de aclimatarse al aumento paulatino de ambas iones a lo largo del experimento. Williams *et al.*, (1996) señalaron que una de las razones para explicar la alta variabilidad en la sobrevivencia en este tipo de estudios es la frecuente pérdida de organismo por salto, posiblemente por estrés como una forma de escape, cuando el ambiente (ya sea por el aumento de la salinidad, el amonio, o el nitrito) o la alta densidad provocan esa respuesta de escape. En el presente estudio aun cuando los tanques estaban tapados con malla los animales lograban saltar y quedar pegados en las paredes del tanque. El salto pudiera estar relacionado como respuesta al escape al canibalismo cuando están mudando, ya que es un periodo en el que el camarón es más susceptible Abdussamad y Thampy, (1994). También la alta variabilidad de la sobrevivencia pudiera estar influenciada por un incremento en la interacción de conducta negativa tal como es el canibalismo. Peterson and Griffith (1999) sugirieron que una de las razones de la reducción en la sobrevivencia de *L. vannamei* a altas densidades fue el canibalismo.

La posible causa de la reducción del crecimiento en los cultivos de camarón en altas densidades pudieran estar relacionadas también con un incremento en la competencia por el mismo espacio y por el alimento y en interacción con los factores ambientales que se establecen de acuerdo con la combinación densidad de siembra y recambio de agua (Maguire y Leedow, 1983; Peterson y Griffith, 1999; Stuart *et al.*, 2006). En el presente estudio se observó que la tasa de recambio experimental más adecuada para el crecimiento de las postlarvas de *L. setiferus* fue de entre 6 y 12%, poniendo en evidencia la existencia de una posible relación entre la tasa de recambio y los requerimientos de las postlarvas de esta especie (PL = 0.83 mg) . En este contexto Rosas *et al.* (1997) y Martínez *et al.* (1998) señalaron que las postlarvas de *L. setiferus* son más sensibles a la disminución del oxígeno disuelto, a variaciones del pH y a la salinidad que los juveniles, lo cual pudiera estar asociado diferencias en los requerimientos de cada fase del ciclo vital. Esto podría ayudar a explicar las diferencias observadas en la tasa de recambio de agua óptima (2.5%) reportada por Hopkins *et al.* (1993) y las obtenidas en el presente

estudio (6 y 12%).

Williams *et al.* (1996), estudiando el efecto de la densidad de siembra en el crecimiento de juveniles tempranos de *L. setiferus* (0.24g) encontraron que la tasa de crecimiento de los camarones se reduce con el aumento de la densidad de siembra con tasas máximas en densidades de entre 28.4 y 56.8 ind m<sup>-2</sup>. Aunque en el presente estudio también se observó que la tasa de crecimiento disminuye con la densidad de siembra sin causar un efecto significativo, los resultados obtenidos mostraron una densidad óptima mayor para postlarvas (50-150 ind m<sup>-2</sup>) que la obtenida para juveniles por Williams *et al.* (1996). Estas diferencias podrían explicarse en relación con las características biológicas y las demandas de espacio y alimento inherentes a cada fase del ciclo de vida de los camarones.

Diferentes investigaciones, han señalado que en la etapa de pre-engorda las postlarvas de la mayoría de las especies cultivadas de camarones pueden ser mantenidas en densidades tan altas de 300 ind m<sup>-2</sup>. Normalmente en condiciones de pre-cría, los camarones son alimentados con dietas combinadas con alimento vivo, lo cual reduce de manera importante los efectos adversos (descomposición del alimento, el aumento de la materia orgánica, aumento de la demanda bioquímica de oxígeno, etc.) que tiene el alimento balanceado en la etapa de engorda (Aquacop y Cuzon, 1989). El manejo de la etapa de pre-cría está basado en el comportamiento de las postlarvas en las áreas de reclutamiento de las lagunas costeras y estuarios. Normalmente en estas áreas las postlarvas se agrupan en grandes densidades al amparo de la cobertura de los pastos marinos, los cuales les proporcionan la materia orgánica y el alimento vivo necesarios para un crecimiento rápido (Wenner y Beatty, 1993). Esto explicaría por qué las postlarvas de *L. setiferus* pueden tolerar las altas densidades óptimas (50 a 150 ind m<sup>-2</sup>) reportadas. En tales circunstancias, la sobrevivencia de las postlarvas dependería de la cantidad de alimento disponible el cual es un factor crucial en esta etapa del desarrollo de los camarones. En el presente estudio la ración de alimento diaria fue establecida con base en el peso inicial de los organismos y cuantificada en función del número de organismos por tanque. Aunque en teoría la cantidad de alimento disponible para todos los camarones era similar, al parece el efecto densidad pudiera alterar la disponibilidad

de alimento, afectando la energía disponible y por ende el crecimiento. Este efecto pudiera ser por dos vías, una a través de la bio-turbación producida por los camarones con la consecuente lixiviación del alimento balanceado y la otra por vía de un incremento de la tasa de consumo de alimento como consecuencia de las presiones ejercidas por la densidad de camarones presentes en el tanque. Estudios llevados a cabo en peces, han demostrado que la densidad afecta la tasa de ingestión del alimento con la consecuente disminución del crecimiento (Evans 1993). Aunque en el presente estudio no se cuenta con las evidencias de un cambio en el comportamiento de los camarones en este sentido, es posible que las presiones de competencia ejercidas en las condiciones experimentales utilizadas ahora, afectaran de manera importante la tasa de crecimiento en densidades por arriba de entre 250 y 350 ind m<sup>-2</sup>.

Para dilucidar estos efectos es necesario realizar estudios de comportamiento y de tasa de ingestión los cuales permitan ayudar a conocer los efectos de la densidad sobre el comportamiento de los camarones en cultivo y sus consecuencias en el crecimiento.

Así los resultados obtenidos en este estudio ponen en evidencia que bajas tasas de recambio pueden alterar significativamente el ambiente del cultivo pues en tales condiciones aumenta la evaporación, con la consecuente concentración de las sales y de los contaminantes.

Considerando la escasa literatura existente en la cual se evalúen los efectos de los factores ambientales producidos por los efectos de la evaporación sobre la fisiología de los camarones en cultivo, se diseñaron una serie de experimentos en los cuales se pretende determinar el efecto combinado de la salinidad y mezclas de concentraciones altas y bajas de amonio nitrito sobre el consumo oxígeno, la excreción nitrogenada y el glucógeno del hepatopáncreas en juveniles tempranos de *L. setiferus*.

## Capítulo II

# **“Efecto de la salinidad en combinación con niveles altos y bajos de amonio - nitrito en el metabolismo energético, en la osmorregulación y en el manejo de reservas en postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus*”**

### **RESUMEN**

Se realizaron dos experimentos con *Litopenaeus setiferus*, uno con postlarvas con 45 días después de la última muda metamórfica (PL<sub>45</sub>) y otro con juveniles con 99 días después de la última muda metamórfica (PL<sub>99</sub>), con una duración de 5 días en tanques de 50L. Se evaluó el efecto de la salinidad (25, 40, 50 y 65 ups) y la combinación de la salinidad con niveles bajos de amonio – nitrito (0.04 mg N-NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> - 0.04 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>) y niveles alto de amonio-nitrito (3.10 mg N-NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> – 6.19 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>) sobre el consumo de oxígeno, la excreción nitrogenada, la razón ON, el glucógeno en la glándula digestiva y la osmorregulación.

El metabolismo respiratorio de las postlarvas fue afectado por la salinidad y las concentraciones de amonio-nitritos, como un reflejo del aumento de la excreción amoniacal, produciendo valores de la razón O:N directamente relacionados con el catabolismo de proteínas. Las reservas de glucógeno se vieron afectadas por la mezcla de amonio- nitrito. Sin embargo en los juveniles, a pesar de resultar afectada la excreción amoniacal por la mezcla de amonio-nitrito, esto no se vio reflejado en la tasa respiratoria de los organismos. Los valores de la razón O:N en los camarones con una mezcla alta de amonio-nitrito dirigieron su catabolismo principalmente a las proteínas y se sugiere como una respuesta de alerta. Las reservas de glucógeno y la presión osmorreguladora resultaron afectadas por la mezcla de amonio –nitrito. Se sugiere realizar estudios más específicos sobre los procesos de reservas y osmorregulación del camarón *L. setiferus*.

## ANTECEDENTES

La cuantificación de los diversos componentes del metabolismo, a través de las mediciones de la actividad fisiológica puede ayudar a esclarecer el estado fisiológico de los organismos. El consumo de oxígeno, la excreción nitrogenada, la razón O:N, el glucógeno y la capacidad osmótica del organismo son indicadores que permiten explicar los cambios del metabolismo asociados a una condición en particular (Rosas *et al.*, 2002).

El consumo de oxígeno es un indicador del metabolismo aerobio de los organismos, y ha sido utilizado para evaluar los ajustes fisiológicos que experimentan las larvas y postlarvas en relación a los factores ambientales (Rosas *et al.*, 1995b; Rosas *et al.*, 1995c). El amonio y el nitrito son los contaminantes más comunes en los sistemas de cultivo. El amonio es un producto de la degradación de las proteínas, siendo un producto excretado por los animales acuáticos. El nitrito se forma a partir del amonio por los procesos de la nitrificación y se acumula en los sistemas acuáticos como resultado de un desequilibrio de la actividad bacteriana nitrificante de *Nitrosomonas sp.* y *Nitrobacter sp.* (Mevel y Chamroux, 1981). Por esa razón el amonio y el nitrito a menudo ocurren simultáneamente en los sistemas de cultivo. El amonio afecta al sistema nervioso ya que es un compuesto neurotóxico capaz de causar fallas en la neurotransmisión, interfiriendo así, en la función nerviosa normal (Meijer, Lamers, y Chamuleau, 1990). El nitrito en crustáceos induce la formación de meta hemocianina, causando hipoxia en el tejido y desajustes en el metabolismo respiratorio de camarones, (Chen, Nan y Kuo 1991; Chen y Chen 1992; Needham 1961).

Altos niveles de amonio y nitrito en el agua son factores potenciales que disparan el estrés en los organismos acuáticos (Lewis y Morris 1986; Wickins J.F. 1976). La mayoría de los estudios con postlarvas de peneidos han sido enfocados hacia los efectos de ambos tóxicos en la mortalidad la cual ha sido determinada como el punto final en experimentos agudos (Chen y Chin 1988; Chen y Lin 1991; Ostrenski y Wasielesky 1995).

Los crustáceos son considerados fundamentalmente amoniotéticos debido a que excretan los desechos nitrogenados como amonio ( $\text{NH}_3$ ) independientemente del hábitat que ocupen (Rosas, *et al.*, 1995b). El amonio es el principal producto excretado del catabolismo de las proteínas en crustáceos y representa el 70% del nitrógeno total eliminado (Claybrook 1983; Quetin, *et al.*, 1980). El metabolismo del nitrógeno es producto de la oxidación de los aminoácidos la cual puede seguir diferentes vías, dependiendo de la conformación de las proteínas del alimento (Mayzaud y Conover 1988). Por esta razón la excreción de nitrógeno, medida como excreción de amonio, resulta ser un buen indicador de la oxidación de los aminoácidos (Rosas, *et al.*, 1995b). La contaminación del amonio frecuentemente está relacionada tanto con la excreción de éste, como con el incremento del alimento no consumido y con un incremento en la densidad de siembra (Véase capítulo I).

Una forma de conocer la naturaleza del sustrato que ha sido oxidado en crustáceos en relación con una dieta determinada es a través de la razón atómica O:N, la cual es calculada a partir del oxígeno consumido y el amonio excretado (Dall y Smith 1986; Mayzaud y Conover 1988; Rosas, *et al.*, 1995b). La estimación de la razón O:N puede proporcionar información sobre la estrategia nutricional de los camarones debido a que éstos organismos tienen una limitada capacidad de almacenamiento de nutrientes.

De acuerdo con Mayzaud y Conover (1988), los intervalos de la razón O:N entre 3 y 16 corresponden al catabolismo de proteínas; valores entre 50 y 60 corresponden al catabolismo en iguales proporciones de proteínas (50%) – lípidos y carbohidratos (50%) y valores mayores a 60 corresponden al catabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. Se han realizado investigaciones sobre *L. setiferus* que se enfocaron al conocimiento ecológico, fisiológico, (Rosas, *et al.*, 1997; Rosas, *et al.*, 1995c; Rosas *et al.*, 1998), nutricional (Gallardo *et al.*, 1995; Gaxiola 1994; Rosas, *et al.*, 1995b; Rosas *et al.*, 1996; Rosas, 1998) y genético (Arena, 1999) de esta especie. Como resultado de estas investigaciones ha sido posible implementar bases para la producción de postlarvas en ambientes controlados, así como el manejo de larvas y postlarvas en condiciones de cautiverio

(Gallardo, *et al.*, 1995; Rosas *et al.*, 2001; Rosas, *et al.*, 1999b; Rosas *et al.*, 1999a; Rosas, *et al.*, 1998). En el capítulo I de este trabajo se observó que en condiciones de alta densidad y bajo recambio, la salinidad, los niveles de amonio y nitrito pudieran ser los responsables de las bajas sobrevivencias y crecimientos observados en camarones cultivados. Tomando en cuenta ese antecedente y el conocimiento generado para el cultivo de *L. setiferus* el presente estudio ha sido enfocado para contestar la siguiente pregunta:

### **Pregunta de investigación**

¿De qué forma la combinación de la salinidad, el amonio y el nitrito modulan la condición fisiológica (medida a partir del metabolismo energético, la regulación osmótica y el manejo de las reservas de glucógeno) en camarones en cultivo?

### **HIPÓTESIS**

Si se ha observado que en condiciones de bajo recambio de agua en sistemas experimentales de cultivo la salinidad aumenta progresivamente y que en alta densidad esta condición es acompañada también con un aumento en los niveles de amonio y nitrito, es de esperar que al exponer a los juveniles de camarón simultáneamente a los efectos combinados de la salinidad, amonio y nitrito se puedan identificar las formas en que el metabolismo energético (consumo de oxígeno, excreción de amonio), la utilización de las proteínas como soporte energético (razón O:N), la disposición de reservas de glucógeno y la regulación osmótica son utilizadas con el fin de mantener la homeostasis.

Para probar esta hipótesis se plantearon los siguientes objetivos particulares.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1) Conocer los efectos de la salinidad en combinación con mezclas altas y bajas de amonio - nitrito sobre el consumo de oxígeno, la excreción nitrogenada y la razón ON como una forma de explicar cómo esos factores ambientales modulan el metabolismo de los camarones en cultivo.

2) Conocer los efectos de la salinidad en combinación con mezclas altas y bajas de amonio - nitrito sobre los niveles de glucógeno de la glándula digestiva de postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus* como una forma de establecer cómo esos factores ambientales modulan el uso y aprovechamiento de las reservas.

3) Conocer los efectos de la salinidad en combinación con mezclas altas y bajas de amonio - nitrito sobre la capacidad osmótica de juveniles de *Litopenaeus setiferus* mantenidos en condiciones de laboratorio cómo una forma de establecer cómo esos factores modulan los procesos involucrados en la osmorregulación.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Origen de los animales**

Se realizaron dos experimentos, uno con postlarvas (PL<sub>45</sub>) y otro con juveniles (PL<sub>99</sub>). Estos animales corresponden a los animales mencionados en el capítulo I. Las condiciones de mantenimiento de estos animales fueron las siguientes: temperatura de  $31 \pm 2$  °C, salinidad de  $35 \pm 2$  ups, recambio de agua diario del 15 al 20 %, alimentación con una dieta balanceada con 40 % de proteína con un tamaño de partícula  $> 500 \mu\text{m}$  la cual se proporcionó tres veces al día (Ver Cap. I, Tabla 2). Los animales fueron capturados del estanque externo con red y posteriormente fueron transferidos al área experimental en donde se aclimataron a las condiciones experimentales de acuerdo al protocolo que se describe a continuación.

## **Criterios para establecer las variables experimentales**

Las variables de este experimento fueron: salinidades de 25, 40, 50 y 65 ups; mezclas bajas de amonio- nitrito ( $0.04\text{mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$  -  $0.04\text{g NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) y mezclas altas de amonio- nitrito ( $3.10 \text{ mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$  -  $6.19 \text{ mg NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ). Considerando que la salinidad tuvo una variación entre 30 – 93 ups, se decidió trabajar con 25 ups como óptimo y tres salinidades por arriba de éste, 40, 50, y 65 ups. Estos valores fueron los máximos y mínimos obtenidos de los resultados registrados de los parámetros fisicoquímicos del agua del primer experimento de crecimiento y sobrevivencia en postlarvas de *L. setiferus*, (Capítulo I).

## **Diseño experimental**

Se diseñaron 2 experimentos, uno con postlarva 45 (PL<sub>45</sub>) y otro con juveniles (PL<sub>99</sub>).

1.- El diseño experimental consistió en exponer por un periodo de 5 días a las postlarvas a cuatro salinidades diferentes (25, 40, 50 y 65 ups) considerándose este el grupo control , así como a la combinación de la salinidad (25, 40, 50 y 65 ups) con una mezcla baja de amonio - nitrito ( $0.04\text{mgNH}_3 \text{ L}^{-1}$  -  $0.04\text{g NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) y a la combinación de la salinidad (25, 40, 50 y 65 ups) con una mezcla alta de amonio – nitrito ( $3.10 \text{ mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$  -  $6.19 \text{ mg NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ). Este diseño tuvo como resultado 12 tratamientos diferentes, esto es, cuatro salinidades diferentes correspondientes al Control, cuatro salinidades diferentes y cada una de ellas con una mezcla baja de amonio – nitrito (MBa-n) y cuatro salinidades diferentes y cada una de ellas con una mezcla alta de amonio – nitrito (MAa-n), (Tabla 1).

2.- El diseño experimental para juveniles consistió en exponer por un periodo de 5 días a los juveniles a tres salinidades diferentes (25, 40 y 50 ups) considerándose este el grupo control, así como a la combinación de la salinidad (25, 40, 50ups) con una mezcla baja de amonio - nitrito ( $0.04\text{mgNH}_3 \text{ L}^{-1}$  -  $0.04\text{g NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) y a la combinación de la salinidad (25, 40, 50 ups) con una mezcla alta de amonio – nitrito ( $3.10 \text{ mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$  -  $6.19 \text{ mg NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ). Este diseño tuvo como resultado nueve tratamientos diferentes, esto es, tres salinidades diferentes correspondientes al

control, tres salinidades diferentes y cada una de ellas con una mezcla baja de amonio – nitrito (MB a-n) y tres salinidades diferentes y cada una de ellas con una mezcla alta de amonio – nitrito (MA a-n), (Tabla 1).

Tabla 1.- Diseño experimental. Se definieron tres tratamiento 1.- El Control que fue la salinidad (40, 25, 50 y 65). 2.- La salinidad con unas mezclas baja de amonio - nitrito (MB a-n). 3.- La salinidad con una mezclas altas de amonio – nitrito (MA a-n). Los números dentro de la tabla corresponden a la salinidad (ups) a la cual se ajustó por día cada tratamiento hasta alcanzar la concentración deseada. La parte sombreada corresponde a cinco días de exposición a la condición experimental establecida y F corresponde al día que se realizó la evaluación de los índices fisiológicos.

Condición experimental		Tiempo (días)																				
Salinidad	Tratamientos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
* • 40	Control	37	40						F													
	MB a-n		37	40						F												
	MA a-n			37	40						F											
* • 25	Control		37	32	28	25						F										
	MB a-n			37	32	28	25						F									
	MA a-n				37	32	28	25						F								
* • 50	Control				37	41	44	47	50						F							
	MB a-n					37	41	44	47	50						F						
	MA a-n						37	41	44	47	50						F					
* 65	Control			37	41	44	47	50	53	56	59	62	65						F			
	MB a-n				37	41	44	47	50	53	56	59	62	65						F		
	MA a-n					37	41	44	47	50	53	56	59	62	65						F	

\* Tratamientos con postlarvas  
 • Tratamientos con juveniles

## Montaje del experimento

Para la realización del experimento con postlarva se utilizaron 12 tanques experimentales de 50 l y nueve tanques para el experimento con juveniles. Los tanques se acondicionaron con aireación constante regulada y se cubrieron con una malla de luz de 2mm para evitar el salto de las postlarvas. Los parámetros fisicoquímicos como la temperatura ( $27^{\circ} \text{C} \pm 1$ ), el oxígeno disuelto ( $5.7 \pm 0.85 \text{ mg L}^{-1}$ ) y el pH (8.3) se mantuvieron regulados.

El primer experimento se realizó con postlarvas con 45 días después de la última muda metamórfica (PL<sub>45</sub>) con una siembra de 45 postlarvas por tanque. Para el segundo experimento con juveniles se montó siguiendo la misma estrategia, sólo que la densidad de siembra se modificó a 40 postlarvas con 99 días después de la última muda metamórfica (PL<sub>99</sub>) por tanque.

Para preparar el agua de mar de cada tratamiento, se consideró el criterio de incrementar o bajar la salinidad entre 3 y 5 ups por día (Rosas, *et al.*, 1999b) hasta obtener la salinidad deseada, considerando que la salinidad de la toma de agua en el laboratorio fue de 37 ups (Tabla 1). Para aumentar la salinidad se utilizó sal marina natural proveniente de la salinera de Yucatán "Las Coloradas". Para bajar la salinidad se utilizó agua destilada. El agua de cada tratamiento fue recambiada un 20% todos los días tomando en cuenta los niveles de salinidad y amonio-nitrito experimentales.

Siguiendo el diseño experimental (Tabla 1) se montaban los tratamientos correspondientes sembrando los camarones e incrementando o bajando la salinidad según fuera el caso. Una vez alcanzada la salinidad deseada comenzaban los cinco días de exposición al tratamiento ya sea a la salinidad únicamente (control) o a la mezcla baja de amonio-nitrito ( $0.04 \text{ mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1} - 0.04 \text{ mg NO}_2 \text{ L}^{-1}$ ) o a la mezcla alta de amonio-nitrito ( $3.10 \text{ mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1} - 6.12 \text{ mg NO}_2 \text{ L}^{-1}$ ). Al sexto día se realizaron las evaluaciones fisiológicas que consistieron en la medición de consumo de oxígeno, excreción nitrogenada, determinación del glucógeno en la glándula digestiva así como la presión osmótica de la hemolinfa.

## **Alimentación**

Los organismos fueron alimentados con una dieta balanceada microparticulada con un 40% de proteína. El alimento fue preparado de acuerdo a la formulación propuesta por (Gaxiola, 1994) (Tabla 2, Cap. I). El alimento se proporcionó dos veces al día (8:00 am y 8:00 pm). En el experimento con postlarvas (PL<sub>45</sub>) los animales fueron alimentados a razón del 8% del peso corporal. La ración diaria se calculó con el peso promedio de 50 PL<sub>45</sub> (0.00107 g ind<sup>-1</sup>). Este valor se consideró como el 100% de la biomasa corporal y se utilizó para calcular la cantidad de alimento a suministrar por tanque. Así, se obtuvo que para una biomasa de 45 postlarvas al 8% del peso corporal se suministraran 3.852 mg por día y 1.926 mg por toma.

En el segundo experimento, los juveniles fueron alimentados a razón del 10% de su peso corporal tomando en cuenta el peso promedio de 50 juveniles (PL<sub>99</sub>) con un peso individual de 1.3174 g ind<sup>-1</sup>. El número de animales por tanque fue de 40 lo que correspondió a una biomasa de 52.7g por tanque. Este valor se consideró como el 100% de la biomasa por tanque. Así el 10% por tanque fue de 5.3 g por tanque, el cual se dividió en dos raciones diarias de 2.63 g cada una.

## **Evaluación de índices fisiológicos**

Una vez cumplidos los cinco días de exposición a la condición experimental, al sexto día se realizaron simultáneamente todas las mediciones, tanto de consumo de oxígeno, de excreción nitrogenada, de glucógeno en hepatopáncreas y la medición de la capacidad osmorreguladora.

### **1.- Experimento con postlarvas**

#### **1. 1. Consumo de oxígeno en postlarvas**

Al quinto día de exposición al tratamiento a las 8 pm se tomaron diez camarones con red del tanque experimental y se colocaron individualmente en cámaras metabólicas, en donde permanecieron sin alimento por 12 horas. Las mediciones del consumo de oxígeno, así como las de excreción nitrogenada, se realizaron en

un sistema cerrado, que consistía de 12 cámaras respirométricas de vidrio (50ml), conectadas entre sí con manguera de látex y a su vez a un sistema de circulación de agua para controlar la temperatura a 27°C. Diez cámaras contenían una postlarva y la cámara once era el control sin organismo. Se contó con un reservorio con agua de mar del tratamiento a trabajar (salinidad, con o sin la mezcla alta o baja de amonio – nitrito) para realizar cada hora después de cada medición recambios del 100% de forma manual por medio de una manguera.

La evaluación del consumo de oxígeno se realizó a partir de la diferencia entre la concentración de oxígeno inicial y final utilizando un oxímetro (Strathkelvin Instruments modelo 781) con un micro electrodo de alta sensibilidad ( $\pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ). El electrodo se introdujo en cada cámara de tal forma que la membrana funcionaba como tapa de ésta. La medición del consumo de oxígeno se realizó haciendo un seguimiento de la disminución de la concentración de oxígeno en un intervalo de 5 minutos.

## **1. 2. Excreción nitrogenada en postlarvas**

Las muestras para medir el amonio se tomaron simultáneamente al consumo de oxígeno. Se evaluaron en recipientes de 5 ml que se tomaron antes y después del sellado de cada cámara, utilizando las técnicas de azul de indofenol (435nm) y de sulfanilamida (690nm). APHA, (1992). Las evaluaciones se realizaron durante 5 horas consecutivas. Primera medición en ayuno (animales sin alimentar durante 12 horas) como valor inicial. Después de realizar las mediciones en ayuno se alimentaron considerando la ración establecida, una hora después, se retiró el alimento remanente, se recambió el agua y se realizaron las subsecuentes mediciones después de alimentados (cuatro mediciones cada hora después de ser alimentados). Al término de las mediciones los camarones fueron colocados individualmente en papel aluminio para secarlos a 60°C por 48 hrs. Posteriormente se pesaron individualmente para obtener el peso seco en una balanza analítica.

### **1. 3. Razón O:N en postlarvas**

La razón O:N se calculó a partir de la conversión de los datos de consumo de oxígeno y excreción nitrogenada en sus equivalentes atómicos ( $\mu\text{gAt O}_2 / \mu\text{gAt N}$ ).

### **1. 4. Glucógeno en la glándula digestiva en postlarvas**

Simultáneamente a las mediciones de consumo de oxígeno y excreción, se evaluó el glucógeno en hepatopáncreas con camarones en ayuno (primera hora) y con camarones alimentados por 3 horas seguidas. A los mismos animales que se les tomaba la muestra de hemolinfa para evaluar la presión osmótica posteriormente se les realizó una disección para extraer el hepatopáncreas, se pesaba y colocaba en un tubo eppendorf que contenía 200 $\mu\text{l}$  de ácido tricloroacético (TCA). El procedimiento para evaluar el glucógeno en hepatopáncreas se basó en la técnica propuesta por Dubois, *et al.* (1965): Para esto el tejido fue homogenizado en TCA y luego centrifugado a 7000 rpm durante 6 minutos. Posteriormente se tomaron muestras de 15 $\mu\text{l}$  del sobrenadante que se colocaron en un tubo eppendorf con 75 $\mu\text{l}$  de alcohol etílico al 95%. Después de un tiempo de reposo, las muestras se colocaron en una estufa a 37-40 ° C durante 3 hrs. Posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 7000 rpm por 15 min. El sobrenadante fue desechado y el tubo fue escurrido de forma invertida por 2 min. Se agregaron 20  $\mu\text{l}$  de agua destilada hirviendo para disolver el glucógeno, 200  $\mu\text{l}$  de fenol al 5 % y 1000  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_5\text{SO}_4$  concentrado. El contenido del glucógeno se midió en un espectro fotómetro a una absorbancia de 490 nm (Spectronic 21D). Los blancos se preparan con 20  $\mu\text{l}$  de agua destilada hervida, 200 $\mu\text{l}$  de fenol al 5%, 1000 $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_5\text{SO}_4$  concentrado, y se utilizaron 10  $\mu\text{l}$  de glucógeno como concentración patrón.

## **2.- Experimento con juveniles**

### **2. 1. Consumo de oxígeno en juveniles**

Al quinto día de exposición al tratamiento, a las 8 pm se tomaron nueve camarones

con red del tanque experimental y se colocaron uno en cada cámara metabólica, en donde permanecieron sin alimento por 12 horas. Se utilizó un respirómetro de flujo con un sistema de circuito abierto, con diez cámaras respirométricas de acrílico de 400 ml; nueve de ellas contenían un camarón y la décima cámara fue el control sin organismo. El respirómetro contó con un reservorio de 30 L de agua de mar a la salinidad deseada con/sin la mezcla alta o baja de amonio - nitrito, según fuera el tratamiento. Este reservorio contaba con diez salidas de agua que pasaban por una bomba peristáltica que regulaban la entrada de agua a cada una de las cámaras. El agua de salida de las cámaras se canalizó hacia un filtro biológico que contenía una bomba de agua, que la reciclaba.

Cada hora se reguló el flujo de salida de agua de cada cámara mediante un matraz de 25 ml y un cronómetro. El consumo de oxígeno se midió con un oxímetro modelo YSI 50B conectado a un electrodo polarográfico calibrado con agua de mar a saturación ( $\pm 0.01 \text{ mg l}^{-1}$ ), tomando una muestra de 20 ml a la entrada y salida de cada cámara, tomándose el mismo criterio de tomar muestras en ayuno (primera medición sin alimentar por 12 horas) y después de alimentados (5 horas consecutivas). El consumo de oxígeno se calculó a partir de la diferencia entre las concentraciones de oxígeno a la entrada  $[\text{O}_2]_e$  y salida  $[\text{O}_2]_s$  de cada cámara, tomando en cuenta el flujo (TF; L/h) y el peso seco de los camarones:  $\text{VO}_2 = ([\text{O}_2]_e - [\text{O}_2]_s) * \text{TF}/\text{peso seco}$

## 2. 2. Excreción nitrogenada en juveniles

El amonio y el nitrito se midieron en muestras de 5 ml de acuerdo a las técnicas de azul de indofenol y de sulfanilamida APHA, (1992). Los resultados del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada fueron expresados en ambos casos como  $\text{mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ ps}$  y  $\text{mg N-NH}_3 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ ps}$ , respectivamente. La excreción nitrogenada se obtuvo a partir de la ecuación:  $\text{N-NH}_3 = [\text{NH}_3]_s - [\text{NH}_3]_e * \text{TF}/\text{peso seco}$

Donde  $[\text{NH}_3]_s$  es la concentración de amonio a la entrada de la cámara ( $\text{mg L}^{-1}$ ),  $[\text{NH}_3]_e$  es la concentración de amonio a la salida  $\text{mg L}^{-1}$  y TF es el flujo ( $\text{L h}^{-1}$ ).

El peso seco (ps) de los camarones se obtuvo al colocar a los camarones provenientes del respirómetro en una estufa a 60°C hasta obtener el peso constante 48 hrs.

### **2. 3. Razón O:N en juveniles**

La razón O:N se calculó a partir de la conversión de los datos de consumo de oxígeno y excreción nitrogenada en sus equivalentes atómicos ( $\mu\text{gAt O}_2/ \mu\text{gAt N}$ ).

### **2. 4. Glucógeno en la glándula digestiva en juveniles**

Se siguió la misma técnica mencionada para postlarvas (4 a)

### **2. 5. Osmolaridad de la hemolinfa ( $\text{mOsmol kg}^{-1}$ ) en juveniles**

La osmolaridad de la hemolinfa únicamente se midió en los juveniles ya que en las postlarvas no fue posible obtener muestras de sangre lo suficientemente grandes como para realizar estas mediciones. Simultáneamente a las mediciones de consumo y excreción se evaluó la osmolaridad de la hemolinfa a partir de muestras de sangre tomadas a animales en ayuno y en camarones alimentados por un periodo de 6 horas consecutivas. Cada hora se tomaron cinco camarones con una red de acuario y se colocaban en un recipiente con agua de mar del mismo tratamiento, se le bajaban súbitamente la temperatura en 5°C, con el fin de disminuir el metabolismo y así disminuir el estrés que se pudiera provocar por la manipulación. Después de 5 minutos se tomó una muestra de 20  $\mu\text{l}$  de hemolinfa con una jeringa de insulina. Esta muestra se tomaba del seno venoso, ubicado en la parte ventral justo por debajo de la cámara branquial. Esta muestra fue analizada en un micro - osmómetro (modelo 3MO plus). Al mismo tiempo se determinó la osmolaridad el agua de mar con el fin de calcular la capacidad osmorreguladora de los organismos experimentales.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se realizó un análisis de varianza de dos vías para evaluar el efecto de los tratamientos sobre cada respuesta fisiológica medida. Se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos (Zar 1974).

## RESULTADOS

Para definir los diferentes tratamientos se utilizaron las siguientes abreviaturas: Tratamientos con solo salinidad (Control), tratamientos salinidad más la mezcla baja de amonio - nitrito (MB a-n), tratamientos salinidad más la mezcla alta de amonio – nitrito (MA a-n).

### 1.- Experimento con postlarvas

#### 1. 1. Consumo de oxígeno en postlarvas

El consumo de oxígeno de las postlarvas se vio afectado significativamente por la salinidad, así como por la combinación de niveles altos y bajos de amonio-nitrito y por la interacción entre la salinidad y las mezclas bajas y altas de amonio – nitrito ( $P < 0.05$ ).

El intervalo de consumo de oxígeno fue de entre 2.74 a 14.19  $\text{mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ ps}$ . Los niveles más altos de consumo de oxígeno se obtuvieron con los tratamientos con 40 y 65 ups con una (MB a-n) con valores de 14.19 y 12.12  $\text{mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ ps}$ , respectivamente, estos valores resultaron ser significativamente mayores ( $P < 0.05$ ) a los obtenidos en los tratamientos con 25 ups control y (MA a-n), 50 ups con (MB a-n) y 65ups con (MA a-n) con valores de 5.3, 2.74 , 5.55 y 6.08  $\text{mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ ps}$ , respectivamente, (Fig. 1). Se puede observar en el caso de los tratamientos control con las diferentes salinidades y los tratamientos que se sometieron a diferentes salinidades con (MA a-n) que el consumo de oxígeno incrementa conforme incrementa la salinidad y baja su consumo de oxígeno a 65 ups sin llegar hacer significativo (Fig. 1).

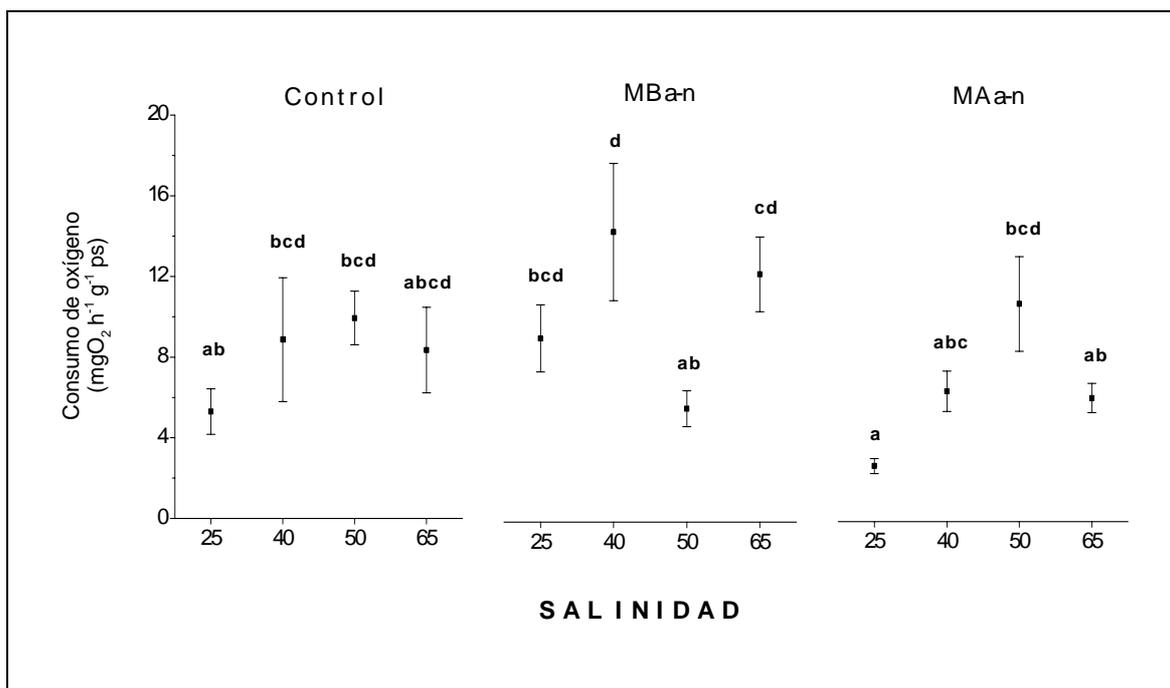


Fig. 1. Consumo de oxígeno en postlarvas de *Litopenaeus setiferus*, expuestas por un periodo de cinco días a tres tratamientos: 1.- Diferentes salinidades (25, 40, 50, 65ups) = Control. 2.- Diferentes salinidades con una mezcla baja de amonio-nitrito (MB a-n). 3.- Diferentes salinidades con una mezcla alta de amonio-nitrito (MA a-n). Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamiento. Promedio  $\pm$  Error Estándar.

## 1. 2. Excreción nitrogenada en postlarvas

La salinidad, como la mezcla alta y baja de amonio-nitrito y la interacción entre la salinidad y la mezcla alta y baja de amonio-nitrito tuvieron un efecto significativo sobre la excreción de amonio en las postlarvas ( $P < 0.05$ ; Fig. 2).

El intervalo de la excreción de amonio en las postlarvas fue de 1.77 a 5.87 mgN-NH<sub>3</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> ps, valores que corresponden a los tratamientos donde las postlarvas estuvieron a 40 ups con (MA a-n) y con (MB a-n), respectivamente.

No se observó ningún patrón de comportamiento con respecto a la salinidad. Los valores de excreción de amonio (4.76, 5.87, 5.07, 3.85 y 4.30 mgN-NH<sub>3</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> ps) correspondientes a los tratamientos de 65 ups control, 40, 50 y 65 con una (MB a-n) y 65 ups con una (MA a-n) fueron significativamente más altos que los obtenidos con los tratamientos Control con 25 y 50ups, 25ups con (MB a-n) y 40 ups con (MA

a-n) con valores de 1.78, 2.06, 2.07 y 1.77 mgN-NH<sub>3</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> ps, respectivamente (Fig. 2).

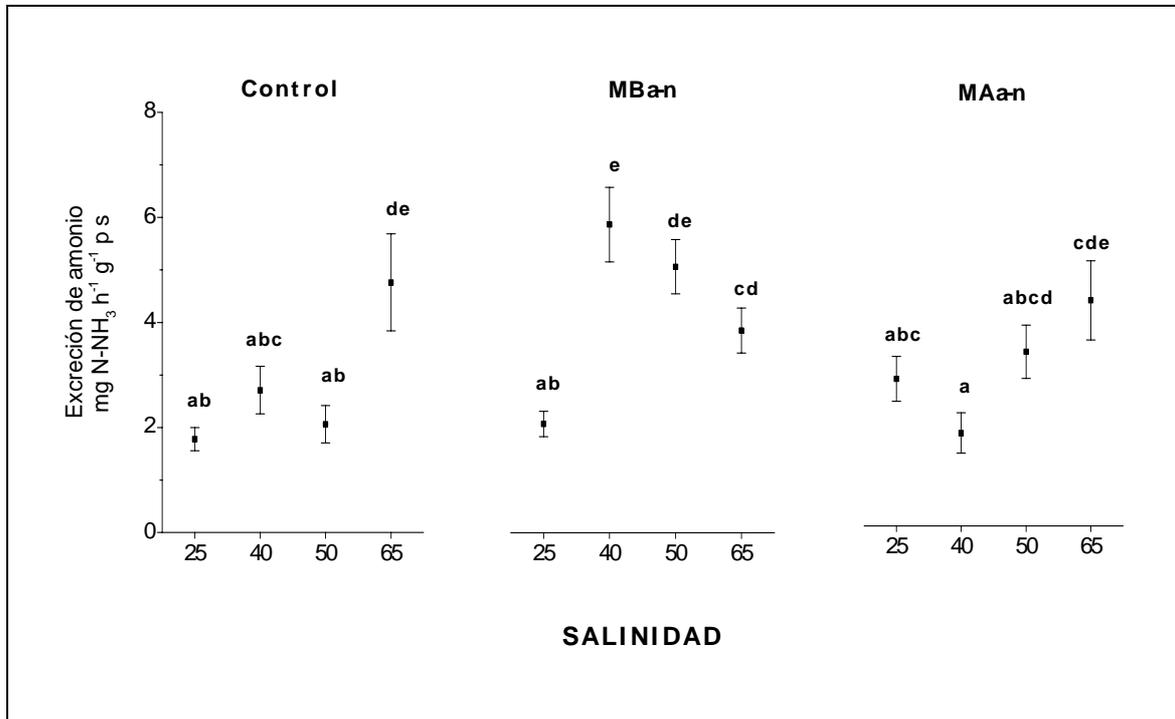


Fig. 2. Excreción de amonio en postlarvas de *Litopenaeus setiferus*, expuestas por un periodo de cinco días a tres tratamientos: 1.- Diferentes salinidades (25, 40, 50, 65ups) = Control. 2.- Diferentes salinidades con una mezcla baja de amonio-nitrito (MB a-n). 3.- Diferentes salinidades con una mezcla alta de amonio-nitrito (MA a-n). Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamiento. Promedio  $\pm$  Error Estándar.

### 1. 3. Razón O:N en postlarvas

La razón O:N mostró que las postlarvas mantenidas en diferentes salinidades con mezclas de concentraciones bajas y altas de amonio-nitrito, así como las del grupo control presentaron un metabolismo dirigido al catabolismo principalmente de proteínas con un intervalo entre 1.04 a 5.11 (Fig. 3).

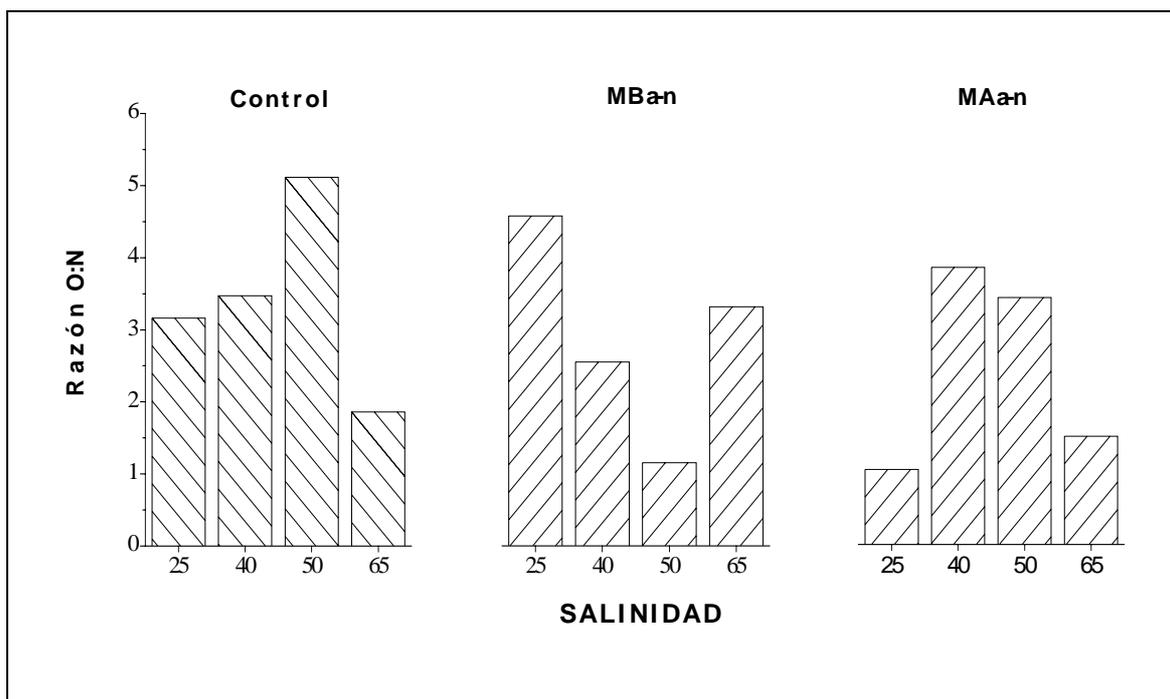


Fig. 3. Razón O:N en postlarvas de *Litopenaeus setiferus* expuestas por un periodo de cinco días a tres tratamientos: 1.- Diferentes salinidades (25, 40, 50, 65ups) = Control. 2.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla baja de amonio-nitrito (MB a-n). 3.- Diferentes salinidades en combinación a una mezcla alta de amonio-nitrito (MA a-n).

#### 1. 4. Glucógeno en hepatopáncreas en postlarvas

La salinidad no tuvo un efecto significativo sobre los niveles de glucógeno, sin embargo, la mezcla de amonio – nitrito y la interacción entre la salinidad y la mezcla de amonio-nitrito si tuvieron un efecto significativo sobre el glucógeno ( $P < 0.05$ ).

En general el glucógeno estuvo dentro de un intervalo entre 5.4 a 75.15 mg g<sup>-1</sup> de tejido.

Los niveles de glucógeno de los camarones del grupo control con 25, 40 y 50 ups , así como el de los camarones que se mantuvieron a 25, 40 y 65 ups con (MB a-n) y el de los camarones a 65 ups con (MA a-n) no tuvieron diferencias significativas entre ellos con un intervalo entre 25.67 a 41.76 mg g<sup>-1</sup> de tejido ( $P > 0.05$ ; fig. 4; tabla 3), sin embargo, estos tratamientos si fueron significativamente diferentes a los niveles de glucógeno de los camarones mantenidos a 65ups control, 25 y 40ups

con (MA a-n) con valores de 7.66, 75.15 y 5.4 mg g<sup>-1</sup> de tejido, respectivamente ( $P < 0.05$ ; fig. 4; tabla 3).

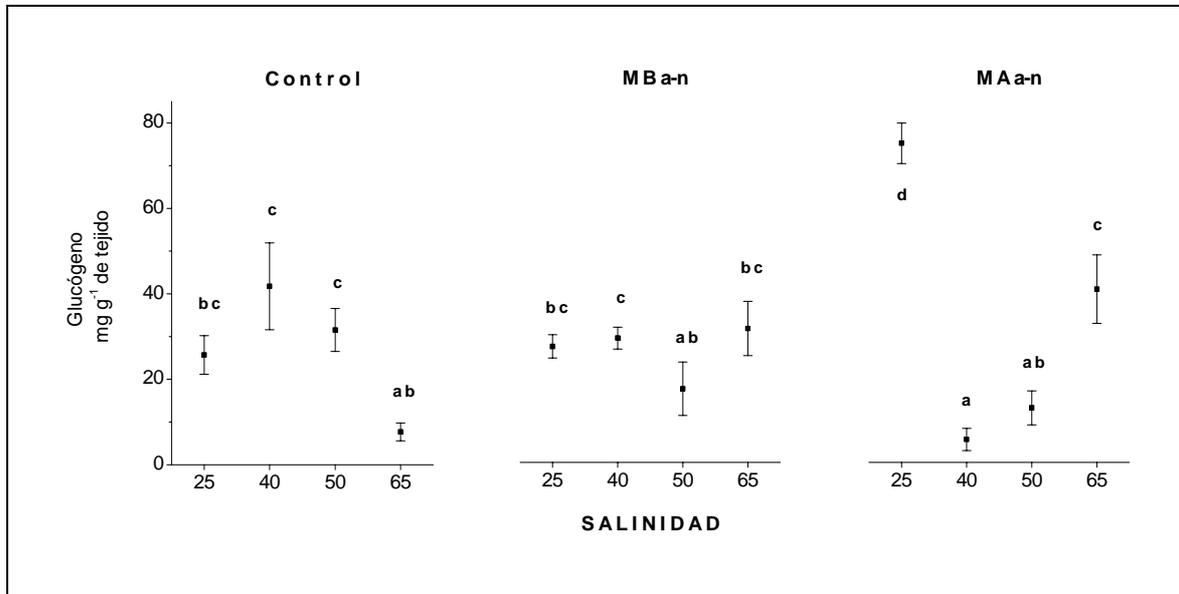


Fig. 4. Glucógeno en glándula digestiva (hepatopáncreas) en postlarvas de *Litopenaeus setiferus*, expuestas por un periodo de cinco días a tres tratamientos: 1.- Diferentes salinidades (25, 40, 50ups) = Control. 2.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla baja de amonio-nitrito (MB a-n). 3.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla alta de amonio-nitrito (MA a-n). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamiento. Promedio  $\pm$  Error Estándar.

## 2.- Experimento con juveniles

### 2. 1. Consumo de oxígeno en juveniles

El consumo de oxígeno no se vio afectado significativamente por la salinidad, ni por las mezclas altos o bajas de amonio- nitrito y ni por la interacción entre la salinidad y las mezclas de amonio nitrito (Fig. 5;  $P > 0.05$ ).

El consumo de oxígeno presentó un intervalo de entre 5.28 a 9.23 mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> ps, obteniendo los valore más alto cuando los camarones fueron mantenidos a 40 y 50 ups del grupo control y el valor más bajo en el tratamiento con 40 ups con (MB a-n), (Fig. 5).

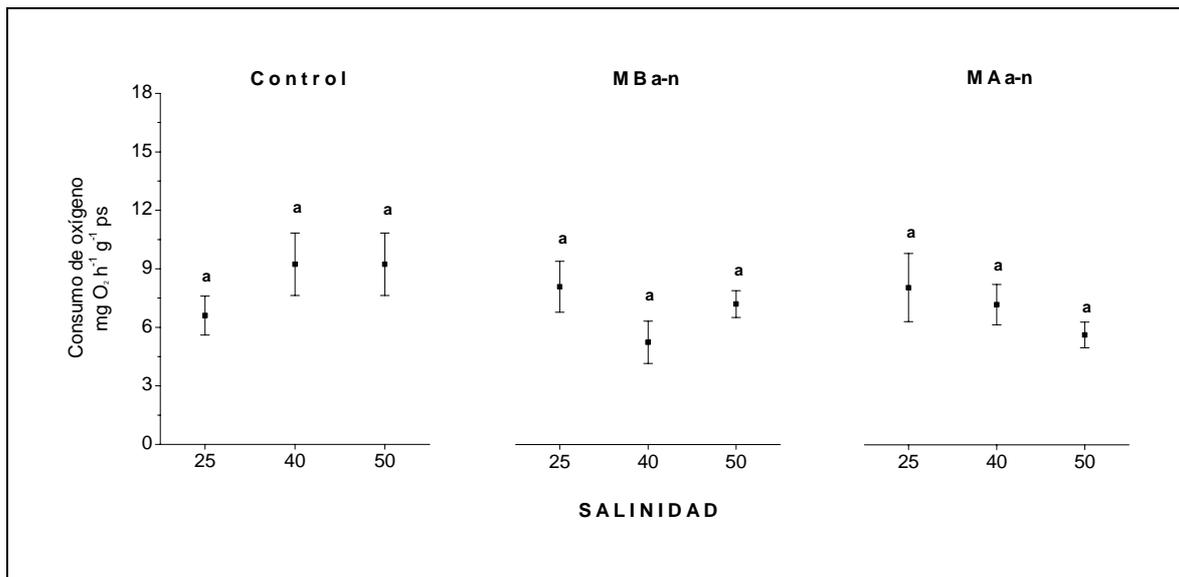


Fig. 5. Consumo de oxígeno en juveniles de *Litopenaeus setiferus*, expuestas por un periodo de cinco días a tres tratamientos: 1.- Diferentes salinidades (25, 40, 50ups) = Control. 2.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla baja de amonio-nitrito (MB a-n). 3.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla alta de amonio-nitrito (MA a-n). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamiento. Promedio  $\pm$  Error Estándar.

## 2. 2. Excreción nitrogenada en juveniles

La excreción de amonio de los juveniles fue afectada significativamente únicamente por la mezcla de amonio-nitrito ( $P < 0.05$ ), pero no por la salinidad ni por la interacción entre la salinidad y las mezclas de amonio-nitrito ( $P > 0.05$ ).

El intervalo de la excreción de amonio de los tratamientos fue de 0.12 a 0.44 mgN-NH<sub>3</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> ps. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos control y los tratamientos con diferentes salinidades con (MB a-n) obteniendo un intervalo de 0.12 a 0.17 mgN-NH<sub>3</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> ps.

Los valores más altos se obtuvieron cuando los camarones fueron expuestos a 25, 40 y 50 ups con (MA a-n), con valores de (0.34, 0.29 y 0.44 mgN-NH<sub>3</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> ps), respectivamente resultando ser significativamente más altos que los obtenidos en los tratamientos control y tratamientos con diferentes salinidades con (MB a-n) ( $P < 0.05$ , Fig.6).

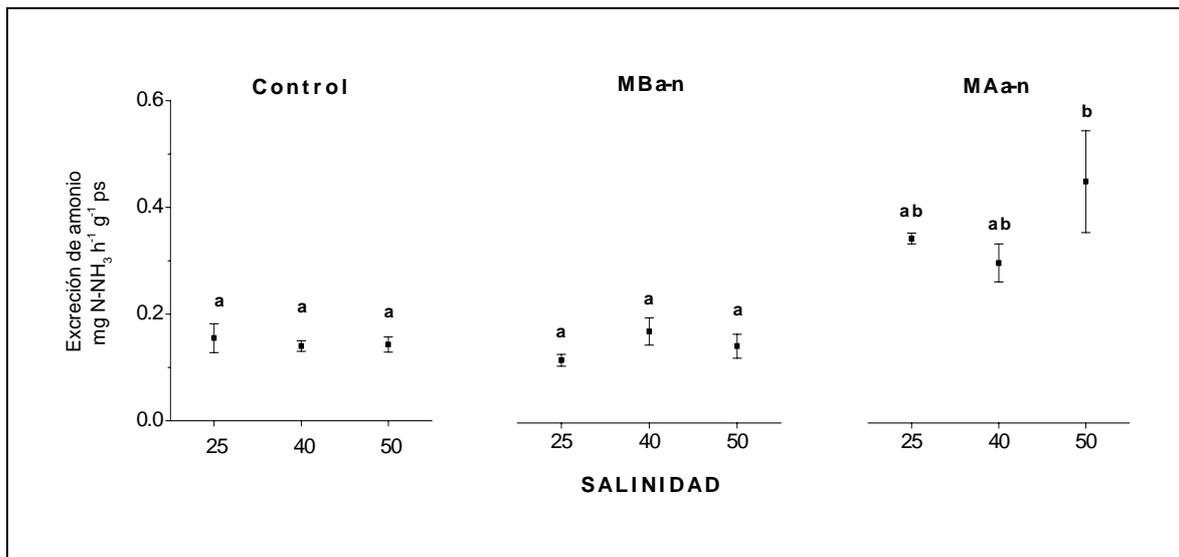


Fig. 6. Excreción nitrogenada en juveniles de *Litopenaeus setiferus*, expuestos por un periodo de cinco días a tres tratamientos: 1.- Diferentes salinidades (25, 40, 50ups) = Control. 2.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla baja de amonio-nitrato (MB a-n). 3.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla alta de amonio-nitrato (MA a-n). Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamiento. Promedio  $\pm$  Error Estándar.

### 2. 3. Razón O:N en juveniles

La razón O:N de los juveniles de *L. setiferus* fue afectada por la condición experimental,

Obteniendo un intervalo de entre 13.53 a 74.66.

Se puede observar que en el grupo control con una salinidad de 25 ups que su metabolismo estuvo dirigido al catabolismo de proteínas, lípidos - carbohidratos (42.24), con una salinidad de 40 ups el metabolismo estuvo dirigido en iguales proporciones al catabolismo de proteínas -lípidos - carbohidratos (57.41) y con 50 ups los camarones catabolizaron lípidos - carbohidratos y proteínas en menor proporción (68.72). Se observa que en los camarones que se mantuvieron con una (MB a-n) con 25ups dirigieron su metabolismo para catabolizar lípidos - carbohidratos y en menor proporción proteínas (74.66), con 40 ups utilizaron proteínas y lípidos-carbohidratos (33.13) y con 50 ups dirigieron su metabolismo al catabolismo de proteínas, lípidos-carbohidratos en igual proporción. Los camarones

que se mantuvieron con una (MA a-n) con 25y 40 ups utilizaron en su catabolismo proteínas y en menor proporción lípidos – carbohidratos (25.35 y 26.04) y con 65ups con (MAa-n) dirigieron su catabolismo hacia las proteínas principalmente con un valor de 13.53, (Tabla 2, Fig.7).

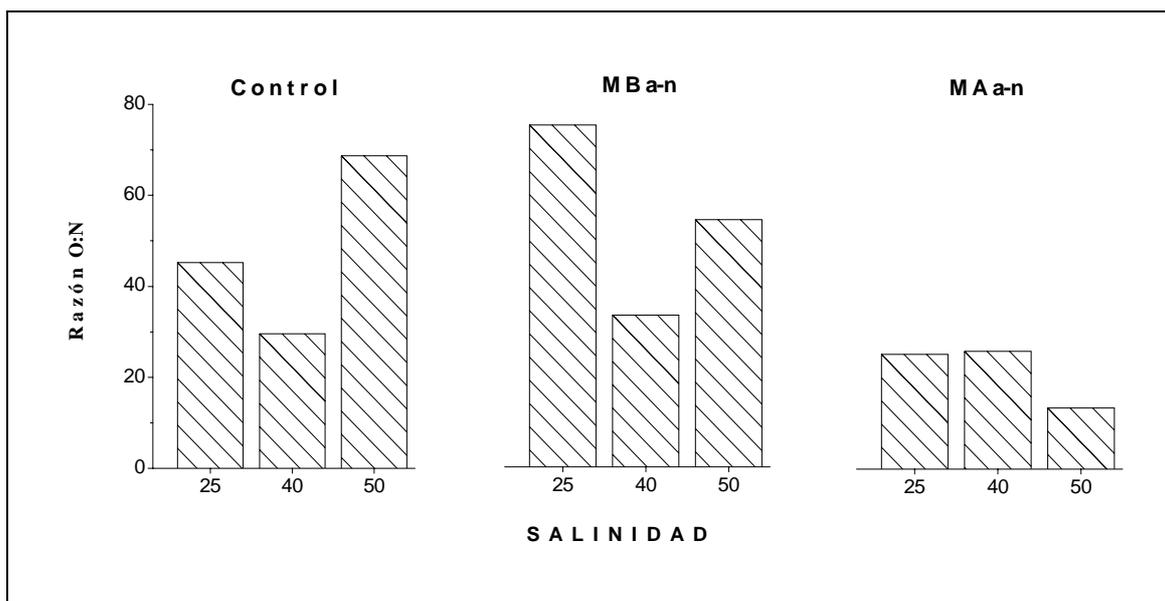


Fig. 7. Razón O:N de postlarvas y juveniles de *Litopenaeus setiferus* expuestas por un periodo de cinco días a tres tratamientos: 1.- Diferentes salinidades (25, 40, 50, 65ups) = Control. 2.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla baja de amonio-nitrito (MB a-n). 3.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla alta de amonio-nitrito (MAa-n)

## 2. 4. Glucógeno en juveniles

En juveniles los niveles de glucógeno no se vieron afectados significativamente por la salinidad, ni por la interacción entre la salinidad y las mezclas de amonio-nitrito, sin embargo, si hubo un efecto significativo por las mezclas de amonio-nitrito ( $P < 0.05$ ; Fig. 8).

No se observaron diferencias significativas entre los niveles de glucógeno de los camarones del grupo control (25, 40 y 50 ups) y los camarones a 65 ups (MA a-n) obteniendo valores en un intervalo de 3.27 a 3.43 mg g<sup>-1</sup> de tejido ( $P > 0.05$ ; Fig. 8, Tabla 3). Sin embargo estos niveles de glucógeno si fueron significativamente

diferentes a los obtenidos con los camarones que se mantuvieron a 25 y 40ups con (MB a-n) con valores de 7.69 y 10.63 mg g<sup>-1</sup> de tejido, respectivamente ( $P < 0.05$ ; Tabla 3; Fig. 8).

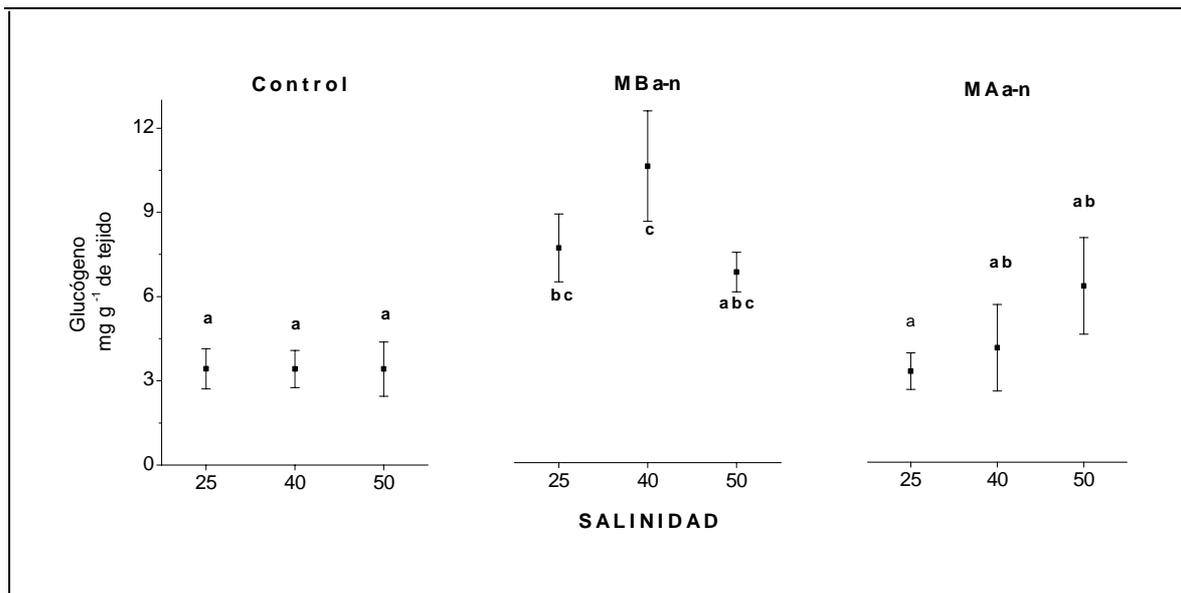


Fig. 8. Glucógeno en glándula digestiva (hepatopáncreas) en juveniles de *Litopenaeus setiferus*, expuestos por un periodo de cinco días a tres tratamientos: 1.- Diferentes salinidades (25, 40, 50ups) = Control. 2.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla baja de amonio-nitrito (MB a-n). 3.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla alta de amonio-nitrito (MA a-n). Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamiento. Promedio  $\pm$  Error Estándar.

Tabla 2.- Resultados de los índices fisiológicos (consumo de oxígeno, excreción nitrogenada, razón O:N) de postlarvas y juveniles de *L. setiferus* expuestos por cinco días a

1.-Diferentes salinidades (25, 40,50 y 65ups ) correspondiente al Control. 2.-A la combinación de la salinidad con una mezcla baja de amonio – nitrito ( $0.04 \text{ mgN-NH}_4^+ - 0.04 \text{ mg N-NO}_2^-$ ) = MB a-n. 3.- A la combinación de la salinidad con una mezcla alta de amonio – nitrito ( $3.10 \text{ mgN-NH}_4^+ \text{ L}^{-1} - 6.19 \text{ mg N-NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) = MA a – n. Valores expresados como promedio  $\pm$  Error estándar = ES. Las letras en superíndice indican las diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

Índices Fisiológicos		25ups	40ups	50ups	65ups
<b>Consumo de oxígeno</b> $\text{mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ ps}$					
Tratamiento					
Postlarva:	Control	5.30 $\pm$ 1.13 <sup>ab</sup>	8.87 $\pm$ 3.07 <sup>bcd</sup>	9.94 $\pm$ 1.33 <sup>bcd</sup>	8.35 $\pm$ 2.12 <sup>abcd</sup>
	MB a – n	8.99 $\pm$ 1.64 <sup>bcd</sup>	14.19 $\pm$ 3.36 <sup>d</sup>	5.55 $\pm$ 0.88 <sup>ab</sup>	12.12 $\pm$ 1.83 <sup>cd</sup>
	MA a – n	2.74 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	6.41 $\pm$ 0.99 <sup>abc</sup>	10.71 $\pm$ 2.33 <sup>bcd</sup>	6.08 $\pm$ 0.72 <sup>ab</sup>
Juvenile:	Control	6.61 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	8.93 $\pm$ 1.60 <sup>a</sup>	9.23 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	
	MB a – n	8.15 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>	5.28 $\pm$ 1.09 <sup>a</sup>	7.25 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	
	MA a – n	8.11 $\pm$ 1.76 <sup>a</sup>	7.24 $\pm$ 1.04 <sup>a</sup>	5.67 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup>	
<b>Excreción de amonio</b> $\text{mgN-NH}_3 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ ps}$					
Tratamiento		25ups	40ups	50ups	65ups
Postlarva:	Control	1.78 $\pm$ 0.22 <sup>ab</sup>	2.71 $\pm$ 0.45 <sup>abc</sup>	2.06 $\pm$ 0.36 <sup>ab</sup>	4.76 $\pm$ 0.92 <sup>de</sup>
	MB a – n	2.07 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>	5.87 $\pm$ 0.71 <sup>e</sup>	5.07 $\pm$ 0.51 <sup>de</sup>	3.85 $\pm$ 0.43 <sup>cd</sup>
	MA a – n	2.80 $\pm$ 0.43 <sup>abc</sup>	1.77 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	3.32 $\pm$ 0.51 <sup>abcd</sup>	4.30 $\pm$ 0.75 <sup>cde</sup>
Juvenile:	Control	0.15 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	
	MB a – n	0.12 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	
	MA a – n	0.34 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.29 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.44 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	
<b>Razón O:N</b>					
Tratamiento		25ups	40ups	50ups	65ups
Postlarva:	Control	3.16	3.47	5.11	1.86
	MB a – n	4.60	2.57	1.16	3.33
	MA a – n	1.04	3.84	3.42	1.50
Juvenile:	Control	45.21	57.11	68.72	
	MB a – n	74.66	33.13	54.01	
	MA a – n	25.35	26.04	13.53	

## 2. 5. Capacidad osmótica en juveniles

La capacidad osmorreguladora (CO) fue significativamente afectada por la salinidad y las mezclas de amonio-nitrito ( $P < 0.05$ ), pero no fue afectada por la interacción entre la salinidad y las mezclas de amonio-nitrito.

El patrón de comportamiento de los camarones con respecto a la capacidad osmótica fue similar en el tratamiento control, en (MB a-n) y en (MA a-n) incrementando significativamente con respecto a un incremento en la salinidad.

El intervalo de la capacidad osmótica estuvo entre  $-3.4$  a  $-598.88$  mOsmol Kg<sup>-1</sup>

Los valores más bajos se obtuvieron con 25 ups control, (MB a-n) y (MA a-n) con un intervalo entre  $-3.4$  a  $36.25$  siendo significativamente más bajos que los obtenidos con 40 y 50 ups ( $P < 0.05$ ; Tabla 3; fig. 9). El efecto de los contaminantes fue más evidente en los camarones mantenidos en 40ups con un intervalo entre  $-254.25$  a  $-314.73$  mOsmol Kg<sup>-1</sup> y con 50 ups con un intervalo entre  $-521.11$  a  $-598.88$  mOsmol Kg<sup>-1</sup>, donde se observaron diferencias significativas entre ellos ( $P < 0.05$ ; tabla 3; fig. 9), resultando más evidente en ésta última la reducción de la capacidad osmorreguladora CO ( $P < 0.05$ ; Tabla 3; Fig. 9).

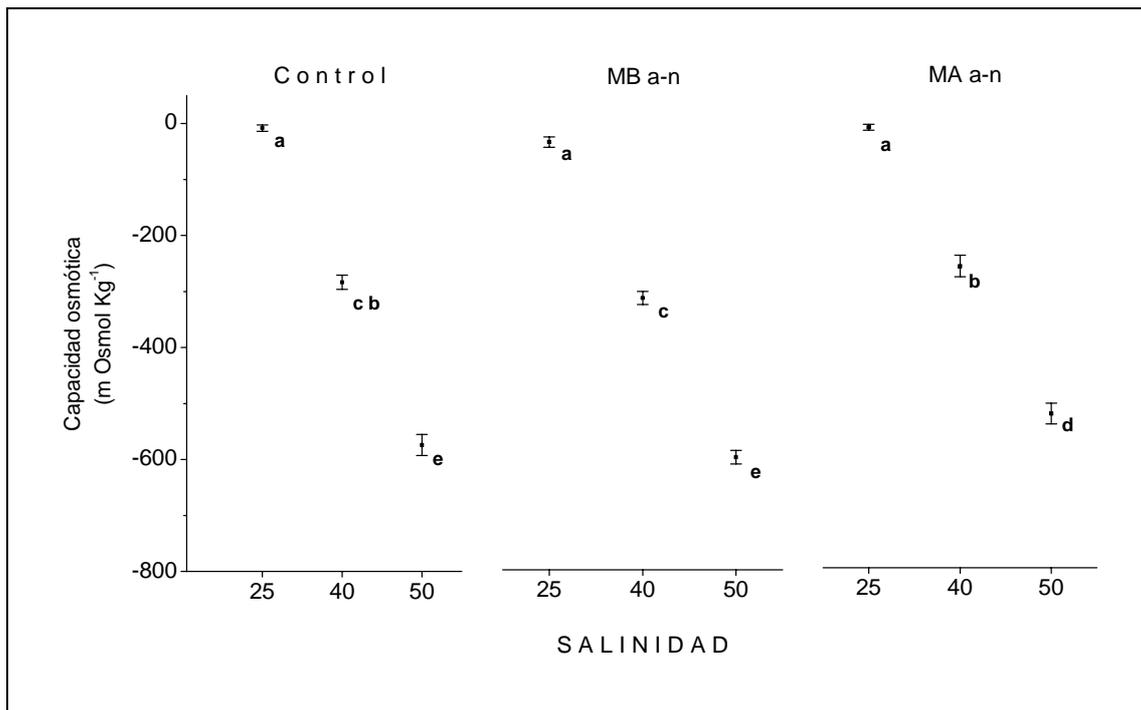


Fig. 9. Capacidad osmorreguladora de juveniles de *Litopenaeus setiferus* expuestas por un periodo de cinco días a tres tratamientos: 1.- Diferentes salinidades (25, 40, 50, 65ups) = Control. 2.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla baja de amonio-nitrito (MB a-n). 3.- Diferentes salinidades en combinación con una mezcla alta de amonio-nitrito (MA a-n). Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamiento. Promedio  $\pm$  Error Estándar.

Tabla 3.- Resultados de los índices fisiológicos (glucógeno de la glándula digestiva y capacidad osmorreguladora) de postlarvas y juveniles de *L. setiferus* expuestos por cinco días a 1.-Diferentes salinidades (25, 40,50 y 65) correspondiente al Control. 2.-A la combinación de la salinidad con una mezcla baja de amonio – nitrito ( $0.04 \text{ mgN-NH}_3 \text{ L}^{-1}$  -  $0.04 \text{ mg N-NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) = MB a-n. 3.- A la combinación de la salinidad con una mezcla alta de amonio – nitrito ( $3.10 \text{ mgN-NH}_3 \text{ L}^{-1}$  -  $6.19 \text{ mg N-NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) = MA a – n. Valores expresados como promedio  $\pm$  Error estándar = ES. Las letras en superíndice indican las diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

Índices Fisiológicos	Salinidad			
	25	40	50	65
<b>Glucógeno</b> <i>mg g<sup>-1</sup> de tejido</i>				
<b>Tratamiento</b>				
Control	25.67 $\pm$ 4.5 <sup>bc</sup>	41.76 $\pm$ 10.2 <sup>c</sup>	31.53 $\pm$ 5 <sup>c</sup>	7.66 $\pm$ 2.1 <sup>ab</sup>
<b>Postlarva:</b> MB a – n	27.33 $\pm$ 2.8 <sup>bc</sup>	29.31 $\pm$ 2.6 <sup>c</sup>	17.35 $\pm$ 6.3 <sup>ab</sup>	31.53 $\pm$ 6.4 <sup>bc</sup>
MA a – n	75.15 $\pm$ 4.8 <sup>d</sup>	5.40 $\pm$ 2.6 <sup>a</sup>	12.82 $\pm$ 4 <sup>ab</sup>	40.82 $\pm$ 8.1 <sup>c</sup>
Control	3.43 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	3.42 $\pm$ 0.97 <sup>a</sup>	3.42 $\pm$ 0.97 <sup>a</sup>	
<b>Juvenile:</b> MB a – n	7.69 $\pm$ 1.22 <sup>bc</sup>	10.63 $\pm$ 1.98 <sup>c</sup>	6.83 $\pm$ 0.71 <sup>abc</sup>	
MA a – n	3.27 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	4.10 $\pm$ 1.55 <sup>ab</sup>	6.33 $\pm$ 1.73 <sup>ab</sup>	
<b>Capacidad osmótica</b> <i>mOsmol Kg<sup>-1</sup></i>				
<b>Tratamiento</b>				
Control	-8.04 $\pm$ 5.73 <sup>a</sup>	-283.52 $\pm$ 12.60 <sup>cb</sup>	-574.23 $\pm$ 18.92 <sup>e</sup>	
<b>Juvenile:</b> MB a – n	-36.25 $\pm$ 9.33 <sup>a</sup>	-314.73 $\pm$ 11.65 <sup>c</sup>	-598.88 $\pm$ 12.07 <sup>e</sup>	
MA a – n	-3.40 $\pm$ 5.29 <sup>a</sup>	-254.25 $\pm$ 19.45 <sup>b</sup>	-521.11 $\pm$ 18.64 <sup>d</sup>	

## DISCUSIÓN

La razón O:N ha sido ampliamente utilizada como una forma de estimar el sustrato metabólico que utilizan los crustáceos para satisfacer sus demandas de energía (Mayzaud y Conover, 1988). Este concepto ha sido aplicado con éxito en la determinación de las necesidades de energía de postlarvas y juveniles de diferentes especies de camarones alimentados con diferentes niveles de proteínas y carbohidratos (Rosas *et al.*, 1995a; Rosas *et al.*, 1998; Taboada *et al.*, 1998). En esos estudios se ha puesto en evidencia que los camarones pueden cambiar el

sustrato energético en función de los niveles de proteínas de la dieta, con valores de O:N entre 3 y 16 para el catabolismo de proteínas, entre 50 y 60 para el catabolismo de 50% proteínas - 50% carbohidratos-lípidos y mayores de 60 para el catabolismo de carbohidratos-lípidos y proteínas (Mayzaud y Conover, 1988). Así mismo, la razón O:N ha sido utilizada para resumir en un sólo indicador, el estado fisiológico de los camarones expuestos a una condición particular.

Cuando los camarones fueron expuestos a diferentes combinaciones de salinidad y mezclas de amonio-nitrito, se observó en general que las postlarvas de *L. setiferus* catabolizaron proteínas, independientemente de la salinidad o de la mezcla de amonio-nitrito, con valores entre 1 y 5 (Fig. 3). En contraste se observó que los juveniles utilizaron una mezcla de proteínas – lípidos- carbohidratos ó lípidos-carbohidratos - proteínas dependiendo de la combinación salinidad-amonio-nitrito presente en cada condición experimental (Fig. 7).

Las diferencias en el catabolismo observadas en relación a la talla (postlarvas-juveniles) podrían estar relacionadas tanto con las diferencias en el requerimiento nutricional de postlarvas (50% proteína) y juveniles (40% proteína), como una de las estrategias utilizadas por los camarones para eliminar el amonio en presencia de concentraciones externas elevadas de amonio y nitrito en el agua.

De acuerdo con Gaxiola (1994), las postlarvas de *L. setiferus* tienen un requerimiento de 50% de proteínas, las cuales son mayoritariamente utilizadas como sustrato energético. Como ha sido establecido por (Claybrook, 1983; Mayzaud y Conover, 1988) , el uso de las proteínas como fuente de energía tiene como consecuencia el aumento de la excreción de amonio, debido al aumento en la desaminación de los amino ácidos. Durante este proceso, las proteínas ingeridas son degradadas principalmente en el hepatopáncreas donde se llevan a cabo los principales movimientos de materia y de energía procedentes de la dieta. Debido a la falta de espacio físico para el almacenamiento de lípidos, los crustáceos han desarrollado mecanismos fisiológicos que les permiten utilizar eficientemente las proteínas como fuente de energía, la cual es particularmente importante durante la fase de postlarva (Rosas, *et al.*, 1996). Durante la fase de postlarva, los camarones

requieren tanto de energía metabólica para realizar las funciones básicas, así como de amino ácidos para la estructuración de las proteínas que les permitirán crecer. Este mecanismo podría explicar porque las postlarvas de *L. setiferus* en el presente estudio utilizaron como sustrato energético a las proteínas, independientemente de la salinidad y de las concentraciones de amonio y nitrito presentes en el medio externo.

Alcaraz, *et al.*, (1999a) señalaron que la combinación amonio-nitrito tiene un efecto sinérgico en la sobrevivencia de las postlarvas de *L. setiferus*, la cual puede reducirse hasta en un 40% después de una exposición a una mezcla de 0.8 mg N-NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> y 180 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>. Aunque en el presente estudio los niveles de combinación amonio-nitrito fueron más bajos que los límites letales reportados en ese estudio (3.10 mg L<sup>-1</sup> de amonio total y 6.19 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>) es posible que las combinaciones usadas ahora hayan afectado la fisiología de los camarones experimentales, aunque este efecto pudo ser enmascarado tanto por los altos niveles de oxígeno disuelto disponible como por la normalmente alta tasa de excreción de amonio asociada al requerimiento de proteínas de las postlarvas.

Los juveniles de *L. setiferus* fueron afectados por la combinación salinidad, amonio-nitrito al reflejar el uso de los diferentes sustratos metabólicos ya que se observó una reducción del O:N en relación con un aumento de los niveles de amonio-nitrito y salinidad, evidenciando un cambio de sustrato energético de lípidos-proteínas a proteínas lípidos (Fig. 7).

En este sentido Taboada *et al.*, (1998) reportaron para juveniles de *L. setiferus* una razón O:N con valor de 40 cuando los juveniles son alimentados con dietas con 30% de proteínas. Los valores obtenidos del grupo control (Fig. 7) son similares a los reportados por Taboada *et al.*, (1998) lo cual demuestra que los organismos de este grupo experimental se encontraban en condiciones fisiológicas en las que utilizaron de forma equilibrada las proteínas, los carbohidratos y los lípidos procedentes del alimento. Al reducirse el O:N en animales expuestos a niveles altos de amonio y nitrito se alteraron los patrones del uso de los sustratos energéticos, lo cual pone en evidencia que algún o algunos de los mecanismos fisiológicos involucrados en el

uso de la energía o en la compensación metabólica fueron alterados. Schmitt y Santos (1999), demostraron que *Farfantepenaeus paulensis* es capaz de almacenar amonio cuando son expuestos a altas concentraciones del contaminante. Los mecanismos de almacenamiento han sido asociados con el aumento del ácido úrico y del amonio en la hemolinfa, los cuales pueden ser liberados por difusión simple o reconvertida en amonio dependiendo de las concentraciones externas presente en la sangre. Aunque en el presente estudio los niveles de amonio no son tan elevados como los experimentados por *F. paulensis* (7, 21 y 50 mg L<sup>-1</sup>) es posible que en las combinaciones a que fueron expuestas de amonio – nitrito, en las postlarvas de *L. setiferus* se afectaran de manera similar los mecanismos de protección y/o almacenamiento de amonio en el medio interno. Esto podría significar que los niveles de amonio excretado registrado en este estudio pudieran ser tanto reflejo de un aumento de los flujos de amonio como consecuencia de la formación de ácido úrico ó realmente un aumento de la producción de amonio producto de una mayor utilización de las proteínas como fuente de energía, con la consecuente reducción en el crecimiento. Para comprobar alguna de las dos hipótesis es necesario realizar otros estudios en los cuales se exponga a los camarones al efecto de la salinidad y de mezclas similares de amonio—nitrito sobre el crecimiento, la sobrevivencia y los niveles de ácido úrico en sangre. Los niveles de amonio en el medio interno y la tasa de flujo de amonio permitirán establecer con mayor precisión los mecanismos fisiológicos involucrados en la compensación metabólica asociada con el cambio de sustrato energético en condiciones experimentales.

El glucógeno ha sido reconocido como una de las principales sustancias de reserva energética de carbohidratos, el cual, en el caso de los crustáceos es también una reserva para la constitución de la quitina, de la cual está formado el exoesqueleto (Shiau y Peng 1992; Shiau 1998). En postlarvas y juveniles de *L. setiferus* los niveles de glucógeno en hepatopáncreas no presentaron un patrón de comportamiento definido tanto en relación con la salinidad como en relación con los niveles de amonio-nitrito, aunque se observó en general, que los niveles de glucógeno en postlarvas son sensiblemente mayores a las observadas en juveniles (Fig. 7, 8). Esta diferencia podría estar asociada con las necesidades inherentes a

cada etapa del ciclo de vida (Capuzzo y Lancaster 1979). La variabilidad observada en los niveles de glucógeno en el presente estudio hace difícil interpretar los posibles efectos asociados con las variables experimentales utilizadas aunque, por los niveles observados en los camarones expuestos a 25ups con altos niveles de amonio-nitrito, es posible pensar que la gluconeogénesis pudiera ser alterada al afectarse el metabolismo de las proteínas. De acuerdo con Rosas *et al.*, (2000) los camarones tienen una gran capacidad para sintetizar glucógeno a partir de proteínas, lo cual les permite utilizar de manera eficiente los diversos componentes dietéticos. Otras evidencias han demostrado que esta capacidad está íntimamente relacionada con la salinidad la cual determina en última instancia la cantidad de amino ácidos libres disponibles para la síntesis de glucógeno. En baja salinidad, los camarones se ven obligados a descargar amino ácidos libres hacia la hemolinfa en donde son transformados en hemocianina o son eliminados como amonio (Gellisen, Hennecke, y Spindler 1991; Moon 1988). En esa transición, algunos de los aminoácidos son utilizados para la síntesis de glucógeno, el cual tiende a aumentar en función del aumento de los niveles de amino ácidos libres disponibles en hepatopáncreas. Si el aumento de los niveles de amonio y nitrito promueven la formación de ácido úrico como vía de protección contra el amonio en exceso, y los amino ácidos libres también aumentan en baja salinidad, entonces se podría pensar que el aumento de los niveles de glucógeno registrados ahora en 25ups con niveles altos de amonio-nitrito resultaron como consecuencia de un aumento de la actividad gluconeogénica en el hepatopáncreas. Nuevamente es necesario hacer un seguimiento de la actividad de las enzimas involucradas en el proceso para poder saber con precisión si la síntesis de glucógeno pudiera activar un mecanismo de protección en contra de un exceso de amonio en la hemolinfa. La formación de glutamina, también pudiera ser otro mecanismo a explorar en este sentido.

La capacidad osmorreguladora ha sido utilizada como un indicador tanto de estrés como de las condiciones de cultivo. Aunque los cambios en el crecimiento y la sobrevivencia son indicadores de estrés también la capacidad osmótica ha sido considerada como un indicador rápido que permite evaluar la condición fisiológica de los organismos expuestos a un estrés sub-letal (Charmantier, *et al.*, 1994). La

medición de la capacidad osmorreguladora ha sido utilizada para estudiar los efectos de la condición nutricional y de diferentes contaminantes en crustáceos (Charmantier, *et al.*, 1994; Lignot *et al.*, 1999; Lignot, *et al.*, 1997).

En el presente estudio se observó una reducción de la capacidad osmorreguladora de los camarones en función a la salinidad y los niveles de amonio-nitrito (Fig. 9), los cuales fueron mucho más evidentes en los animales expuestos a 40 y 50 ups. De acuerdo con Lignot *et al.* (1999), la capacidad osmorreguladora está relacionada con las reservas de sustancias osmóticamente activas que tiene un organismo para responder a un cambio osmótico externo. Un alto valor de la capacidad osmorreguladora pudiera significar, que los camarones tienen una alta concentración de sustancias osmóticamente activas en comparación con los que presentan niveles más bajos de capacidad osmorreguladora. Es evidente que de los resultados obtenidos en el presente estudio con salinidades de 40 y 50 , así como la combinación de estas salinidades con niveles bajos y altos de amonio-nitrito reducen de manera importante la capacidad osmorreguladora de los juveniles de *L. setiferus*, haciéndolos más vulnerables al estrés osmótico.

En los camarones expuestos a altos niveles de amonio-nitrito, se observó que los animales presentaron una reducción de la capacidad osmorreguladora con respecto a los juveniles que se mantuvieron a una mezcla baja de amonio y nitrito (Fig. 9). Resultados similares han sido obtenidos por Chen *et al.*, (1993) y Chen *et al.*, (1994) quienes reportaron una reducción significativa de los niveles de proteínas en sangre asociadas con un aumento de los niveles de amonio en el medio, los cuales podrían afectar los mecanismos de regulación osmótica.

## CONCLUSIONES

La densidad de siembra no tuvo un impacto significativo ( $P > 0.05$ ) sobre el crecimiento y la sobrevivencia. Solo se observa un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) cuando interacciona con el recambio de agua. El crecimiento y la sobrevivencia decrecen conforme se incrementa la densidad de siembra.

El mejor crecimiento se obtiene con una tasa de recambio de agua del 12%  $d^{-1}$  con las diferentes densidades de siembra (50, 150 250 y 350 animales  $m^{-2}$ ) con valores entre 0.377 a 0.557  $mg\ d^{-1}\ ph$ , con una sobrevivencia del 71.49 al 90.2 %.

Se concluye que por la tasa de crecimiento, la sobrevivencia, como por el IR la mejor combinación para el crecimiento de las postlarvas de *L. setiferus* se encuentra entre (50 a 350  $ind\ m^{-2}$ ) con una tasa de recambio de 12 %  $d^{-1}$ .

Se recomienda trabajar con un intervalo de recambio de agua de 6 hasta 12 %  $d^{-1}$  con densidad de siembra (50 hasta 350  $ind\ m^{-2}$ ).

Los parámetros fisicoquímicos medidos para determinar la calidad del agua que se vieron modificados con un incremento en la densidad de siembra y una disminución en la tasa de recambio de agua, fueron la salinidad con un intervalo entre 38 a 93 ups, los niveles de amonio con un intervalo 0.04 a 3.10  $mg\ N- NH_3\ L^{-1}$  y los niveles de nitrito con un intervalo de 0.04 a 6.19  $mg\ NO_2^- L^{-1}$ .

Se sugiere que la alta mortalidad fue debida a una respuesta de comportamiento al espacio físico, al hacinamiento o al canibalismo, ya que no se pudo atribuir a la densidad de siembra. Se recomienda realizar estudios de ecología de conducta para resolver el efecto de la densidad de siembra en la mortalidad de los camarones en cultivo.

Se concluye que aunque *L. vannamei* siga siendo la especie preferida para la acuicultura, *L. setiferus* puede ser una alternativa viable para el cultivo intensivo, haciéndolo posible con más evaluaciones sobre su manejo.

El metabolismo respiratorio de las postlarvas fue afectado por la salinidad y las concentraciones de amonio-nitritos, como un reflejo del aumento de la excreción

amoniacal, produciendo valores de la razón O:N directamente relacionados con el catabolismo de proteínas. Sin embargo en los juveniles, a pesar de resultar afectada la excreción amoniacal, esto no se vio reflejado en la tasa respiratoria de los organismos. En estos últimos, las reservas de glucógeno si resultaron afectadas por la salinidad en presencia de altas dosis de amonio y nitritos, así como la capacidad osmorreguladora, ambos procesos que deberán ser estudiados a profundidad con el fin de establecer los mecanismos que son alterados en presencia de estas condiciones experimentales.

## Literatura Citada

- Abdussamad, EM., Thampy, DM. (1994) Cannibalism in the tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius in nursery rearing phase. *J. Aquac. Trop.* 9(1), 67-75.
- Alcaraz G, Chiappa CX, Espinoza V, Vanegas C (1999) Acute toxicity of ammonia and nitrite to white shrimp *Penaeus setiferus* postlarvae. *Journal of the World Aquaculture Society* 30, 90-97.
- Allan GL, Maguire GB (1993) The effect of water exchange on production of *Metapenaeus macleayi* and water quality in experimental ponds. *Journal of the World Aquaculture Society* 24(3), 321-328.
- APHA (1992) 'Standard methods for the examination of water and wastewater.' (American Public Health Association: Washington).
- Aquacop (1984) Review of ten years of experimental penaeid shrimp culture in Tahiti and New Caledonia (South Pacific). *Journal of the World Mariculture Society* 15, 73-91.
- Aquacop, Cuzon G (1989) Selected ingredients for shrimp feeds. In 'Advanced in tropical aquaculture'. pp. 405-412. (IFREMER: Tahiti, French Polynesia).
- Arena L (1999) 'Caracterización de poblaciones de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* y *L. setiferus*: estudio morfológico y molecular.' (M. en C. Facultad de Ciencias, UNAM).
- Browdy CL, Holloway JD, King CO, Stokes AD, Hopkins JS, Sandifer PA (1993) IHHN virus and intensive culture of *Penaeus vannamei*: effects of stocking density and water exchange rates. *Journal Crustacean Biol.* 13(1), 87-94.
- Browdy CL, Stokes AD, Hopkins JS, Sandifer PA (1991) Evaluation of intensive pond mono and polyculture of *Penaeus setiferus* and *P. vannamei* in South Carolina. *Journal of the World Aquaculture Society* 22(3), 16.
- Brune DE, Drapcho CM (1991) Feed pond aquaculture. In 'Aquaculture Systems Engineering: Proceeding of the World Aquaculture Society and the American Society of Agricultural Engineers Jointly Sponsored Session'. pp. 15-33. (American Society of Agricultural Engineers: Michigan, USA).
- Capuzzo HC, Lancaster BS (1979) The effects of dietary carbohydrates levels on protein utilization in the American lobster, *Homarus americanus*. *Proc. World Maricul. Soc.* 10, 689-700.
- Chamberlain GW (1987) Intensification reasonable from economic point of view. *Coastal Aquaculture* 4(1), 1-7.
- Charmantier G, Soyeux C, Aquacop (1994) Effect of molt stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 178, 233-246.
- Chen JC, Chin TS (1988) Acute toxicity of nitrite to tiger prawn, *Penaeus monodon*, larvae. *Aquaculture* 69, 553-262.
- Chen, JC. y S.C. Lei (1990) Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society* 21(4):300-305.
- Chen JC, Lin CY (1991) Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus penicillatus* juveniles at low salinity levels. *Comp. Biochem. Physiol.* 100C, 477-482.

- Chen JC, Nan FH, Kuo CM (1991) Oxygen consumption and ammonia-N excretion of prawns (*Penaeus chinensis*) exposed to ambient ammonia. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **21**, 377-382.
- Chen J, Chen SF (1992) Accumulation of nitrite in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient nitrite. *Comp.Biochem.Physiol.* **103C(3)**, 477-481.
- Chen, J.C., Nan, F.H. (1993) Changes in oxygen consumption and ammonia-N excretion by *Penaeus chinensis* Osbeck at different temperature and salinity level. *Journal of Crustacean Biology* 13:706-713.
- Chen HY., Wu, FC., Tang SY (1994) Sensitivity of transketolase to the thiamin status of juvenile marine shrimp (*Penaeus monodon*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 109A:655-659.
- Chen, J. C y T.S Chin (1988) Acute toxicity of nitrite to tiger prawn, *Penaeus monodon*, larvae. *Aquaculture* 69:253-262.
- Chin, TS y J.C. Chen. (1987) Acute toxicity of ammonia to larvae of the tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 66: 247-253.
- Claybrook DL (1983) Nitrogen metabolism. In 'The biology of crustacea, internal anatomy and physiological regulation.'. (Ed. LH Mantel) pp. 163-213. (Academic Press: New York).
- Clifford HC (1985) Semi-intensive shrimp farming. In 'Texas Shrimp Farming Manual'. (Ed. GW Chamberlain) pp. 15-42. Corpus Christi. Texas, USA).
- Conte FS (1978) Penaeid shrimp culture: current status and directions of research. In 'Drugs and food from the sea'. (Eds PN Kaul and CJ Sinderman) pp. 333-343. (The University of Oklahoma Press.: Norman, Oklahoma, USA).
- Dall W, Smith DM (1986) Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns *Penaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture* **55**, 23-33.
- Delistraty , D. A., Carbwrg, J.M. Van olst, J.C. and Ford, R.F. 1977. Ammonia toxicity in cultured larvae of the American lobster (*Homarus americanus*). *J. World Maricult. Soc.*, 8: 647-672.
- Dubois, M.K., Lilles, L.A., Hamilton, J.C., Rebers, P.A., Smith, F. 1965. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem.* **28**: 350-356.
- Evans DH (1993) 'The physiology of fishes.' Boca Raton , Florida.
- FAO. 2004. Estado de las pesquerías del mundo, la producción de acuicultura. Vol. 98/2.
- Gallardo PP, Alfonso E, Gaxiola G, Soto LA, Rosas C (1995) Feeding schedule of *Penaeus setiferus* larvae based in diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), Flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *Artemia* nauplii. *Aquaculture* **131**, 239-253.
- Gaxiola G (1994) Requerimientos nutricionales de las postlarvas de *Penaeus setiferus* y *P. duorarum* (Crustacea: Penaeidae). Facultad de Ciencias, UNAM.
- Gellisen G, Hennecke R, Spindler KD (1991) The site of synthesis of hemocyanin in the crayfish *Astacus leptodactylus*. *Experientia* **47**, 194-195.
- Hopkins JS, Hamilton II RD, Sandifer PA, Browdy CL, Stokes AD (1993) Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *J. World Aquac. Soc.* **24(3)**, 304-320.

- Hopkins JS, Sandifer PA, Browdy CL, Holloway JD (1996) Comparison of exchange and no-exchange water management strategies for the intensive pond culture of marine shrimp. *Journal of Shellfish Research* **15(2)**, 441-445.
- Hopkins JS, Sandifer PA, Stokes AD, Browdy CL (1991) The effect of minimal water exchange on the water quality and production of intensive marine shrimp ponds. In 'Program and abstracts, 22nd Annual Conference and Exposition'. (The World Aquaculture Society: San Juan, Puerto Rico).
- Hopkins JS, Villalón J (1992) Synopsis of industrial panel input on shrimp pond management. (Ed. JA Wyban) pp. 138-143. World Aquaculture Society: Baton Rouge, Louisiana, USA.
- Kongkeo H (1990) Pond management and operation. In 'Technical and economic aspects of shrimp farming: proceedings of the Aquatec '90 Conference.'. (Eds MB New, Hd Saram, and T Singh) pp. 56-65. (INFOFISH: Kuala Lumpur, Malaysia).
- Kou, YZ y JC Chen (1991) Acute toxicity of ammonia to *Penaeus japonicus* Bate juveniles. *Aquaculture and Fisheries Management*. 22:259-263.
- Lewis WM, Morris DP (1986) Toxicity of nitrite to fish. *Transactions of the American Fisheries Society* **115**, 183-195.
- Lignot JH, Charmantier G, Trilles JP (1997) Effects of an organophosphorous insecticide, fenitrothion, on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Mar.Biol.* **128**, 307-316.
- Lignot JH, Cochard JC, Soyez C, Lemaire P, Charmantier G (1999) Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* **170**, 79-92.
- Loneragan, N., Die, DJ., Kailis, GM., Watson, R., Preston, N. (1998) Developing and assessing techniques for enhancing tropical Australian prawn fisheries and the feasibility of enhancing the brown tiger prawn (*Penaeus esculentus*) fishery in Exmouth Gulf. Final report on FRDC project 1998/222. CSIRO, Cleveland.
- Maguire, GB., Leedow, MI (1983) A study of the optimum stocking density and feed rate for school prawn *Metapenaeus macleayi* (Haswell) in some Australian brackish water farming ponds. *Aquaculture* 30, 285-297.
- Martinez E, Aguilar M, Trejo L, Hernández I, Díaz-Iglesia E, Soto LA, Sanchez A, Rosas C (1998) Lethal low dissolved oxygen concentrations for postlarvae and early juvenile *Penaeus setiferus* at different salinities and pH. *Journal of the World Aquaculture Society* **29**, 221-229.
- Mayzaud P, Conover RJ (1988) O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Mar.Ecol.Prog.Ser.* **45**, 289-302.
- Meade, J.W. 1985. Allowable ammonia for fish culture. *Prog. Fish - Cult.*, 47(3): 135-144.
- Meijer AJ, Lamers WH, Chamuleau F (1990) Nitrogen metabolism and ornithine cycle function. *Physiol.Rev.* **70(3)**, 701-748.
- Mevel G, Chamroux G (1981) A study on the nitrification in the presence of prawns (*Penaeus japonicus*) in marine enclosed systems. *Aquaculture* **23**, 29-43.
- Moon TW (1988) Adaptation, constraint and the function of gluconeogenic pathway. *Canadian Journal of Zoology* **66**, 1059-1068.

- Moss, KRK., Moss, SM. (2004) Effects of artificial substrate and stocking density on the nursery production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.* 35 (4) 536-542.
- Needham AE (1961) The problem of methaemocyanin. *Nature (London)* **189**, 306-307.
- Ostrenski A, Wasielesky W (1995) Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Sao Paulo shrimp, *Penaeus paulensis*, Pérez- Farfante, 1967. *Aquaculture* **132**, 339-347.
- Peterson , JJ., Griffith, DRW. (1999) Intensive nursery systems. *Glob. Aquacult. Advoc.* 2(6), 60-61.
- Quetin LB, Ross RM, Uchio K (1980) Metabolic characteristics of midwater zooplankton: ammonia excretion, O:N ratios, and the effect of starvation. *Marine Biology* **59**, 201-209.
- Ray W-M, Chien YH (1992) Effects of stocking density and aged sediment on tiger prawn, *Penaeus monodon*, nursery system. *Aquaculture* **104**, 231-248.
- Reid B, Arnold CR (1992) The intensive culture of the Penaeid shrimp *Penaeus vannamei* Boone in a recirculating raceway system. *Journal of the World Aquaculture Society.* **23**, 146-153.
- Rosas C, Bolongaro-Crevenna A, Sanchez A, Gaxiola G, Soto L, Escobar E (1995a) Role of the digestive gland in the energetic metabolism of *Penaeus setiferus*. *Biol.Bull.* **189**, 168-174.
- Rosas C, Cuzon G, Gaxiola G, Pascual C, Taboada G, Arena L, VanWormhoudt A (2002) An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **268**, 47-67.
- Rosas C, Cuzon G, Gaxiola G, Taboada E, Pascual C, Brito R, Chimal ME, VanWormhoudt A (2000) El metabolismo de los carbohidratos de *Litopenaeus setiferus*, *L. vannamei* y *L. stylirostris*. (Eds E Cruz-Suárez, D Ricque-Marie, M Tapia-Salazar, and R Civera-Cerecedo) pp. 25-49. *Avances de Nutrición Acuícola, Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, CINVESTAV -Mérida, Mérida , Yucatán.*
- Rosas C, Gaxiola G, Sánchez A. (1998a) El metabolismo del nitrógeno y su relación con los requerimientos nutricionales de los camarones peneidos. (Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste: La Paz B.C.S., México).
- Rosas C, López N, Mercado P, Martínez E (2001) Effect of salinity acclimation on oxygen consumption of white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal Crustacean Biology* **21**, 279-292.
- Rosas C, Martínez E, Gaxiola G., Díaz E, Brito R, Soto L (1998b) Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. *Mar Ecol Prog Ser* **174**, 67-75.
- Rosas C, Martínez E, Gaxiola G, Brito R, Sanchez A, Soto LA (1999a) The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **234**, 41-57.
- Rosas C, Ocampo L, Gaxiola G, Sánchez A, Soto LA (1999b) Effect of salinity on survival, growth and oxygen consumption of postlarvae (PL10-PL21) of *Penaeus setiferus*. *Journal of Crustacean Biology* **19**, 67-75.

- Rosas C, Sánchez A, Díaz E, Soto L, Gaxiola G, Brito R, Baes MI, Pedroza R (1995b) Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effects of protein level on substrate metabolism. *Aquatic Living Resources* **8**, 161-169.
- Rosas C, Sanchez A, Díaz E, Soto LA, Gaxiola G, Brito R (1996) Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae. *Journal of the World Aquaculture Society* **27**, 92-102.
- Rosas C, Sanchez A, Diaz-Iglesia E, Brito R, Martinez E, Soto LA (1997) Critical dissolved oxygen level to *Penaeus setiferus* and *Penaeus schmitti* postlarvae (PL sub(10-18)) exposed to salinity changes. *Aquaculture* **152**, 259-272.
- Rosas C, Sanchez A, Gallardo P, Quiroz J, Gaxiola G, Diaz-Iglesia E, Soto LA (1995c) Oxygen consumption and ingestion rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and artemia nauplii. *Aquaculture Nutrition* **1**, 13-20.
- Rothlisberg, PC., Preston, NP., Loneragan, NR., Poiner, IR. (1999) Chapter 25 approaches to reseedling Penaeid prawns. In: Howell, BR., Moksness, E., Svasand, T (Eds.) Stock Enhancement and Sea Ranching. Fishing News Book, Oxford, pp. 365-378.
- Samocha, TM (2001) Zero water exchange. Various studies show successful shrimp production. *Glob. Aquacult. Advoc.* **4** (3) 31-32.
- Samocha, TM., Castille, FL., Lawrence, AL. Talley, SE. (1993 a) Early spring growth trial of *Penaeus vannamei* postlarvae at high stocking densities in raceways. *Techniques For Modern Aquaculture*. American Society of Agriculture Engineers, St Joseph, MI (USA), pp. 230-240.
- Samocha, TM., Lawrence, AL., Bray, WA. (1993b) Design and operation of an intensive nursery raceways system for penaeid shrimp, *CRC Handbook of Mariculture*, 2<sup>nd</sup> edition. *Crustacean Aquaculture*, vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 173-210.
- Sandifer PA, Hopkins JS, Stokes AD (1987a) Effects of density on intensive pond culture of *Penaeus vannamei* in South Carolina. *Journal of the World Aquaculture Society*. **18**, Abstract 11.
- Sandifer PA, Hopkins JS, Stokes AD (1987b) Intensive culture potential of *Penaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* **18(2)**, 94-100.
- Sandifer PA, Hopkins JS, Stokes AD (1988) Intensification of shrimp culture in earthen ponds in South Carolina: progress and prospects. *Journal of the World Mariculture Society* **19**, 218-226.
- Sandifer PA, Hopkins JS, Stokes AD, Browdy CL (1990) Experimental cultivation of the native white shrimp, *Penaeus setiferus*, in South Carolina. *World Aquaculture* **90**.
- Sandifer PA, Hopkins JS, Stokes AD, Browdy CL (1993) Preliminary comparisons of the native *Penaeus setiferus* and Pacific *P. vannamei* white shrimp for the pond culture in South Carolina, USA. *Jour. World Aqua. Soc.* **24(3)**, 295-303.
- Sandifer PA, Stokes AD, Hopkins JS, Smyley RA (1991) Further intensification of pond shrimp culture in South Carolina. In 'Shrimp culture in North American and Caribbean'. (Ed. PA Sandifer) pp. 84-95. (World Aquaculture Society: Baton Rouge, Louisiana, USA).

- Schmitt ASC, Santos EA (1999) Haemolymph nitrogenous constituents and nitrogen efflux rates of juvenile shrimp, *Penaeus paulensis* (Perez-Farfante), exposed to ambient ammonia-N. *Aquaculture Research* **30**, 1-11.
- Shiau SY, Peng SY (1992) Utilization of different carbohydrates at different dietary protein levels in grass prawn, *Penaeus monodon*, reared in seawater. *Aquaculture* **101**, 241-250.
- Shiau SY (1998) Nutrient requirements of penaeid shrimp. *Aquaculture* **164**, 77-93.
- Stuart, JA., Melony, JS., Peter, JC., Greg, JC. (2005) Response of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*) to intensive culture conditions in a flow through tank system with three- dimensional artificial substrate.
- Stuart, JA., Melony, JS., Peter, JC., Greg, JC. (2006) An evaluation of stocking density on the intensive production of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*). *Aquaculture* **256**, 174-179.
- Taboada G, Gaxiola G, García T, Pedroza R, Sanchez A, Soto L, Rosas C (1998) Oxygen consumption and ammonia-N excretion related to protein requirements for growth of white shrimp *Penaeus setiferus*. *Aquaculture Research* **29**, 1-11.
- Wenner EL, Beatty HR (1993) Utilization of shallow estuarine habitats in South Carolina, USA. by postlarval and juvenile stages of *Penaeus spp.* (Decapoda: Penaeidae). *Journal of Crustacean Biology*. **13**, 280-295.
- Whay-Ming Ray, Chien, YH. 1992. Effect of stocking density and aged sediment on tiger prawn. *Penaeus monodon*, nursery system. *Aquaculture* **104**, 231-248.
- Whetstone JM, Olmi III EJ, Sandifer PA (1988) Management of existing saltmarsh impoundments in South Carolina for shrimp aquaculture and its implications. In 'The ecology and management of Wetlands. vol. 2. Management and value of Wetland'. (Ed. DD Hook) p. -394. (Croom Helm. London: Timber Press: Portland, Oregon).
- Wickins J.F. (1976) The tolerance of warm-water prawn to recirculated water. *Aquaculture* **9(1)**, 19-37.
- Williams AS, Davis DA, Arnold CR (1996) Density-dependent growth and survival of *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei* in a semi-closed recirculation system. *Journal of the World Aquaculture Society* **27(1)**, 107-112.
- Wyban JA, Sweeney JN (1989) Intensive shrimp growout trials in a round pond. *Aquaculture* **76**, 215-225.
- Wyban JA, Sweeney JN, Kanna RA (1988) Shrimp yields and economic potential of intensive round pond systems. *Journal of the World Aquaculture Society* **19(4)**, 210-217.
- Zar JH (1974) 'Biostatistical analysis.' (Prentice Hall: New Jersey, USA).