

TESIS DEFENDIDA POR

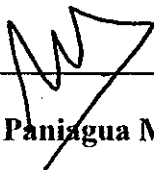
Ana Denise Re Araujo

Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ



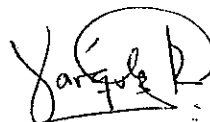
Dr. Fernando Díaz Herrera

Director del Comité



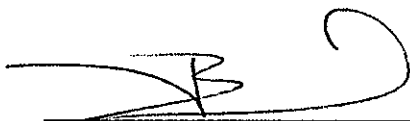
Dr. José de Jesús Paniagua Michel

Miembro del Comité



Dr. Facundo Márquez Rocha

Miembro del Comité



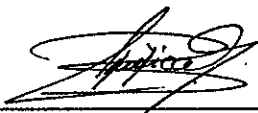
Dra. Silvia Gómez Jiménez

Miembro del Comité



Dr. Eugenio Díaz Iglesias

Miembro del Comité



Dra. Mónica Hernández Rodríguez

*Coordinadora del programa en
Acuicultura Biotecnología*



Dr. Federico Graef Ziehl

Director de Estudios de Postgrado

Noviembre 30, 2004

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y EDUCACIÓN
SUPERIOR DE ENSENADA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
CON ORIENTACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MARINA**

**FISIOLOGÍA TERMORREGULADORA,
OSMORREGULADORA Y ENERGÉTICA EN EL CAMARÓN AZUL
Litopenaeus stylirostris (STIMPSON) (CRUSTACEA:PENAEIDAE).**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS

Presenta:

ANA DENISE RE ARAUJO

Ensenada Baja California, noviembre de 2004.

RESUMEN de la tesis que presenta **ANA DENISE RE ARAUJO** presentada como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** con Orientación en Biotecnología Marina. Ensenada Baja California, México. Noviembre del 2004.

FISIOLOGÍA TERMORREGULADORA, OSMORREGULADORA, Y ENERGÉTICA EN EL CAMARÓN AZUL *Litopenaeus stylirostris* (STIMPSON) (CRUSTACEA:PENAEIDAE).

Resumen aprobado por :


Dr. Fernando Díaz Herrera

Se estudiaron varias respuestas fisiológicas en el camarón azul *Litopenaeus stylirostris* expuestos a diferentes combinaciones de temperatura y salinidad. Se determinó la preferencia térmica de juveniles de *L. stylirostris* aclimatados a un intervalo de salinidades de 10 a 40‰ y a una temperatura de 28 °C. La temperatura preferida por los organismos en la fase diurna y nocturna simuladas en un ciclo de 24 horas no fue significativamente diferente ($P > 0.05$). El preferendum de temperatura de los juveniles de camarón azul aclimatados a 10, 20, 30, y 40‰ no se modificó ($P > 0.05$) por efecto de la salinidad determinándose que para el camarón azul la temperatura preferida se ubicó en 28 °C. La temperatura crítica máxima (TCMax) para los juveniles del camarón azul se determinó en organismos aclimatados a las salinidades de 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40‰ y a las temperaturas de 20, 23, 25, 28, 30 y 33 °C. La temperatura de aclimatación influyó significativamente sobre la TCMax de los juveniles ya que conforme se aumento la temperatura se incrementó el punto final de la temperatura crítica máxima, que para el camarón azul fue la desorientación total (D.T.) La salinidad no influyó significativamente en la TCMax. Se determinó para *L. stylirostris* el (RRA) índice de la magnitud de la aclimatación térmica, el cual tuvo un intervalo de 0.56 -0.74.

El consumo de oxígeno, la tasa de excreción de amonio, la presión osmótica y capacidad osmorreguladora del camarón azul fueron determinadas al exponer a los organismos a las temperaturas de 23, 28 y 33 °C y a las salinidades constantes de 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40‰. El consumo de oxígeno de *L. stylirostris* expuesto a las salinidades experimentales se incrementó en relación directa con la temperatura, sin embargo en 28 °C la tasa metabólica se mantuvo constante. La tasa de excreción de amonio en los juveniles aclimatados a las temperaturas de 23 y 33 °C se relacionó con el patrón de osmorregulación ya que cuando los camarones hiper-regularon se incrementó y disminuyó cuando hipo-regularon, en los mantenidos en 28 °C la excreción de amonio permaneció constante. La capacidad osmorreguladora en los juveniles mostró que fueron hiporreguladores e hiperreguladores en salinidades por arriba y por debajo del punto isosmótico, disminuyendo esta capacidad en los organismos mantenidos en 33 °C y expuestos a las altas salinidades. El punto isosmótico de los camarones tuvo un intervalo de 676.8-700.4 mmol Kg⁻¹ (23.7-24.6‰). Los valores de las pendientes de la relación entre la concentración osmótica del medio y la

hemolinfa del camarón aclimatados a 23, 28 y 33 °C fueron 0.25, 0.17 y 0.37, el menor valor de la pendiente se obtuvo en los juveniles mantenidos en 28 °C, en esta condición el camarón azul se caracterizó como fuerte regulador. En los juveniles de *Litopenaeus stylirostris* expuestos a la fluctuación de la salinidad de 40, 32, 25, 16, 25, 32 y 40‰ y a tres temperaturas 23, 28 y 33 °C, la tasa de consumo de oxígeno que fue 1.1 a 1.51 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s. para los organismos mantenidos a 23 °C, esta tasa fue de 1.70 a 1.98 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s. en los aclimatados a 28 °C y se incrementó en un 230% en los expuestos a 33 °C. En los juveniles de *L. stylirostris* expuestos a la salinidad de 40‰ y aclimatados a 23 y 28 °C se obtuvo la menor tasa de excreción de amonio de 0.04-0.08 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ p.s. En los camarones mantenidos en 33 °C la tasa de excreción se incrementó significativamente de 0.18 a 0.35 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ p.s. Cuando los organismos fueron expuestos a la fluctuación descendente de la salinidad de 40 a 25‰ la excreción de amonio se incrementó. En la salinidad de 16‰ y en las tres temperaturas en que se mantuvieron los camarones, la producción de amonio se incrementó en promedio en un 220%. Cuando los organismos se expusieron a las salinidades ascendentes la excreción de los camarones disminuyó significativamente ($P < 0.05$). El análisis de varianza indicó que hubo un efecto significativo de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de excreción de amonio de *L. stylirostris* ($P < 0.05$), pero la interacción entre la temperatura y la salinidad no fue significativa ($P > 0.05$). La osmolaridad de la hemolinfa de *L. stylirostris* aclimatado a 23, 28 y 33 °C y expuesto a la fluctuación descendente de 40 a 33‰ (1,278-965 mmol Kg⁻¹) fue hiposmótica con un intervalo de 873 a 777 mmol Kg⁻¹ con respecto al medio externo. En el intervalo de salinidades de 25 a 16‰ (752-556 mmol Kg⁻¹) la hemolinfa de los camarones fue hiperosmótica con un intervalo de 677-770 mmol Kg⁻¹. Cuando se incrementó la salinidad de 25 a 40‰ la osmolaridad del medio interno de los camarones fue hiposmótica con un intervalo de 737-848 mmol Kg⁻¹. Los puntos isosmóticos obtenidos en los camarones expuestos a la fluctuación descendente de la salinidad tuvieron un intervalo de 726-758 mmol Kg⁻¹ (24.9-25.9‰), cuando la salinidad se incrementó este varió de 751-766 mmol Kg⁻¹ (25.7-26.2‰). En los juveniles del camarón azul la capacidad osmorreguladora (CO) fue de hipo a hiperosmótica ya que en las salinidades de (40, 32, 40‰) tuvo un intervalo de -417 a -167, en tanto que en las salinidades de (25, 16, 25‰) aumento de 18 a 143. En los juveniles de *L. stylirostris* aclimatados al punto isosmótico de 25‰ y a la temperatura preferida de 28 °C, así como a salinidades donde fueron hiperosmóticos (20‰) e hiposmóticos (30‰) se determinaron los parámetros del balance energético expresándose en (J día⁻¹ g⁻¹ p.s.). Además se calculó los índices de eficiencia de asimilación bruta (K₁) y neta (K₂). La producción de heces, el consumo de oxígeno y la excreción de amonio de los juveniles fueron afectados significativamente ($P > 0.05$) cuando los organismos fueron aclimatados a las salinidades de 20, 25, y 30‰. El menor gasto energético en el metabolismo de rutina se obtuvo en los organismos mantenidos en 20 y 30‰ y la excreción nitrogenada en la de 25 y 30‰. Sin embargo, las tasas de ingestión de alimento y el campo de crecimiento determinadas para los camarones mantenidos en la salinidad de 20 y 25‰ no variaron significativamente con respecto a las obtenidas para estos procesos en los juveniles expuestos 30‰. Los valores de los índices K₁ y K₂ no fueron significativamente mayores en los organismos que se aclimataron a las tres salinidades. Para optimizar el cultivo de *L. stylirostris* en condiciones controladas, se propone que se realice en salinidades de 25 a 30‰ y temperatura de 28 °C estas

condiciones se consideran como óptimas, debido a que en estos ambientes los organismos están libres de estrés ambiental y por ende se incrementara el crecimiento.

Palabras clave : Termorregulación, Osmorregulación, Bioenergética, camarón azul.

ABSTRACT of the DOCTOR IN SCIENCE ,Thesis presented by ANA DENISE RE ARAUJO as a partial requirement to obtain the Doctor in Science degree with orientation in **MARINE BIOTECHNOLOGY**, Ensenada, Baja California, Mexico del 2004.

TERMORREGULATION, OSMORREGULATION AND ENERGETIC PHYSIOLOGY IN PACIFIC BLUE SHRIMP (*Litopenaeus stylirostris*) (STIMPSON) (CRUSTACEA:PENAEIDAE).

Abstract approved for:


Ph.D. Fernando Díaz Herrera

The physiological responses of *L. stylirostris* were studied in a different combination of temperature and salinity. The oxygen consumption was increased in a direct relationship with temperature, even though in 28° C the metabolic rate was steady, obtained a responses for this condition an responses type I Kinne, (1967). The excretion rate of ammonium of the shrimp acclimated at the temperatures of 23, 28 and 33°C was increased on the lower salinities and this was related with the pattern of osmoregulation. When the shrimp were hyper regulators ammonium increased and decrease when they were hypo regulators, beside the shrimp needed actively to absorb Na⁺ by the operation of interchange pump Na⁺/NH₄⁺. Shrimp maintained at 28°C the ammonium rate was steady, osmoregulatory capacity in the juveniles was typical of many crustaceans which live into lagoon and estuarine systems. The shrimp was hypo-regulators and hyper-regulators by upper and under isosmotic point diminish the osmorregulatory capacity in the organism maintained at 33°C and exposed to higher salinities. The isosmotic points obtained had a interval of 676.8-700.74 mmol Kg⁻¹ (23.7-24.6‰). The values of the slopes between the osmotic concentration of the medium and the haemolymph of shrimp acclimated to 23, 28 and 33 °C were 0.25, 0.17, and 0.3, the lower value of the slope of the juveniles of blue shrimp was obtained at 28°C in this condition they were strong regulators. Juveniles of *Litopenaeus stylirostris* were exposed to the salinity fluctuation as the salinities was changed in sequence 40, 32, 25, 16, 25, 32 and 40‰ and three temperatures 23, 28 and 33 °C. The oxygen consumption rate in *Litopenaeus stylirostris* juveniles exposed to fluctuations of salinity and maintained in 23 °C was 1.1 to 1.51 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ d.w. This rate was of 1.70 to 1.98 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ d.w. in organisms acclimated to 28 °C and its increased in a 230% in that exposed to 33 °C. In the *L. stylirostris* juveniles exposed to salinity of 40‰ and acclimated to 23 and 28 °C was obtained the lower ammonium excretion rate of 0.04-0.08 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ d.w. In the shrimps maintained in 33 °C the excretion rate increased significative of 0.18 to 0.35 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ d.w. When the organisms were exposed to descendent salinities of 40 to 25‰ ammonium excretion increased. In salinity of 16‰ and in the three temperatures in which were maintained the shrimps, the ammonium production increased in average of 220%. When the organisms were exposed to ascendent salinities the excretion of the shrimps was reduced significant. Haemolymph osmolarity of *L. stylirostris* acclimated to 23, 28 and 33 °C and exposed to salinity fluctuation was related linear

obtained that the slopes had an interval of 0.113 to 0.264 . When salinity reduced of 40 to 33‰ (1,278-965 mmol Kg⁻¹) haemolymph concentration was hypo-osmotic with an interval of 873 to 777 mmol Kg⁻¹ with respect to the external medium. In the interval of salinities of 25 to 16‰ (752-556 mmol Kg⁻¹) haemolymph of the shrimps was hyperosmotic with an interval of 677-770 mmol Kg⁻¹. When increased the salinity of 25 to 40‰ the osmolality of the internal medium of the shrimps was hypo-osmotic with an interval of 737-848 mmol Kg⁻¹. The acclimation temperature not affected significant ($P > 0.01$) the values of the isosmotic points of the organisms exposed to salinity fluctuation. The isosmotic points obtained in the shrimps exposed to salinity fluctuation had an interval of 726-758 mmol Kg⁻¹ (24.9-25.9‰), when salinity increased had an interval of 751-766 mmol Kg⁻¹ (25.7- 26.2‰). The osmoregulatory capacity (OC) in juveniles of the blue shrimp was modified significant by salinity ($P < 0.05$) was hypo to hyper-osmotic since in the salinities of (40, 32, 40‰) had an interval of 417 to 167, while in the salinities of (25,16, 25‰) increased of 18 to 143 . In the juveniles were determined the parameters of energetic balance and expressed at (J day⁻¹ g⁻¹ d.w.) and percentage. Physiological rates for consumption food (C), fecal production (F), oxygen consumed (R), increment apparent heat (IAC), nitrogen excretion (U) and molt (E). Blue shrimp was acclimated at preferred temperature 28 °C and 20 (hypersmotic), 25 (isosmotic) and 30‰ (hyposmotic) conditions. Also were calculated the assimilation gross (K₁) and net (K₂) efficiency ratio. Fecal production, oxygen consumption and nitrogen excretion were affected significantly ($P < 0.05$) when the organisms were acclimated to 20, 25 and 30‰. Organism acclimated to 20 and 30‰ had the lower expenditure by metabolism process and nitrogen excretion in the 25 and 30‰. However, food ingestion rate, and the scope for growth determined for the shrimp at 20 and 25‰ were not different in relation with those obtained at salinities of 30‰. The gross and net efficiencies ratio had an interval of 74.61 to 80.07 % at organisms acclimated to the experimental salinities. There were not significant difference ($P > 0.05$) among survival, growth rate, and increment of biomass wet or dried registered at the end of the assays. It was concluded that to optimize the culture of *L. stylirostris* juveniles under controlled conditions we proposed that it be cultivated at the preferred temperature (28 °C) and the salinities of 25 to 30‰ considered the optimum conditions because in these environment the organisms are energetic efficient levels and free of stress and their growth therefore increase.

Key words: Thermoregulation, osmorregulation, bioenergetics, blue shrimp.

DEDICATORIA

**A mi Madre Evelia Araujo Torres
Por su amor, apoyo y sabiduría.**

**A mis Hijos
Badyr Alfredo González Re
Asael Gerardo Arroyo Re
Por darme su Confianza, Amor e Inspiración para perseverar en mis
metas.**

**En forma muy especial a mis hermanos Gerardo y Evelia Re Araujo por
su presencia en mi vida.**

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Díaz Herrera por su amistad, apoyo incondicional y por transmitirme su experiencia y profesionalismo. Principalmente por su aliento e inestimables consejos ante los retos que superamos juntos para el logro de este producto académico.

A los miembros de mi Comité mi agradecimiento por sus comentarios y su evaluación en el desarrollo de este trabajo Dra. Silvia Gómez Jiménez, Dr. Jesús Paniagua Michel, Dr. Facundo Márquez Rocha y Dr. Eugenio Díaz Iglesias.

Al Dr. Francisco Javier Mendieta Director General del CICESE por su apoyo y confianza durante el desarrollo y termino de este trabajo no solo como estudiante, sino como investigadora.

Mi agradecimiento muy especial a Gustavo Valdez por su apoyo y amistad en las horas de trabajo y camaradería.

A todos mis compañeros del Departamento de Biotecnología, de la División de Biología Experimental y Aplicada por su aliento y compañerismo.

Al CICESE por permitirme desarrollar mi trabajo y al mismo tiempo superarme académicamente; así como el apoyo económico a los proyectos internos.

Al Programa SUPERA del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT por la beca que me otorgo en los dos últimos años de la tesis.

CONTENIDO

- i. RESUMEN
- ii. ABSTRACT
- iii. CONTENIDO
- iv. LISTA DE FIGURAS
- v. LISTA DE TABLAS

Página

I.- INTRODUCCIÓN	1
II.- OBJETIVOS	16
III MATERIALES Y METODOS	17
III.1.- Preferéndum de temperatura	18
III.2.- Temperatura crítica máxima (TCMax).	22
III.3.- Consumo de Oxígeno, Excreción de Amonio y Osmorregulación en salinidades constantes y fluctuantes.	23
III.4.- Presión Osmótica del camarón azul en salinidades constantes y fluctuantes.	26
III.5.- Bioenergética del camarón azul a la y temperatura preferida y expuesto a tres salinidades constantes.	27
III.5.1.- Determinación del Alimento consumido (C).	27
III.5.2.- Determinación de la producción de heces (F).	28
III.5.3.- Medición del consumo de oxígeno de rutina y el incrementó de calor aparente.	28
III.5.4.- Medición de la excreción nitrogenada.	29
III.5.5.- Medición del Contenido Energético.	30
III.5.6.- Calculo del campo del crecimiento.	30
III.5.7.- Índices de eficiencia de conversión (K_1 y K_2).	31
IV RESULTADOS	32
IV .1 Termorregulación	32
IV.1.1.- Preferendum de temperatura.	32
IV.2.- Temperatura crítica máxima (TCMax).	37
IV.3.- Efecto de la temperatura y salinidades constantes sobre el consumo de oxígeno	39
IV.4.- Efecto de la temperatura y salinidades fluctuantes sobre el consumo de oxígeno	40
IV.5.- Efecto de la temperatura y salinidades constantes sobre la excreción nitrogenada	45
IV.6.- Efecto de la temperatura y salinidades fluctuantes sobre excreción nitrogenada	47
IV.7.- Efecto de la temperatura y salinidades constantes sobre la osmorregulación	51
IV.8.- Efecto de la temperatura y salinidades fluctuantes sobre la osmorregulación	55
IV.9.- Efecto de la salinidad sobre la bioenergética	58

V DISCUSION	67
V.1.- Temperatura preferida y T.C.Max.	67
V.2.- Consumo de Oxígeno, Excreción Nitrogenada y Osmorregulación en Salinidades constantes y fluctuantes.	71
V.3.- Efecto de la salinidad sobre la bioenergética	75
VII Literatura Citada	84
VIII. ANEXO	98
Publicación 1.- Ciencias Marinas (2004), 30(3): 443-453.	98
Publicación 2.- Journal of Shellfish Research Vol 23 No3. (December, 2004).	98

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Distribución del género <i>Litopenaeus stylirostris</i> en el Pacífico.	3
Figura 2. Diagrama de un estudio ecofisiológico centrado en el organismo (modificado de Espina y Vanegas, 1996).	5
Figura 3 Diagrama del gradiente térmico horizontal utilizado para la determinación de la temperatura preferida por los juveniles de <i>L. stylirostris</i> . Descrito por Díaz <i>et al.</i> (2000).	20
Figura 4 Sistema respirométrico con 20 camaras experimentales de acrílico y un control.	24
Figura 5 Temperatura preferida por los juveniles de <i>L.stylirostris</i> en un ciclo de 24 horas mantenidos en la salinidad de 10‰. El área indica los intervalos de confianza del 95% para la mediana.	33
Figura 6 Temperatura preferida por los juveniles de <i>L.stylirostris</i> en un ciclo de 24 horas mantenidos en la salinidad de 20‰. El área indica los intervalos de confianza del 95% para la mediana.	34
Figura 7 Temperatura preferida por los juveniles de <i>L.stylirostris</i> en un ciclo de 24 horas mantenidos en la salinidad de 30‰. El área indica los intervalos de confianza del 95% para la mediana.	35
Figura 8 Temperatura preferida por los juveniles de <i>L.stylirostris</i> en un ciclo de 24 horas mantenidos en la salinidad de 40‰. El área indica los intervalos de confianza del 95% para la mediana.	36
Figura 9 Temperatura critica maxima del camarón azul tomando como punto final la (DT) desorientación total.	38
Figura 10 Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) en <i>L. stylirostris</i> aclimatado a la temperatura de 23 y 28 °C expuesto a diferentes salinidades constantes.	41
Figura 11 Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) en <i>L. stylirostris</i> aclimatado a la temperatura de 33 °C y expuesto a diferentes salinidades constantes.	42
Figura 12 Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) de <i>L. stylirostris</i> aclimatado a 23 °C y expuestos a salinidades fluctuantes	43

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 13 Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) de <i>L. stylirostris</i> aclimatado a 28 °C y expuestos a salinidades fluctuantes	44
Figura 14 Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) de <i>L. stylirostris</i> aclimatado a 33 °C y expuestos a salinidades fluctuantes	45
Figura 15 Excreción de amonio ($\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) en <i>L. stylirostris</i> aclimatado a la temperatura de 23 y 28 °C y expuesto a salinidades constantes.	46
Figura 16 Excreción de amonio ($\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) en <i>L. stylirostris</i> aclimatado a la temperatura de 33 °C y expuesto a salinidades constantes.	47
Figura 17 Tasa de excreción nitrogenada ($\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) de <i>L. stylirostris</i> a una temperatura de 23 °C y expuestos a salinidades fluctuantes.	48
Figura 18 Tasa de excreción nitrogenada ($\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) de <i>L. stylirostris</i> a una temperatura de 28 °C y salinidades fluctuantes.	49
Figura 19 Tasa de excreción nitrogenada ($\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$) de <i>L. stylirostris</i> a una temperatura de 33 °C y expuesto salinidades fluctuantes.	50
Figura 20 Presión osmótica de la hemolinfa del camarón azul <i>L. stylirostris</i> aclimatado a 23, 28 y 33 °C y a salinidades constantes.	52
Figura 21 Capacidad osmorreguladora del camarón azul <i>L. stylirostris</i> aclimatado a 23, 28 y 33 °C y a salinidades constantes.	53
Figura 22 Presión osmótica del camarón azul <i>L. stylirostris</i> aclimatado a 23, 28 y 33 °C y expuesto a salinidades fluctuantes.	55
Figura 23 Capacidad osmorreguladora de <i>Litopenaeus stylirostris</i> aclimatado a tres temperaturas y a salinidades fluctuantes.	56
Figura 24 Crecimiento promedio semanal de <i>L. stylirostris</i> en tres condiciones experimentales de salinidad 20, 25, y 30‰.	58

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 25	Distribución porcentual de la energía utilizada en los diferentes procesos del balance energético evaluada para los juveniles de <i>L. stylirostris</i> expuestos a las salinidades de 20, 25 y 30‰. Producción de heces (F), Metabolismo de rutina (R), Excreción nitrogenada (U), Incremento de calor aparente (ICA) y Energía potencial para el crecimiento (P).	60
Figura 26	Capacidad osmorreguladora de <i>L. stylirostris</i> en 20‰.	62
Figura 27	Capacidad osmorreguladora de <i>L. stylirostris</i> en 25‰.	63
Figura 28	Capacidad osmorreguladora de <i>L. stylirostris</i> en 30‰.	64

LISTA DE TABLAS

	Páginas
Tabla I. Composición proximal del alimento balanceado Rangen® proporcionado a los juveniles de <i>L. stylirostris</i> .	17
Tabla II. Temperaturas preferidas diurnas y nocturnas de juveniles de <i>L. stylirostris</i> aclimatados a diferentes salinidades, Medianas ($\pm$ intervalo de confianza), peso promedio de los organismos ($\pm$ error standard) y número de organismos utilizados.	36
Tabla III. Temperatura Critica Máxima (TCMax) en el camarón azul <i>Litopenaeus stylirostris</i> . Medianas $\pm$ I.C. al 95% de confianza temperaturas de aclimatación y salinidades experimentales.	37
Tabla IV. Relación de la respuesta de aclimatación (RRA) de <i>L. stylirostris</i> a diferentes salinidades.	39
Tabla V. Relación entre la osmolaridad de la hemolinfa (M.I.) y la osmolaridad del medio externo (M.E.) en <i>Litopenaeus stylirostris</i> aclimatado a diferentes temperaturas y expuesto a salinidades constantes.	51
Tabla VI. Relación entre la osmolaridad de la hemolinfa (Y) y la osmolaridad del medio externo (X) en <i>Litopenaeus stylirostris</i> aclimatado a diferentes temperaturas y expuesto a la fluctuación de la salinidad.	54
Tabla VII. Datos morfométricos y porcentaje de sobrevivencia de los juveniles de <i>L. stylirostris</i> utilizados en los estudios de bioenergética y aclimatados a 20, 25 y 30‰.	57
Tabla VIII. Tasas fisiológicas ($J\text{ día}^{-1}\text{ g}^{-1}$ de peso seco) medianas $\pm$ Intervalos de confianza al 95% de los juveniles de <i>L. stylirostris</i> en tres condiciones de salinidad. Donde el consumo de alimento (C), producción de heces (F) metabolismo de rutina (R), Excreción nitrogenada (U), incremento de calor aparente (ICA) y energía potencial para el crecimiento (P); (K_1) y (K_2) índices de eficiencia de conversión bruta y neta respectivamente. Letras iguales indican ausencia de diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).	59

LISTA DE TABLAS (continuación)

	Páginas
Tabla IX Consumo de oxígeno (VO_2) promedio con su respectiva desviación estándar de los juveniles de <i>L. stylirostris</i> recién alimentados y mantenidos en inanición durante 24 horas, se presenta el ICA obtenido. Letras iguales indican ausencia de diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).	61

I.- INTRODUCCIÓN

En México el camarón se explota comercialmente en dos regiones el Océano Pacífico y Golfo de México, las especies de mayor importancia comercial pertenecen a los géneros clasificados por Pérez-Farfante y Kensley (1997) como *Litopenaeus* (camarón blanco y azul) y *Farfantepenaeus* (camarón café y rojo). El camarón azul *Litopenaeus stylirostris* se encuentra distribuido en México desde Punta Abreojos, Baja California hasta Tumbes, Perú (Figura 1). En la porción central y norte del Golfo de California es la segunda especie de mayor abundancia y es dominante en las lagunas, estuarios y bahías desde el norte de Mazatlán hasta el río Colorado. Habita en aguas costeras entre los 0 y 30 metros de profundidad generalmente vive en fondos fangosos o fango arenosos (Aragón, 2000).

La camaronicultura en los últimos años se ha desarrollado a nivel mundial, alcanzando en 1995 una producción de 712 000 toneladas métricas de camarón cultivado Rosenberry, (1994). Entre los principales productores mundiales de camarón cultivado se cuentan China, Indonesia, Tailandia y Filipinas. En México esta modalidad productiva se ha desarrollado en los últimos años, sobre todo en las costas del Pacífico; el mayor productor es Sinaloa, al que le sigue Sonora, y por último Nayarit, los dos primeros cuentan con laboratorios para producir comercialmente larvas y postlarvas (Rosenberry, 1994).

El camarón a nivel mundial es un recurso pesquero que genera divisas. En México esta modalidad productiva desde su introducción en los años 70s se ha desarrollado de una manera importante, lo que ha generado fuentes de trabajo y ganancias principalmente en la región noroeste de la costa del Pacífico. La producción de camarón cultivado para el año 2002 en México, fue de 45 000 ton. Lo que representó ingresos de 2700 millones de pesos en un total de 44861.8 ha. (SEMARNAP, 2002). De las especies de camarón que se reproducen en cautiverio ocho son consideradas como importantes desde el punto de vista

comercial, sin embargo en México solo se cultivan dos *Litopenaeus vannamei* y *L. stylirostris* la primera es la que se ha cultivado mas ampliamente.

Un obstáculo para el futuro desarrollo de esta industria en el noroeste de México es el régimen climático. Esta parte esta considerada como semiárida, templada en la cual las temperaturas del agua de las regiones costera, permanece por abajo de los 20 °C durante cuatro a cinco meses del año, limitando esto al cultivo de los camarones a un periodo de siete a ocho meses (marzo a octubre).

En el cultivo del camarón hay cuatro factores ambientales que se consideran de importancia primordial : la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto y la turbiedad (concentración algal). Los dos últimos dependen de la comunidad biológica de la poza o el estanque. Con la temperatura y la salinidad se pueden conducir experimentos independientes para aislar los efectos de estos parámetros ambientales sobre las respuestas fisiológicas de los organismos (Fast y Lester,1992). Estos factores son relevantes desde el huevo hasta el adulto ya que modifican la tasa metabólica y la excreción de desechos nitrogenados (Lemos *et al.*, 2001) Además de lo anterior las condiciones de espacio, el conocimientos de los aspectos de la alimentación; el estado nutrimental, y el estado reproductivo se consideran relevantes para el éxito del cultivo de los organismos acuáticos.

La temperatura es el factor directriz ya que modifica el metabolismo en cada etapa del ciclo de vida de los organismos, propicia además una serie de condiciones ambientales, las cuales se les ha denominado como optimas, cuando las respuestas fisiológicas del organismos están en equilibrio y letales cuando al organismo le causan estrés, y disminuyen la sobrevivencia en exposiciones prolongadas. Los estudios ecofisiológicos permiten evaluar estas respuestas en un marco centrado a nivel del organismo (Figura 2).

Las altas temperaturas afectan el funcionamiento de los organismos acuáticos, como consecuencia de disminuir la tasa de ingestión, el crecimiento, así como se promueve la proliferación de organismos patógenos. Las bajas temperaturas propician la disminución de la

temperatura corporal, de la respuesta inmune, y la actividad natatoria (Jobling, 1981; De la Lanza Espino, 1998).



Figura.1.- Distribución del genero *Litopenaeus stylirostris* en el Pacifico.

En nuestro país muchas de las granjas de producción de camarón están localizadas en estados donde existen fluctuaciones térmicas y salinas. El manejo de las condiciones del cultivo de camarón es aún muy deficiente y los cambios ambientales son difícilmente contrarrestados, por lo que los organismos se ven afectados en su fisiología cuando hay sequías prolongadas o por el contrario inundaciones que los exponen a cambios térmicos así como salinos (Fast y Lester, 1992). Los factores ambientales mas importantes que afectan la vida de los peneidos eurihalinos son, la temperatura del agua y la salinidad (Chen *et al*, 1995.)

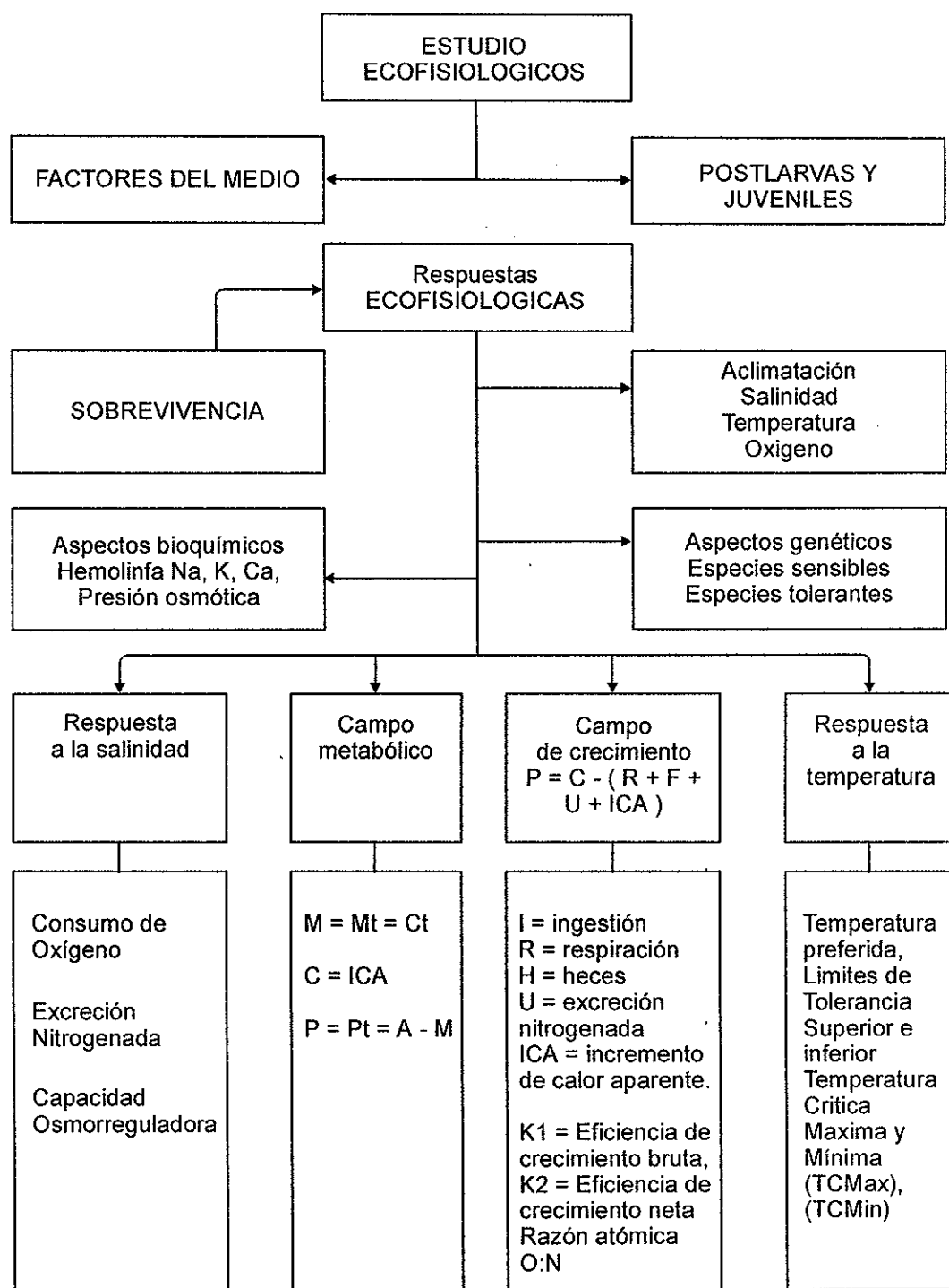


Figura 2.- Diagrama de un estudio ecofisiológico centrado en el organismo (modificado de Espina y Vanegas, 1996).

Kinne (1967) resalto la importancia de evaluar el efecto combinado de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento de los organismos marinos. De acuerdo a Clark (1992) la capacidad adaptativa de los camarones peneidos es especifica y esta determinada por un numero de factores que han causado que las especies de camarones se distribuyan diferencialmente en el gradiente marino-estuarino.

Las especies que viven en ambientes heterogéneos deben ser fisiológicamente tolerantes a los cambios de temperatura ya que han adaptado sus funciones metabólicas para convertir el alimento en energía útil para crecer y reproducirse (Hutchison y Maness, 1979). Desde un punto de vista fisiológico el comportamiento termorregulador que se ha determinado en los organismos acuáticos puede ser utilizado como un mecanismo homeostático, el cual tiende a mantener una temperatura interna favorable que les permita a los organismos una optimización de los procesos fisiológicos y bioquímicos (Reynolds, 1979, Reynolds y Casterlin, 1979a).

La termorregulación es una respuesta que los organismos utilizan para mantener sus funciones fisiológicas relativamente estables e independientes de los cambios ambientales de temperatura (Lagerspetz, 1974). Las respuestas de preferencia y evitación son aspectos inseparables del comportamiento termorregulador de los organismos en condiciones naturales, y ellos pueden ser modificados por factores internos, antropogénicos, ambientales, por la edad y tamaño de los organismos y pueden cambiar de acuerdo a las horas del día (Giattina y Garton, 1982, Nichelman, 1983). Los intervalos de temperatura en los cuales los organismos se congregan o pasan la mayor parte del tiempo, son definidos operacionalmente como temperatura preferida o preferencias térmicas (Reynolds y Casterlin, 1979b). Para obtener una determinación precisa se han propuesto dos métodos a partir de la definición bipartita propuesta por Fry (1947), el método agudo y el gravitacional. En el agudo la preferencia térmica generalmente se determina durante las siguientes dos horas que los organismos fueron introducidos al gradiente y es influenciada por la temperatura de aclimatación. En el gravitacional el preferendúm se determina solamente después que los organismos se les permite gravitar libremente el tiempo

suficiente para que se ubiquen en la región de la temperatura preferida (Jobling, 1981; Reynolds y Casterlin, 1979a).

Se han realizado pocos trabajos del comportamiento termorregulador en crustáceos de ambientes marinos. Entre estos destacan en *Homarus americanus* (Reynolds y Casterlin, 1979b; Crossin *et al.*, 1998; Jury y Watson III, 2000), *Palaemonetes vulgaris* (Casterlin y Reynolds, 1979), *Panulirus argus* (Reynolds y Casterlin, 1979c), *Farfantepenaeus duorarum* (Reynolds y Casterlin, 1979d), *F. chinensis* (Miao y Tu, 1995), *Penaeus monodon* (Chen y Chen, 1999), *Panulirus interruptus* (Díaz Iglesias *et al.*, 2004).

De las especies de crustáceos de agua dulce que han sido estudiadas para conocer su comportamiento termorregulador destacan los realizados en *Orconectes obscurus* (Hall *et al.*, 1978, Mathur *et al.*, 1982); *Procambarus spiculifer* (Taylor, 1990); *Macrobrachium rosenbergii* (Díaz *et al.*, 1993; Díaz y Bückle, 1993); *Procambarus clarkii* (Espina *et al.*, 1993; Bückle *et al.*, 1994; Bückle *et al.*, 1996); *Macrobrachium tenellum* Hernández *et al.*, (1996); *Macrobrachium acanthurus* (Díaz *et al.*, 2002) y *Cherax quadricarinatus* (Díaz *et al.*, 2004) quienes han obtenido una relación entre el comportamiento termorregulador y la temperatura óptima para algunas funciones fisiológicas como el metabolismo, reproducción y crecimiento.

A continuación de la zona de tolerancia se encuentra la de resistencia, que se caracteriza por la interacción entre la temperatura y el tiempo de exposición de los animales a ella (Paladino *et al.*, 1980) el límite superior e inferior de esta zona esta representado por la temperatura crítica máxima (TCMax) y mínima (TCMin) que fueron introducidas por Cowles y Boggert (1944), modificadas por Lowe y Vance (1955) y estandarizadas por Hutchison (1981). Las cuales se definen según Cox (1974) como la media aritmética de los puntos térmicos en los que la actividad locomotora de los organismos comienzan a desorganizarse y pierden la habilidad de escapar de condiciones que los llevarán rápidamente a la muerte cuando son calentados o enfriados a una tasa constante desde una temperatura previa de aclimatación.

El conocimiento de la temperatura crítica mínima y máxima proporciona un indicador ecológico relevante, ya que el camarón azul en su hábitat natural puede encontrar tanto temporal como espacialmente esas temperaturas como fluctuaciones agudas fuera de sus límites de tolerancia. (Lutterschmit y Hutchison, 1997 a y b) mencionan que la temperatura crítica máxima ocurre en diferentes temperaturas así como en diferentes especies, las respuestas de comportamiento son las mismas para una diversidad de taxas, ya que conforme la temperatura se incrementa, los animales generalmente muestran una secuencia de respuestas que incluyen la primera pérdida de equilibrio (PPE), la aparición de espasmos musculares (EM) y finalmente el rigor al calor, coma o muerte. Paladino *et al.*, (1980) mencionan que en las practicas acuiculturales es de fundamental importancia conocer la TCMin. y la TCMax. ya que son buenos indicadores de la resistencia térmica de los organismos. Son métodos no destructivos que permiten identificar las temperaturas en las que ocurren los primeros síntomas de estrés en los animales. Por estas razones la TCMax. es un excelente índice para evaluar los requerimientos de la fisiología térmica de los organismos acuáticos de importancia comercial.

De acuerdo a Claussen (1977) la relación de la respuesta de aclimatación (RRA) es un índice de la magnitud de la aclimatación térmica de los organismos, los datos existentes para la RRA para diferentes especies de crustáceos sugieren que las especies que habitan en regiones frías y templadas tienen valores bajos comparados con los subtropicales y tropicales que tienen valores altos, indicando que esos valores son dependientes del gradiente geográfico térmico en donde se distribuyen los organismos (Díaz *et al.*, 2002; Pérez *et al.*, 2003; Díaz *et al.*, 2004)

Mathur *et al.* (1980) y Jobling (1981) han dirigido sus investigaciones a aspectos de tolerancia térmica pues existe un gran interés de colocar granjas piloto en diferentes zonas donde se ubican termoeléctricas y aprovechar los efluentes para el cultivo de peces y crustáceos. Sin embargo los estudios fisiológicos no están a la par de las necesidades

específicas de las áreas de cultivo; por lo que se requiere de mayor información de estudios fisiológicos y de comportamiento para lograr encarar con éxito su crianza.

La medición del consumo de oxígeno en los organismos acuáticos es un método válido para evaluar las respuestas del efecto de factores externos como la temperatura, la salinidad, la intensidad luminosa y la concentración de oxígeno disuelto, ya que permite determinar la extensión del estrés fisiológico que estas combinaciones le imponen a los organismos (Kinne, 1970; Villarreal, 1993; Villarreal-Ocampo, 1993; Brown *et al.*, 1999).

Los experimentos para medir la tasa metabólica que se han llevado a cabo en varias especies acuáticas, involucran tanto factores térmicos como salinos los cuales han sido experimentalmente confrontados separados o combinados. En función del incremento en la temperatura y su exposición a las bajas salinidades, los organismos utilizan una mayor cantidad de energía para mantener su condición fisiológica estable (Bishop *et al.*, 1980; Gaudy y Sloane, 1981; Kurmaly *et al.*, 1989; Rosas *et al.*, 1997).

En general se puede decir que cuando la temperatura aumenta se aumenta la tasa de consumo de oxígeno en los crustáceos como en *P. indicus* (Kutty *et al.*, 1971). Por otra parte si el cambio en la salinidad es brusco también se observa un incremento en el consumo de oxígeno como el descrito en *P. japonicus* por Dalla Via (1986).

En varias especies de crustáceos como *P. monodon* (Kurmaly *et al.*, 1980), *Palaemon serratus* (Yagi *et al.*, 1990), *L. vannamei* (Martínez-Palacios *et al.*, 1996), *L. setiferus* (Rosas *et al.*, 1997) se midió la tasa metabólica en condiciones combinadas térmicas y salinas obteniéndose tasas altas. Por otra parte cuando las condiciones no son extremas o se acercan a los intervalos óptimos de temperatura los organismos presentan consumos de O₂ estables como lo encontraron para *Palaemonetes vulgaris* (McFarland y Pickens, 1965), *F. aztecus* (Bishop *et al.*, 1980) y *F. schmitti* (Rosas *et al.*, 1997).

La excreción de amonio en los crustáceos es afectada por factores intrínsecos como el tamaño corporal, el estadio del ciclo de muda y por factores extrínsecos como la temperatura, la salinidad, y el oxígeno disuelto (Needham, 1957). El amonio representa del 40 al 90% del nitrógeno total excretado por los crustáceos el cual es continuamente liberado a través del epitelio branquial (Harstein, 1970; Kinne, 1976; Regnault, 1987). Una decremento de la concentración osmótica ambiental da como resultado una disminución en los aminoácidos en los tejidos con un consecuente incrementó en la excreción de amonio de los organismos (Lange, 1972). Se han cuantificado el efecto de la salinidad y la temperatura sobre la excreción nitrogenada en algunas especies de crustáceos de importancia comercial como en *Macrobrachium rosenbergii* (Nelson *et al.*, 1977; Stern *et al.*, 1984; Díaz *et al.*, 1993); *Fenneropenaeus indicus* (Gerhardt, 1980), *F. chinensis* (Chen y Lin, 1992, 1995); *Marsupenaeus japonicus* (Chen y Lai, 1993); *Penaeus monodon* (Chen *et al.*, 1994); *Farfantepenaeus aztecus* (Hernández y Díaz, 1995); *Litopenaeus vannamei* (Jiang *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2001).

La función del amonio en los procesos de osmorregulación ha sido estudiado en dos aspectos, como un constituyente de los aminoácidos libres para la regulación osmótica intracelular (Bishop *et al.*, 1980) y como un ion de intercambio para la regulación del Na^+ en la hemolinfa de los crustáceos (Mangum *et al.*, 1976; Pressley *et al.*, 1981).

En la fisiología de los organismos acuáticos, la salinidad desempeña un papel importante, porque determina su distribución y sobrevivencia (Ponce Palafox *et al.*, 1997; Díaz *et al.*, 2001). La manera en que estos organismos responden a estas variaciones es adaptándose al ambiente, al desarrollar mecanismos de osmorregulación que les permitan regular su medio interno; éste proceso se realiza en la hemolinfa y el intercambio se obtiene a través del tejido branquial y el tracto digestivo principalmente (Stern *et al.*, 1984; Eckert *et al.*, 1990; Chen y Lin, 1994; Pequeux, 1995).

La preferencia por aguas de baja salinidad es un factor importante en la migración de los camarones peneidos del mar hacia las zonas de crianza, como estuarios, bahías y

lagunas costeras. Los peneidos tienen por esto una preferencia por aguas de salinidades menores al agua de mar. La mayoría de los estudios sobre osmorregulación han sido enfocados con adultos y solo unos pocos trabajos se han realizado en postlarvas y juveniles (Charmantier *et al.*, 1988). Esta información es relevante para el manejo exitoso de los cultivos de peneidos ya que permitirían un adecuado traslado de las postlarvas de los laboratorios o de los centros de acopio a los criaderos, así como delimitar las condiciones adecuadas de salinidad para cultivarlos.

La variación ambiental de la salinidad desorganiza el balance osmótico en los peneidos, causando que los organismos reajusten la concentración osmótica de su hemolinfa. En los crustáceos decápodos la habilidad para osmorregular fue evaluada por Charmantier *et al.*, (1988, 1989 a, b) a través de la capacidad osmorreguladora (CO), la definieron como la diferencia entre la osmolaridad de la hemolinfa y la del medio externo a una salinidad determinada. La CO es una prueba útil para evaluar la condición fisiológica de los camarones así como para detectar los efectos subletales del estrés en los sistemas del cultivo (Lignot *et al.*, 2000).

Se ha demostrado que cuando los camarones juveniles son expuestos a cambios ambientales hay una modificación en el balance iónico y osmótico (Williams, 1960; Castille y Lawrence, 1981; Hernández y Díaz, 1995; Díaz *et al.*, 2001; Lemaire *et al.*, 2002) de la actividad respiratoria (Dalla Via, 1986; Villarreal *et al.*, 1994; Chen y Lin, 1995; Rosas *et al.*, 1997, 2001; Villarreal *et al.*, 2003) el crecimiento (Bray *et al.*, 1994; Wyban *et al.*, 1995; Ponce-Palafox *et al.*, 1997; Kumlu *et al.*, 2001; Coman *et al.*, 2002). Estos estudios han proporcionado evidencias que los camarones peneidos están adaptados a tolerar las fluctuaciones naturales de los factores ambientales. El monitorear la condición fisiológica de los crustáceos mediante la osmorregulación, puede tener un uso potencial como biomarcador así como para ser considerado en la acuicultura, para la detección temprana de las condiciones de cultivo adversas incluyendo la calidad del agua (Charmantier *et al.*, 1989a; Lignot *et al.*, 2000). La osmorregulación es un mecanismo importante de adaptación ambiental en especies acuáticas particularmente en los crustáceos

(Pequeux, 1995). Actualmente hay una necesidad de los acuacultores de camarón para desarrollar mediciones individuales de parámetros fisiológicos y bioquímicos para evaluar el estado fisiológico de los camarones y por lo tanto predecir el efecto del estrés, los contaminantes, así como para conocer las condiciones óptimas para su cultivo (Lignot *et al.*, 1999; Brito *et al.*, 2000).

Durante las últimas cuatro décadas, la fisiología osmorreguladora de diferentes especies de peneidos ha sido estudiada para evaluar las condiciones óptimas para su cultivo: *Farfantepenaeus aztecus* (Bishop *et al.*, 1980; Castille y Lawrence, 1981; Howe *et al.*, 1982; Hernández y Díaz, 1995); en *Litopenaeus setiferus*, *L. stylirostris* y *L. vannamei* (Williams, 1960; Castille y Lawrence, 1981; Rodríguez, 1981; Re *et al.*, 2004) en *P. esculentus*, *Fenneropenaeus merguensis* y *Metapenaeus bennettiae* (Dall, 1981) en *F. indicus* (Parado-Esteva *et al.*, 1987) en *P. monodon* (Cawthorne *et al.*, 1983; Ferraris *et al.*, 1986) y *P. semisulcatus* Clark, (1992). Sin embargo los procesos de osmorregulación en estos organismos fueron estudiados en regímenes de salinidad constante. Mientras que los sistemas lagunares-estuarinos en donde normalmente habitan estos crustáceos, son inestables y presentan marcadas fluctuaciones en la temperatura, la salinidad y el oxígeno disuelto a lo largo del año (Salvato *et al.*, 2001)

Con respecto a las decisiones para seleccionar sitios de cultivo se debe considerar el ahorro energético que tendrán los organismos cuando no se encuentran bajo estrés osmótico ya que la energía se podrá canalizar a crecimiento (Pannikar, 1968). Este tipo de trabajos ayudan a conocer las ventajas adaptativas que tienen las especies y así se tendrá un mayor éxito al elegir la especie más adecuada al entorno o al tipo de cultivo (extensivo, intensivo o de alto rendimiento).

Si existe un buen equilibrio o balance energético adecuado es decir que el organismo cuenta con suficientes recursos energéticos este podrá crecer y reproducirse. La energía es un componente indispensable para el mantenimiento de los procesos vitales

como son el metabolismo celular, el crecimiento, la reproducción y otros (Tacon, 1987; Lucas, 1996).

La alimentación y la nutrición son necesidades de los seres vivos, que involucran aspectos anabólicos y catabólicos. En la dieta se involucran cerca de 50 sustancias específicas, que en forma general se pueden dividir en cinco grupos: carbohidratos, lípidos (ácidos grasos), proteínas (aminoácidos), vitaminas y minerales. Se ha destacado la importancia que tiene la temperatura en los aspectos nutricionales y fisiológicos ya que determina que las tasas de alimentación y de utilización de la energía se modifiquen conforme este factor se incrementa o se disminuye. Las respuestas fisiológicas de un organismo en función de los cambios dietéticos pueden ser medidos, al utilizar parámetros fisiológicos integrados como el metabolismo, la excreción y las tasas de crecimiento (Rosas *et al.*, 2000).

Los estudios de energética nutricional en crustáceos están menos desarrollados que los realizados en mamíferos, pero las investigaciones con enfoque bioenergético y los modelos predictivos pueden ser de gran beneficio para el desarrollo de la acuicultura de organismos acuáticos. Los balances energéticos pueden ser definidos en periodos cortos de tiempo y permiten hacer una rápida y razonable predicción de los efectos de factores bióticos como abióticos, dietas y condiciones de cultivo. El objetivo de los experimentos de crecimiento en los crustáceos de importancia comercial debiera ser el aislamiento y la optimización de aquellos factores como la temperatura, la salinidad y los nutrientes ya que tienen un efecto sinérgico y afectan la tasa de crecimiento de los organismos cultivados (Clifford y Brick, 1979).

La bioenergética de un organismo heterotrófico (camarón, langostino o acocil) puede ser definida a través de la construcción de un balance energético en el cual la entrada de nutrientes es dividida en dos componentes metabolismo y crecimiento (Calow, 1977). Las respuestas metabólicas para varios componentes alimenticios son importantes para determinar los procesos fisiológicos, que proveen la energía proveniente de los nutrientes y

que dan en los organismos un índice de la eficiencia y utilización así como del potencial promotor del crecimiento de una dieta específica (Capuzzo, 1982). Los procesos fisiológicos que componen el balance energético de un organismo (ingestión, absorción, respiración, excreción, crecimiento somático y reproductivo) se encuentran funcionalmente unidos y cualquier cambio que experimente uno de ellos afectara a todos los demás (Jobling, 1994)

Una manera de determinar el gasto y la distribución de la energía en un organismo que es destinada para cubrir sus requerimientos metabólicos, es realizando un balance energético; debido a que permite conocer la eficiencia metabólica de los organismos, así como los requerimientos, utilización y transferencia de la energía obtenida en el alimento consumido (Lucas, 1996). La distribución de la energía para el metabolismo y crecimiento en los organismos se puede describir, mediante la ecuación energética propuesta por Klekowski y Duncan (1975).

$$C = P + R + F + U \quad (1)$$

Donde (C) es la energía incorporada a través del alimento consumido, (P) es la fracción de la energía que corresponde al campo de crecimiento en los organismos juveniles o producción de gametos en los adultos, (R) es la porción de la energía que se canaliza en los procesos de respiración y la locomoción entre otros, (F) es la porción de energía ingerida que se pierde por las heces y (U) es la parte de la energía asimilada, que se excreta como productos nitrogenados.

Algunos investigadores, como Beamish y Trippel (1990) han incluido un nuevo componente a la ecuación 1, el cual es conocido como incrementó de calor (IC); este se refiere a la medición del costo metabólico de los procesos siguientes a la absorción de los componentes del alimento ingerido. Sin embargo, debido a que es muy difícil separar este requerimiento energético del ocasionado por los aspectos mecánicos de la alimentación, es

que se optó por llamarlo incremento de calor aparente (ICA). Por lo que partiendo de la ecuación 1 se incorporó este termino:

$$C = P + R + U + F + ICA \quad (2)$$

Al convertir las tasas fisiológicas a sus equivalentes energéticos, pueden ser usadas en la ecuación de balance energético para calcular la energía potencial de crecimiento o campo de crecimiento de los organismos acuáticos de importancia comercial.

En los crustáceos decápodos se han realizado balances energéticos en larvas de *Mennipe mercenaria* (Mootz y Epifanio, 1974); *Homarus americanus* (Logan y Epifanio, 1978; Sasaki *et al.*, 1986); *Rhydropanopeus harrisi* (Levine y Sulkin, 1979); *Cancer irroratus* (Johns, 1982); *Carcinus maenas* (Klein-Breteler, 1975; Dawirs, 1983) y *Penaeus monodon* (Kurmaly *et al.*, 1989). En juveniles de *Macrobrachium rosenbergii* (Nelson *et al.*, 1977; Clifford y Brick, 1979; Díaz-Herrera *et al.*, 1992; Pérez-Cruz *et al.*, 1995; Sierra y Díaz, 1999); *Metapenaeus monocerus* (Ramadhas *et al.*, 1979); *Farfantepenaeus brasiliensis* (Zúñiga-Romero, 1983); *Procambarus clarkii* (Sanguarung, 1988; Barón Sevilla *et al.*, 1994; Gutiérrez-Yurrita y Montes, 2000); *Cherax tenuimanus* (Villarreal, 1991, 1998) *Callinectes sapidus* (Guerin y Stickle, 1992); *Callinectes similis* (Guerin y Stickle, 1997); *Panulirus argus* (Díaz-Iglesias *et al.*, 2001 a,b,c,) y *Litopenaeus vannamei* (Rosas *et al.*, 1988; Zhu *et al.*, 2004; Rosas *et al.*, 2004). En adultos de *Chionectes bairdi* (Paul y Fuji, 1989; *Callinectes rathbunae* (Rosas *et al.*, 1993), *Farfantepenaeus notialis* (Rosas *et al.*, 1993); *Procambarus clarkii* (Sierra *et al.*, 1997).

Los estudios ecofisiológicos en el camarón azul son escasos por lo que es necesario investigar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre la fisiología, crecimiento y reproducción, así como de aquellos aspectos que permitan a los acuacultores de camarón un mejor manejo en condiciones controladas. Este estudio reúne las respuestas fisiológicas más importantes para predecir las condiciones optimas para la acuicultura del camarón azul.

II.- OBJETIVOS

Evaluar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre diferentes respuestas fisiológicas tanto simples como complejas en los juveniles del camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) que permitan determinar las mejores condiciones ambientales de cultivo e inferir las áreas geográficas optimas donde se le puede cultivar, asegurándose que los organismos estarán libres de estrés ambiental.

- Se determinara el efecto combinado de la salinidad sobre la temperatura preferida y verificar si esta corresponde a la temperatura óptima de crecimiento.
 - Cuantificar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre la tolerancia térmica representada por la temperatura crítica máxima (TCMax) y calcular la relación de la respuesta de aclimatación (RRA) en los juveniles de *Litopenaeus stylirostris*.
 - Determinar el consumo de oxígeno, excreción de amonio, patrón de osmorregulación así como los puntos isosmóticos en camarones mantenidos en diferentes temperaturas y expuestos a salinidades constantes y fluctuantes para obtener las combinaciones optimas donde se pueden cultivar.
 - Evaluar el balance energético y la capacidad osmorreguladora de los juveniles de *L. stylirostris* mantenidos en la temperatura preferida y expuestos a diferentes salinidades fijas para determinar en que condiciones de salinidad se optimiza el crecimiento de los organismos.
-

III MATERIALES Y METODOS

Los camarones experimentales de *Litopenaeus stylirostris* (n = 5000) provinieron de granjas camaronicolas de los estados de Sinaloa y Sonora (Laboratorios: Aquanova en Sinaloa, y de la granja y laboratorio de producción “Camarón Dorado”, en Huatabampo, Sonora).

Durante la fase de mantenimiento los organismos se colocaron en 3 estanques ovalados de 3 ton provistos con aireación constante, recambio continuo de agua de mar de 35‰ y a una temperatura de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se alimentaron diariamente con alimento comercial Rangen® (Tabla I) en dos raciones diarias al 8% de su peso húmedo. Posteriormente los juveniles se trasladaron (n = 500) al laboratorio y se colocaron en 4 estanques circulares de 500 l y fueron aclimatados por 15 días a una temperatura ($28\text{ }^{\circ}\text{C}$) y a las 4 salinidades experimentales (10, 20, 30, y 40‰).

Tabla I. Composición proximal del alimento balanceado Rangen® proporcionado a los juveniles de *L. stylirostris*.

Componente	Nivel (%)
Proteína (Mínimo)	40.0
Lípidos (Mínimo)	8.0
Carbohidratos (Máximo)	4.0
Cenizas (Máximo)	15.0
Fósforo (Mínimo)	1.0

Composición de la Dieta Rangen (animal): Granos procesados, calamar seco, aceite de pescado, lecitina de soya.. **Vitaminas:** C, biotina, cloruro de colina, ácido fólico, niacina, ácido pantoténico, piridoxina, riboflavina, tiamina, B12, A, D3, E, K3. **Sales:** sulfato de cobre, sulfato de potasio, fosfato de sodio, ioduro de potasio, cloruro de sodio, sulfato de zinc, etoxyquina, ácido propiónico, ácido ascórbico.

Los experimentos que se diseñaron para el camarón azul comprendieron aspectos de termorregulación, metabolismo respiratorio, osmorregulación, excreción nitrogenada y bioenergética.

III.1.- Preferéndum de temperatura

Los organismos (N=150) se mantuvieron en cuatro estanques de 500 l a una temperatura de 28 °C se alimentaron dos veces al día con una dieta comercial (Rangen) y se fueron aclimatando gradualmente a las diferentes salinidades experimentales 10, 20, 30 y 40‰ en esas condiciones permanecieron 30 días. Para la determinación de la temperatura preferida se utilizó un gradiente horizontal térmico de forma cilíndrica, de 4.00 m de longitud, y 0.20 m de diámetro, que cuenta con 20 segmentos en los que se colocaron 20 termómetros digitales a intervalos regulares que permitió la medición continua de la temperatura, (Díaz *et al*, 2000).

El gradiente estuvo provisto con un calentador de 1000 watts en el lado izquierdo controlado por un regulador térmico Medusa, en el extremo derecho se colocó un termorregulador Neslab (modelo HX 100) que inyectó agua a 7 °C. El gradiente una vez formado tuvo un intervalo de 10 a 33 °C. En la parte superior se colocó un espejo (0.30 m x 4.00 m) en un ángulo de 45 ° y una cortina oscura con ventanillas rectangulares que permitieron la observación de los organismos evitando que estos sean molestados por el observador (Figura 3). La estratificación de la columna de agua, se eliminó mediante el uso de piedras de aireación, mismas que se dispusieron a lo largo del fondo del gradiente horizontal, para proporcionar un intervalo de oxígeno disuelto de 5 a 9 mg l⁻¹. La tasa de recambio de agua en el gradiente fue de 180 - 200 ml min.⁻¹.

Se utilizo el método gravitacional (McCauley, 1977) para cuantificar el efecto de la salinidad sobre la preferencia térmica de *L. stylirostris*. Los organismos, fueron marcados 24 h previas a ser introducidos en el gradiente con una marca plástica circular de 1.5 cm de diámetro adherida al cefalotórax. Se introdujeron al gradiente térmico en grupos de 15, se simulo un ciclo diurno y nocturno de 12 h de luz y 12 h de oscuridad. A lo largo del gradiente horizontal térmico se coloco una línea de 5 focos de luz incandescente y dos lámparas de luz fluorescente, las cuales estuvieron encendidas en el día, y por la noche fue encendida una línea con focos rojos ya que la luz roja no es captada por los crustáceos. Durante la fase diurna y nocturna del ciclo se registro la intensidad luminosa con un irradiómetro (Biospherical Instruments Inc. QSL-100). Para la fotofase la intensidad luminosa fue de 46.66 a 73.33 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y para la escotofase fue de 1.66 a 5.00 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las observaciones de la posición de los organismos y de la temperatura en cada uno de los segmentos, se hizo a intervalos de 60 min. para cada condición experimental se hicieron dos repeticiones.

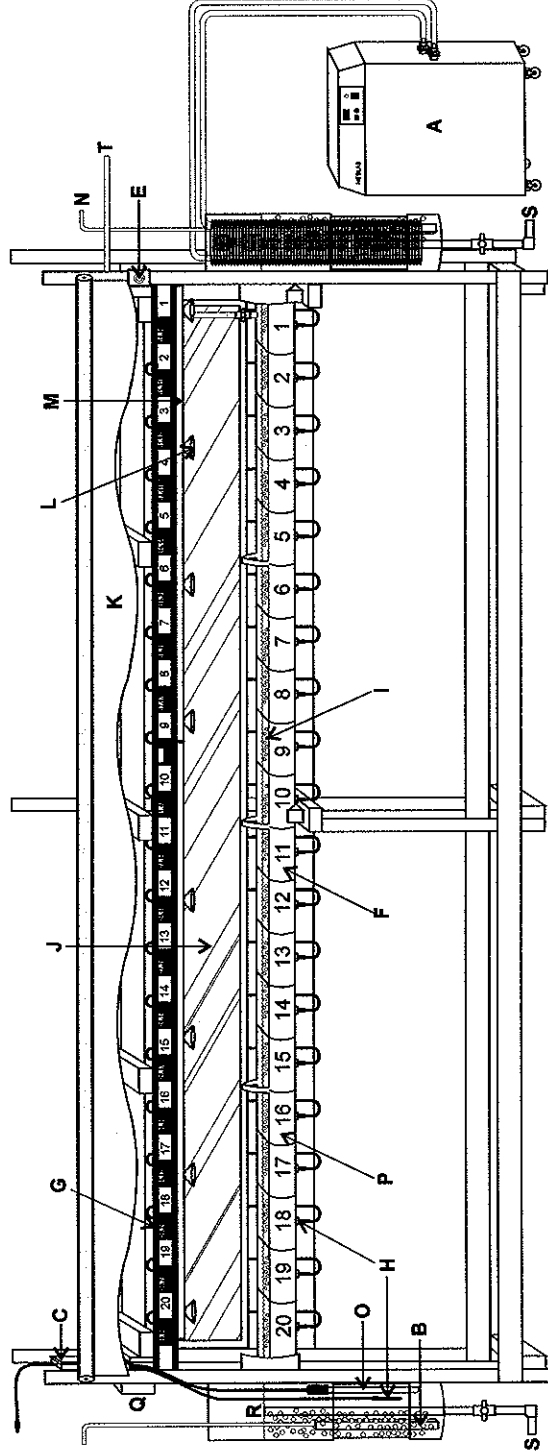


Figura. 3.- Diagrama del gradiente térmico horizontal utilizado para la determinación de la temperatura preferida por los juveniles de *L. stylosis*. Descrito por Díaz *et al.* (2000).

Las temperaturas registradas en cada segmento del gradiente cada hora fueron ordenadas en una hoja de cálculo, y posteriormente se realizó una regresión lineal, con el programa Sigma Stat. para comprobar la linealidad del gradiente térmico durante los experimentos siendo $y = 9.32 + (1.94 x)$ $r = 0.997$.

Posteriormente, en otra hoja de cálculo se ordenaron los datos de la temperatura y del número de organismos que se localizaron en los diferentes segmentos. Se probó la normalidad, y homocedasticidad de los datos mediante el programa Sigma Stat como no cumplieron con estos supuestos se utilizó una prueba no paramétrica de Mann-Whitney para contrastar el preferendum diurno y nocturno para cada condición experimental. Las temperaturas preferidas de los camarones aclimatados a las diferentes salinidades fueron comparadas mediante un análisis de varianza no paramétrico de Kruskal- Wallis.

Las temperaturas preferidas se graficaron en cajas en paralelo (Tukey, 1977) para cada uno de los grupos, así como los intervalos de confianza de las medianas utilizando la siguiente fórmula:

$$I.C. = M \pm (1.58\Delta H) / \sqrt{n}$$

Donde:

I.C. = Intervalo de confianza

M = Mediana

1.58 = Constante

ΔH = Es la amplitud de la caja y corresponde a la diferencia entre (cuartil 75% – cuartil 25%)

Raíz n = número de organismos

III.2.- Temperatura crítica máxima (TCMax).

Para la evaluación de la temperatura crítica máxima (TCMax), se utilizaron 1000 organismos que se aclimataron a las temperaturas de 20, 23, 25, 28, 30 y 33 °C y a las salinidades de 10,15, 20, 25, 30, 35 y 40‰ (factorial de 7 x 6), por un periodo de tres semanas, en estanques circulares de 500 l con aireación constante y recambio continuo de agua, se les proporciono alimentación diaria en una ración equivalente del 8% del peso húmedo corporal promedio .

Al finalizar el periodo de aclimatación, se tomaron 20 camarones de cada combinación de salinidades y temperatura, previamente marcados y se colocaron en acuarios, con el agua a la temperatura de aclimatación y de la salinidad de donde provenían los organismos y permanecieron por 30 minutos bajo estas condiciones para eliminar el efecto de la manipulación Pérez *et al.*, (2003), los acuarios estuvieron provistos con un calentador de 1000 watts y sujetos a una piedra de aireación esto con el fin propiciar la difusión del calor de forma uniforme mantener una concentración de oxígeno disuelto adecuado.

Para la determinación de la temperatura crítica máxima (TCMax) se utilizo una tasa de calentamiento del agua de un grado centígrado por minuto para permitir que la temperatura del cuerpo se acople a las temperaturas de prueba sin que se produzca un retraso entre la temperatura del medio y el cuerpo de los organismos (Criales y Chung, 1980, Lutteschmidt y Hutchison, 1977).

Se anoto la temperatura en la que se observo la respuesta de comportamiento considerada como indicadora del estrés térmico, que de acuerdo a Nelson y Hooper (1982) fue la desorientación total (DT) que fue considerada como el punto final del TCMax para los camarones. Los organismos fueron usados una sola vez y los datos de los animales que no se recobraron después de que fueron regresados a las combinaciones de temperatura y

salinidad de donde provenían se descartaron. Se realizaron dos repeticiones para los organismos provenientes de cada temperatura y salinidad experimental.

Los datos de la temperatura en las cuales se determinó la DT fueron graficadas en cajas en paralelo (Tukey, 1977) (Sigma Plot), así como los intervalos de confianza de las medianas utilizando la fórmula mencionada en la sección anterior. A los datos de DT se les aplicaron pruebas de normalidad y homocedasticidad de varianza, como no se cumplieron los supuestos se utilizó la prueba de análisis de varianza de una vía no-paramétrica de Kruskal-Wallis (Zar, 1999), se realizaron comparaciones múltiples con el método de Dunn, para determinar en qué combinaciones de temperatura y salinidades se obtuvieron los principales efectos. Se utilizó el paquete estadístico, Sigma Stat.

En los camarones se determinó la relación de la respuesta de aclimatación (RRA) por dividir el cambio en la tolerancia térmica por el cambio total en la temperatura de aclimatación en los organismos provenientes de cada salinidad de acuerdo a Claussen (1977, 1980).

III.3.- Consumo de Oxígeno, Excreción de Amonio y Osmorregulación en salinidades constantes y fluctuantes.

Un lote de 1500 animales se subdividió en 6 grupos de 250 que se colocaron en estanques de 500 l para aclimatarlos a las temperaturas experimentales de 23, 28 y 33 °C durante 21 días, tres grupos se destinaron a salinidades constantes y otros tres grupos a salinidades fluctuantes. Se llevó a cabo primero la aclimatación de los organismos a las salinidades constantes de 10,15, 20, 25, 30, 35, 40‰, se colocaron 20 organismos en recipientes de 20 l realizándose dos repeticiones para cada condición experimental, las salinidades menores a 35 ‰ se obtuvieron mediante diluciones con agua de la llave previamente desclorada y la de 40‰ se obtuvo al adicionar sales Instant Ocean. La tasa de disminución e incremento de la salinidad fue de 5‰ por día, una vez obtenidas las salinidades experimentales los camarones permanecieron en estas condiciones durante siete

días, tiempo suficiente para que se estabilizara su medio interno (Castille y Lawrence, 1981; Rosas *et al.*, 2001).

De cada condición experimental se seleccionaron 20 organismos en estadio de intermuda, el estadio del ciclo se identificó de acuerdo al procedimiento descrito por Huner y Colvin (1979), 12 h antes de iniciar las mediciones se introdujeron individualmente a un respirometro semi abierto como el descrito por Díaz *et al.*, (1989) el cual consta de 21 camaras respirometricas de 1 l.

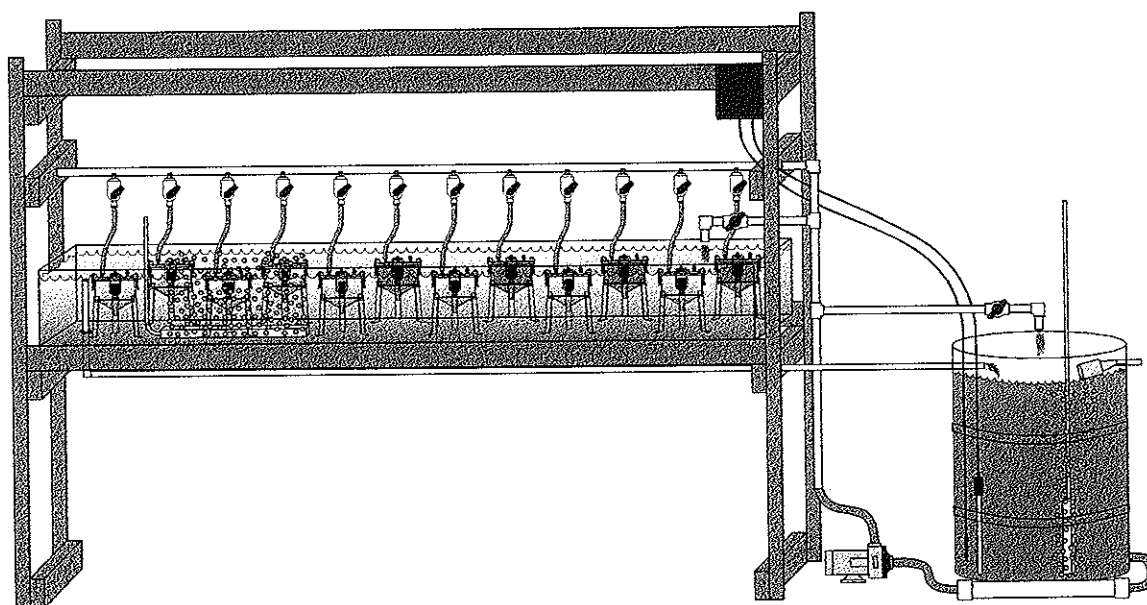


Figura 4.- Sistema respirométrico con 20 cámaras experimentales de acrílico y un control.

Para los experimentos con salinidades fluctuantes los organismos (N= 750) así como el resto de los camarones que permanecieron en los estanques estuvieron expuestos durante 4 horas en un ciclo de 28 horas al efecto de la fluctuación ascendente y descendente de la salinidad de 40, 32, 25,16, 25, 32, y 40‰ de acuerdo con la metodología de Vanegas *et al.*, (1988). Para obtener las salinidades inferiores a 35‰ se realizaron

de Vanegas *et al.*, (1988). Para obtener las salinidades inferiores a 35‰ se realizaron diluciones mediante el uso de agua dulce y para la salinidad de 40‰ se recurrió a la adición de sales sintéticas de mar Instant Ocean. Los camarones no se alimentaron 24 h antes de iniciar las determinaciones de consumo de oxígeno, excreción de amonio y la presión osmótica de la hemolinfa.

El consumo de oxígeno y la excreción de amonio de los camarones en las diferentes combinaciones de temperatura y salinidades constantes y fluctuantes fueron medidos en un sistema respirométrico semi abierto como el descrito por Díaz *et al* (1989) el cual consiste en 21 cámaras de 1 l (Figura 4). De manera individual 20 camarones fueron introducidos en las cámaras respirométricas 24 h antes de iniciar las mediciones, estas se realizaron entre las (9:00 – 13:00).

Antes de cerrar el flujo se tomaron dos muestras de agua para medir la concentración inicial de oxígeno disuelto con un oxímetro YSI-50B provisto de un sensor polarográfico y la concentración inicial de amonio medido con el método de fenolhipoclorito (Rodier,1979) se cuantifico colorimétricamente con un espectrofotómetro ELIPTICA modelo ELY 2000 a una longitud de onda de 640 nm. Las cámaras permanecieron cerradas durante una hora, ya que de acuerdo a Stern *et al.*, (1984) es el tiempo adecuado para que el oxígeno disuelto no disminuya por debajo de 30% y no cause estrés en el organismo. Antes de que el flujo en las cámaras se restableciera se tomaron dos muestras de agua para medir la concentración final del oxígeno disuelto y del amonio producido. La cámara 21 fue usada como control para medir el consumo de oxígeno y la producción de amonio por los microorganismos y hacer las correcciones necesarias. Se realizaron dos repeticiones de cada prueba.

Inmediatamente al finalizar los experimentos, los camarones fueron muertos por inmersión en agua caliente, se secaron en una estufa de 60 °C, se colocaron en un desecador durante dos horas y se pesaron en una balanza (Oahus Explorer) para determinar el peso seco. Los resultados del consumo de oxígeno y de la excreción de amonio de los

camarones expuestos a las salinidades fijas y fluctuantes se expresaron en $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ p.s de peso seco y $\text{mg NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ p.s.

Los datos obtenidos de consumo de oxígeno, excreción de amonio de los camarones expuestos a las diferentes combinaciones experimentales, se procesaron utilizando la hoja de calculo "EXCEL" (versión 6.0). El consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada fueron graficadas en cajas en paralelo (Tukey, 1977). Dentro de las cajas el 50% de los datos se distribuyo alrededor de la mediana y en los intervalos de confianza. El otro 50% se distribuyo en cada barra. Se utilizo un análisis de varianza de dos vías (Sigma Stat) para determinar el efecto de la temperatura y las salinidades fijas y fluctuantes sobre el consumo de oxígeno, y la excreción nitrogenada de *L. stylirostris*, previa verificación de la normalidad y homocedasticidad de los datos.

III.4.- Presión Osmótica del camarón azul en salinidades constantes y fluctuantes.

En los organismos expuestos a la fluctuación de la salinidad. Antes de cada cambio de salinidad se extrajeron 15 camarones al azar del estanque antes de cada cambio de salinidad. A cada organismo proveniente de las salinidades constantes como fluctuantes se les extrajo una sola muestra de 10 μl de hemolinfa mediante el uso de una pipeta automática, directamente de la membrana toraco abdominal (previamente secada con papel absorbente). Las osmolaridades de la hemolinfa y del medio externo fueron medidas con un osmómetro de vapor Wescor 5520 los datos se expresaron en mmol kg^{-1} .

Para describir el efecto de las salinidades constantes y fluctuantes sobre la osmolaridad de la hemolinfa de los camarones a las diferentes temperaturas se utilizo una regresión lineal (Sigma-Stat). Los puntos isosmóticos (donde la osmolaridad de la hemolinfa es igual a la osmolaridad del medio) fueron determinados al usar la formula propuesta de Ferraris *et al.* (1986). La capacidad osmorreguladora (CO), en el camarón azul

fue calculada de acuerdo con lo propuesto por Lignot *et al.* (2000) como la diferencia entre la osmolaridad de la hemolinfa y la del medio externo. Se utilizó un análisis de varianza de dos vías (Sigma Stat) para determinar el efecto de la temperatura y la exposición a las salinidades constantes y fluctuantes sobre la concentración osmótica de la hemolinfa del camarón azul.

III.5.- Bioenergética del camarón azul a la y temperatura preferida y expuesto a tres salinidades constantes.

Para determinar los diferentes parámetros de la ecuación del balance energético, los organismos se mantuvieron durante 7 semanas, en seis estanques de 500 l se colocaron los camarones individualmente en 20 cubetas de plástico de 3 l. La temperatura se mantuvo a 28 °C obtenida de los estudios de termorregulación y considerando la salinidad óptima de 25‰ punto isosmótico a partir de los experimentos de osmorregulación, se utilizaron tres salinidades (20, 25 y 30‰). Se hizo un recambio diario de agua del 100% en los estanques por medio de una tasa de 35 ml min⁻¹ con la salinidad designada. El fotoperíodo se mantuvo a 12 h luz/12 h oscuridad. Durante 45 días los organismos fueron alimentados con una dieta comercial para camarón con 40% de proteína.

III.5.1.- Determinación del Alimento consumido (C).

Diariamente se pesó el alimento para cada organismo mantenido de manera individual en cada cubeta (0.2 a 0.4 gr) y se administró a las 9:00 a.m. y después de dos horas se recolectó el alimento remanente, mediante una manguera conectada a una malla de 75 micras de (10 x 10) cm previamente secada y pesada. Cada muestra se lavó con formiato de amonio al 4% y agua destilada y se secó a 60 °C por 24 horas, para después pesarlo en una balanza analítica. El alimento consumido (C) se cuantificó mediante el método gravimétrico como la diferencia entre el proporcionado menos el remanente. Se realizaron por triplicado pruebas de solubilidad, se colocó 1 g de alimento en las cubetas sin organismo

durante dos horas, posteriormente se recolectó y pesó. Los datos obtenidos del alimento consumido por los camarones en cada condición de salinidad fueron corregidos por el factor de dilución de la dieta.

III.5.2.- Determinación de la producción de heces (F).

Las heces producidas (F) por los camarones en cada salinidad se recolectaron diariamente de las cubetas a las 8:30 y a las 4:00 de la tarde y al día siguiente antes de dar el alimento, para evitar su reprocesamiento por los organismos el procedimiento se hizo como el descrito para la recolecta del alimento remanente con una malla de 75 micras y por medio de un sifón, estas posteriormente fueron lavadas con formiato de amonio y agua destilada. Después de secarse por 24 h. se pesaron y la cantidad recolectada, se guardó en un recipiente hermético y se colocaron en refrigeración.

Las mudas (M) se recolectaron de las cubetas para los organismos provenientes de cada condición experimental, se etiquetaron y se colocaron en una estufa a 60 °C durante 24 horas para obtener el peso seco.

III.5.3.- Medición del consumo de oxígeno de rutina y el incremento de calor aparente.

Para medir el consumo de oxígeno de rutina (R) de los camarones provenientes de cada condición experimental, los juveniles se colocaron individualmente en cámaras de acrílico de 1 l conectadas a un sistema respirométrico semi abierto como el descrito por Díaz *et al.* (1989) 12 horas antes de realizar las mediciones. Para evitar variaciones en el consumo de oxígeno debidas al estatus nutricional los camarones fueron mantenidos sin alimentar 48 horas antes de las mediciones. Se tomaron muestras iniciales de agua de 10 ml de cada una de las cámaras de acrílico por medio del desplazamiento de agua al inflar un globo en el interior de cada cámara a través de un sistema de mangueras conectado a un dispositivo cerrado herméticamente para evitar variaciones en el contenido de oxígeno disuelto: la concentración inicial del gas se midió con un oxímetro YSI 52 provisto de un

sensor polarográfico, posteriormente las cámaras permanecieron cerradas durante dos horas ya que de acuerdo con Stern *et al* (1984) es el tiempo adecuado para que el oxígeno disuelto no disminuya por debajo de 30% y no cause estrés en los organismo, al termino de las cuales se tomaron nuevamente muestras de agua de cada cámara para medir la concentración final de oxígeno disuelto. La diferencia entre la concentración inicial y final del gas fue el consumo de oxígeno de los organismos y se expreso en $\text{mg O}_2 \text{ consumido h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de p.s.

El incrementó de calor aparente (ICA), se midió como la diferencia entre el consumo de oxígeno de organismos recién alimentados y los mantenidos sin alimentación durante 48 horas.

Al finalizar los experimentos de respirometría los organismos se pesaron para obtener su peso húmedo, se sacrificaron, se etiquetaron y se colocaron en una estufa a 60 °C durante 6 días, posteriormente se pesaron para obtener su peso seco. El consumo de oxígeno de rutina y el incrementó de calor aparente se transformaron en unidades de energía mediante el uso del equivalente oxicalórico de 3.53 cal mg^{-1} de O_2 consumido (Elliot y Davison, 1975).

III.5.4.- Medición de la excreción nitrogenada.

Para medir la excreción de amonio (U) de los camarones mantenidos en las salinidades experimentales se tomaron muestras iniciales y finales de 10 ml de agua de cada una de las cámaras del sistema respirométrico de la misma forma que se describió para el consumo de oxígeno por medio de mangueras. La determinación del contenido de amonio de las muestras se realizo por el método de azul de indofenol descrito por Rodier (1979), en donde la intensidad de este compuesto leído a una longitud de onda de 640 nm en un espectrofotómetro ELIPTICA 2000 fue directamente proporcional a la concentración de amonio, que se expreso en $\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ p.s. La excreción de amonio se transformo en el equivalente nitrocalórico de 5.73 cal mg de NH_4^+ excretado (Clifford y Brick, 1979).

Durante esta fase experimental se mantuvieron 2 cámaras control sin organismo, para medir el consumo de oxígeno y producción de amonio de los microorganismos presentes en el sistema respirométrico para hacer las correcciones pertinentes.

III.5.5.- Medición del Contenido Energético.

El contenido energético del alimento suministrado, las heces y las mudas de los organismos provenientes de todas las condiciones experimentales se determinaron en una bomba calorimétrica semimicro (PARR 1425) calibrada previamente con ácido benzoico, cada análisis se llevo a cabo por triplicado.

III.5.6.- Calculo del campo del crecimiento.

El campo de crecimiento (P) de los camarones expuestos a las condiciones experimentales se calculo como la diferencia entre la energía contenida en el alimento ingerido y la suma de la energía utilizada en el consumo de oxígeno, producción de heces, excreción de amonio, incrementó de calor aparente y mudas (ecuación 3).

$$P=C-(R+F+U+ICA+M) \quad (3)$$

El alimento consumido, la producción de heces, el consumo de oxígeno de rutina, el incrementó de calor aparente, la excreción de amonio y las mudas de los organismos provenientes de cada condición experimental, se transformaron a Joules con el factor de conversión de 1 caloría = 4.1840 Joules (Gnaiger, 1983) se expresaron en J día⁻¹ g⁻¹ p.s.

A los datos de los diferentes parámetros de la ecuación del balance energético medidos en los camarones y expuestos a las diferentes condiciones experimentales se les aplicaron pruebas de normalidad y homocedasticidad de varianza, como no se cumplieron los supuestos se utilizo la prueba de análisis de varianza de una vía no-paramétrica de Kruskal-Wallis (Zar, 1999), se realizaron comparaciones múltiples con el método de Dunn

IV RESULTADOS

IV.1 Termorregulación

IV.1.1.- *Preferendum de temperatura.*

Los juveniles de *L. stylirostris* aclimatados a 28 °C y a las diferentes salinidades tuvieron diferentes temperaturas preferidas (Figura 5 a la 8). Los organismos al ser introducidos al gradiente presentaron el siguiente comportamiento, al inicio se dispersaron a lo largo del gradiente, y después de dos horas se empezaron a ubicar alrededor de la temperatura preferida. Este patrón se presentó tanto en la fase diurna como en la nocturna.

La temperatura preferida durante el día por los juveniles de *L. stylirostris* mantenidos a 10‰ fue de 26.0 ± 1.3 y el nocturno 26.1 ± 0.9 °C. Debido a que no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre la temperatura preferida por los organismos durante el día y la noche el *preferendum* global para los camarones aclimatados a 10‰ fue de 26.0 ± 1.14 (Tabla II y Figura 5).

En los camarones mantenidos a 20‰ prefirieron temperaturas de 26.7 ± 2.4 durante el día y de 28.1 ± 1.8 en el transcurso de la noche. Al comparar ambos *preferendum* no se obtuvieron diferencias significativas ($P > 0.05$) siendo la temperatura preferida por los juveniles de camarón azul en esta salinidad de 27.9 ± 2.0 (Tabla II y Figura 6).

Los camarones mantenidos en la salinidad de 30‰ tuvieron un *preferendum* diurno de 28.4 ± 1.3 y durante la noche prefirieron una temperatura de 27.6 ± 2.4 °C. No se apreciaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en la temperatura preferida durante el día y la noche por lo que el *preferendum* global para esta condición fue de 28.1 ± 1.5 °C (Tabla II, Figura 7).

para cada uno de los parámetros de la ecuación, para determinar en que salinidades se obtuvieron mejores resultados. Se utilizó el paquete estadístico, Sigma Stat.

III.5.7.- Índices de eficiencia de conversión (K_1 y K_2).

Los índices de conversión bruta (K_1) neta (K_2) para los organismos mantenidos en las tres salinidades, se calcularon usando las ecuaciones propuestas por Klekowski y Duncan, (1975).

$$K_1 = [(P + E) / C] * 100 \quad (4)$$

$$K_2 = [(P + E) / (C + F)] * 100 \quad (5)$$

K_1 Es el índice de la eficiencia bruta.

K_2 Es el índice de la eficiencia neta.

P Índice de la energía destinada a formación de biomasa.

E Representa la energía invertida en tejido eliminado (proceso de ecdisis).

C Se refiere a la energía obtenida por el alimento consumido.

F es la energía gastada en la producción de heces.

Para los experimentos de bioenergética los pesos húmedos iniciales de los organismos que se utilizaron para cada experimento fueron analizados mediante un análisis de varianza de una vía para saber si no existía diferencia significativa en el intervalo de peso utilizado en cada una de las condiciones experimentales. Posteriormente cada semana se hicieron las mediciones biométricas (incrementó de peso húmedo/tiempo). Al finalizar los experimentos en una hoja de datos electrónica EXCEL (versión 6.0) se calcularon los promedios semanales para conocer el incremento en peso de los camarones para cada condición y sus repeticiones.

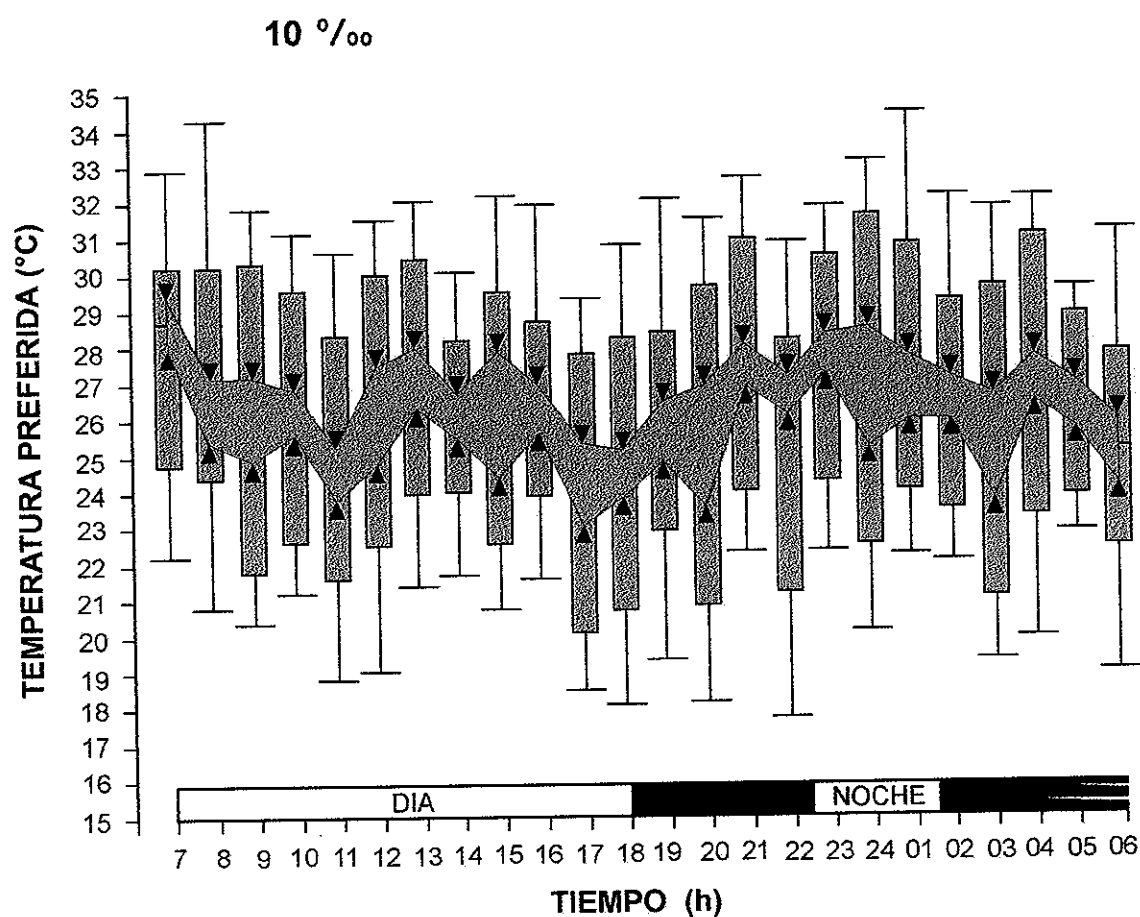


Figura. 5.- Temperatura preferida por *L. stylirostris* en la salinidad de 10‰ registrados en 24 horas (ciclo día y noche), la zona sombreada representa las temperaturas preferidas calculadas con los intervalos de confianza

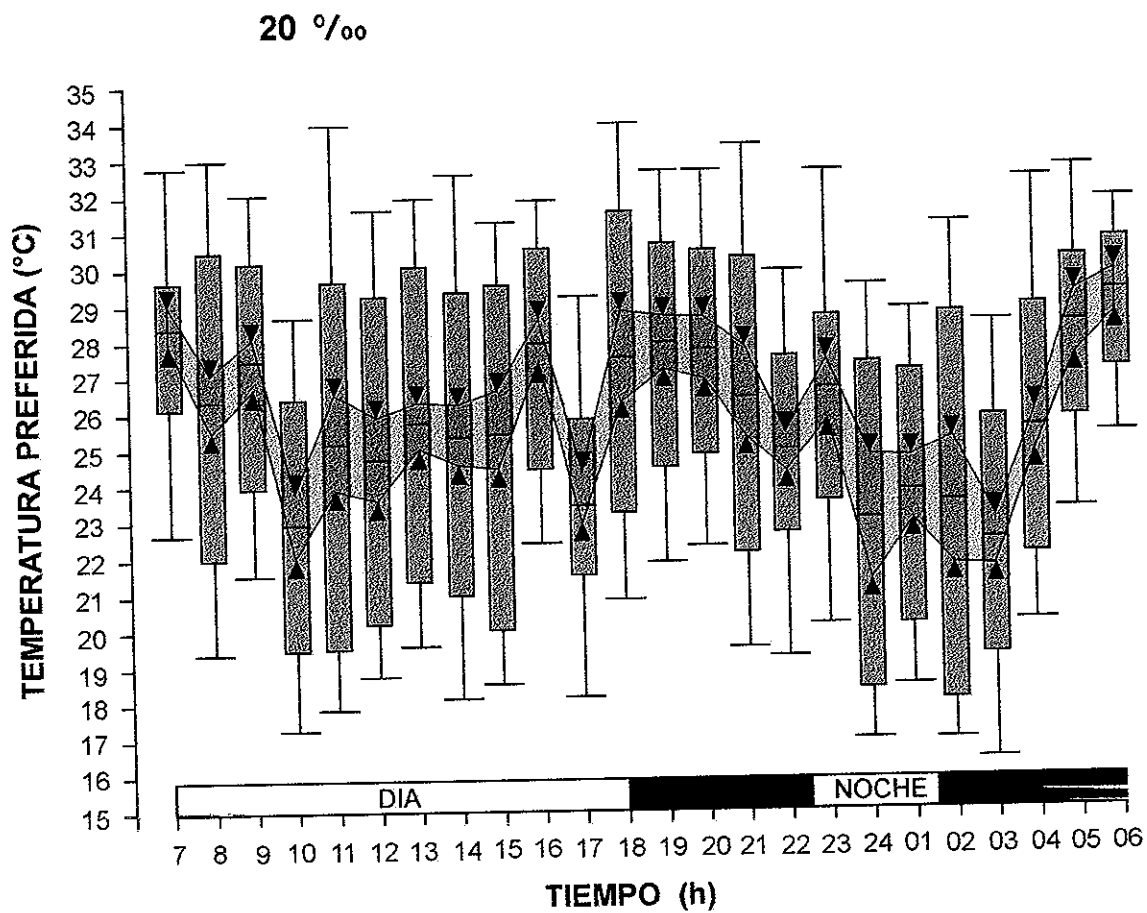


Figura. 6.- Temperatura preferida por *L. stylirostris* en la salinidad de 20‰ registrados en 24 horas (ciclo día y noche), la zona sombreada representa las temperaturas preferidas calculadas con los intervalos de confianza.

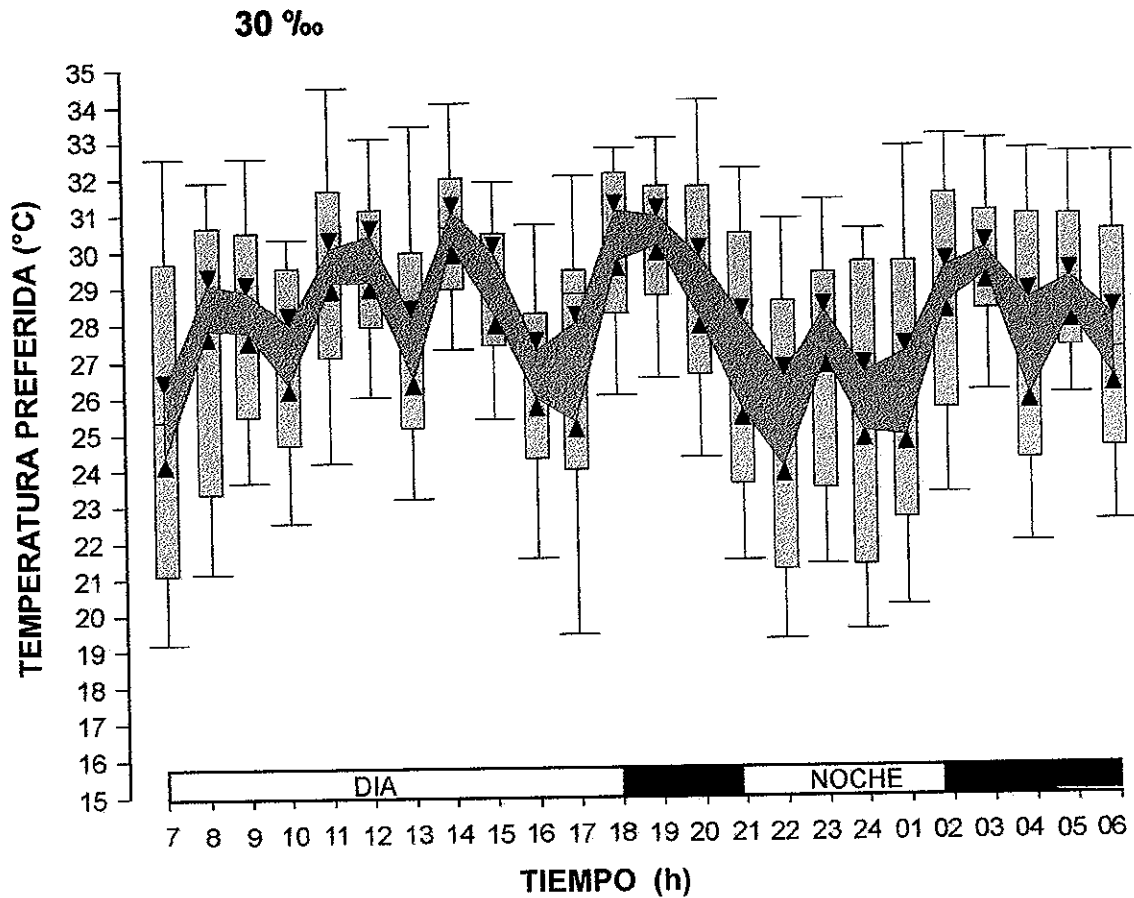


Figura. 7.- Temperatura preferida por los juveniles de *L.stylirostris* en un ciclo de 24 horas mantenidos en la salinidad de 30‰. El área indica los intervalos de confianza del 95% para la mediana.

En la salinidad de (40‰) a la que fueron aclimatados los juveniles de *L. stylirostris* la temperatura preferida diurna y nocturna no presento una diferencia significativa ($P > 0.05$) 27.3 ± 1.1 y 27.6 ± 0.9 respectivamente como puede observarse en la figura 25 y el preferendum global se determino en 27.5 ± 1.0 °C (Tabla II).

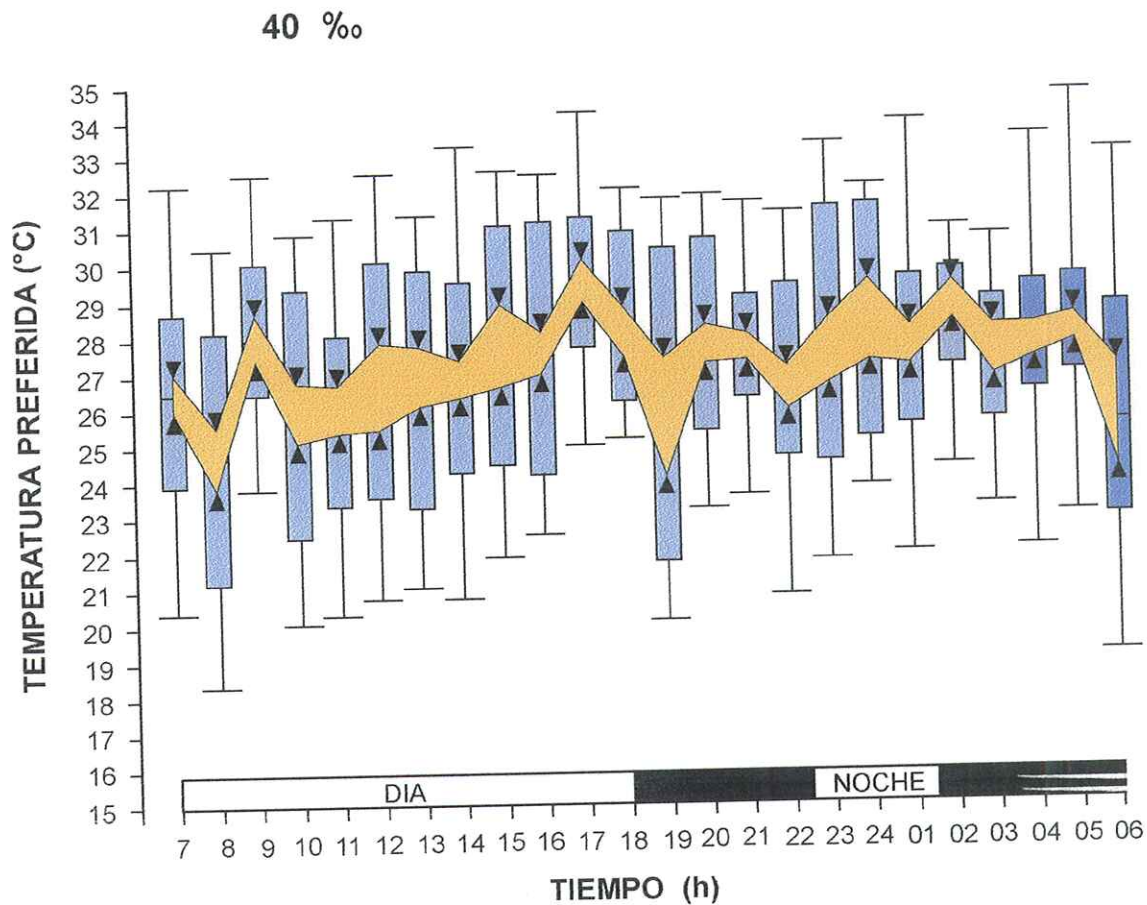


Figura. 8.- Temperatura preferida por los juveniles de *L. stylirostris* en un ciclo de 24 horas mantenidos en la salinidad de 40‰. El área indica los intervalos de confianza del 95% para la mediana.

Tabla II. – Temperaturas preferidas diurnas y nocturnas de juveniles de *L. stylirostris* aclimatados a diferentes salinidades, Medianas ($\pm$ intervalo de confianza), peso promedio de los organismos ($\pm$ error standard)..

Temperaturas Preferida (°C)				
Salinidad ‰	Peso promedio (gr)	Diurno	Nocturno	Global
10	2.510 $\pm$ 1.231	26.00 $\pm$ 1.31	26.16 $\pm$ 0.91	26.08 $\pm$ 1.14
20	1.579 $\pm$ 0.217	26.72 $\pm$ 2.41	28.15 $\pm$ 1.83	27.90 $\pm$ 2.04
30	2.010 $\pm$ 0.119	28.45 $\pm$ 1.33	27.63 $\pm$ 2.40	28.09 $\pm$ 1.59
40	2.280 $\pm$ 0.961	27.30 $\pm$ 1.11	27.65 $\pm$ 0.90	27.48 $\pm$ 1.02

El preferendum de temperatura de los juveniles del camarón azul aclimatados a las diferentes salinidades experimentales no se modifico ($P > 0.05$) por efecto de la salinidad, determinándose que para el camarón azul la temperatura preferida se ubico en 28.0 ± 1.44 °C.

IV.2.- Temperatura critica máxima (TCMax).

La temperatura crítica máxima se midió en los camarones aclimatados a las salinidades de 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40‰ y cinco temperaturas 20, 23, 25, 28, 30 y 33 °C. La temperatura critica máxima de los juveniles se presenta en la Tabla III.

Tabla III.- Temperatura Critica Máxima (TCMax) en el camarón azul *Litopenaeus stylirostris*. Medianas $\pm$ I.C. al 95% de confianza temperaturas de aclimatación y salinidades experimentales.

Temperatura (°C)	Salinidades						Experimentales (‰)
	10	15	20	25	30	35	40
20	35.37 $\pm$ 0.5	35.57 $\pm$ 0.7	36.94 $\pm$ 0.6	37.44 $\pm$ 0.5	37.89 $\pm$ 0.8	38.8 $\pm$ 0.41	38.47 $\pm$ 0.9
23	39.00 $\pm$ 0.0	39.0 $\pm$ 0.0	38.52 $\pm$ 0.5	38.79 $\pm$ 0.4	40.43 $\pm$ 0.5	38.53 $\pm$ 0.5	38.37 $\pm$ 0.5
25	39.42 $\pm$ 0.8	39.08 $\pm$ 0.7	40.37 $\pm$ 0.6	39.06 $\pm$ 0.9	39.06 $\pm$ 0.2	40.76 $\pm$ 0.4	40.00 $\pm$ 0.0
28	40.18 $\pm$ 0.9	41.0 $\pm$ 0.0	41.61 $\pm$ 0.5	41.00 $\pm$ 0.0	40.63 $\pm$ 0.50	41.27 $\pm$ 0.8	41.50 $\pm$ 0.5
30	42.62 $\pm$ 0.5	42.0 $\pm$ 0.0	42.05 $\pm$ 0.5	41.64 $\pm$ 0.6	41.89 $\pm$ 0.3	42.35 $\pm$ 0.4	42.78 $\pm$ 1.0
33	43.83 $\pm$ 0.4	43.0 $\pm$ 0.0	43.00 $\pm$ 0.0	43.00 $\pm$ 0.0	43.18 $\pm$ 0.4	42.00 $\pm$ 0.0	44.00 $\pm$ 0.0

Conforme la temperatura de aclimatación se incremento se observo que la temperatura critica máxima de los camarones se incremento, como se observa en la Figura 9.

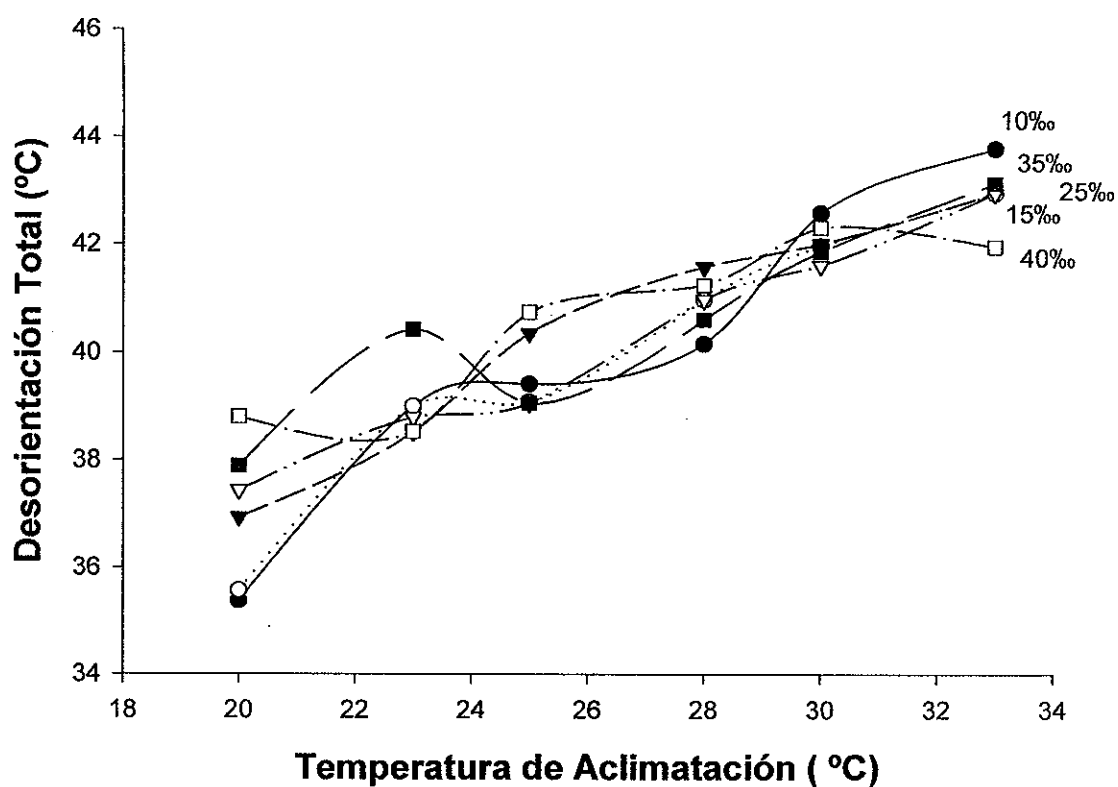


Figura 9.- Temperatura critica maxima del camarón azul tomando como punto final la (DT) Desorientación total.

La temperatura de aclimatación tuvo un efecto que modifico la TCMax del camarón azul ya que el intervalo fue de 35 a 44.0 °C . El análisis varianza de dos vías demostró una diferencia significativa de la temperatura de aclimatación con respecto a la desorientación total ($P < 0.001$), pero no significativa con respecto a la salinidad.

Tabla IV .- Relación de la respuesta de aclimatación (RRA) de *L. stylirostris* a las diferentes salinidades.

Temperatura	Salinidades‰							ARR prom.
	10	15	20	25	30	35	40	
20-23	0.579	0.569	0.5645	0.564	0.5505	0.549	0.565	0.563
23-25	0.611	0.615	0.6030	0.615	0.6080	0.607	0.615	0.611
25-28	0.666	0.662	0.6415	0.661	0.6615	0.649	0.653	0.657
28-30	0.698	0.698	0.6900	0.698	0.6980	0.694	0.693	0.696
30-33	0.727	0.740	0.7407	0.740	0.7407	0.749	0.736	0.740

La relación de la respuesta de aclimatación (RRA) del camarón azul en las diferentes combinaciones de salinidad y de temperatura, tuvo un intervalo de 0.563-0.740 (Tabla IV).

IV.3.- Efecto de la temperatura y salinidades constantes sobre el consumo de oxígeno

La tasa de consumo de oxígeno en los juveniles de *Litopenaeus stylirostris* mantenidos en 23 °C y aclimatados a las salinidades de 10 a 25‰ tuvo un intervalo de 9.0 a 9.6 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s., en las salinidades de 30 a 40‰ el consumo se incremento de 10.5 a

12.0 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s. En los organismos aclimatados a 28 °C esta tasa fue de 14.0 a 16.0 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s. y en los expuestos a 33 °C el consumo se incremento del 30 al 40 %, en las salinidades de 10 a 20‰ y disminuyo en las salinidades de 25 a 40‰ (Figuras 10 y 11). El análisis de varianza indico que la temperatura ejerció un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre el consumo de oxígeno del camarón azul, pero la salinidad y la interacción entre temperatura-salinidad no fue significativa ($P > 0.05$).

IV.4.- Efecto de la temperatura y salinidades fluctuantes sobre el consumo de oxígeno

En los juveniles de *Litopenaeus stylirostris* expuestos a la fluctuación de la salinidad y mantenidos en 23 °C la tasa de consumo de oxígeno fue de 1.1 a 1.51 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s. Esta tasa fue de 1.70 a 1.98 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s. en los aclimatados a 28 °C y se incremento en un 230% en los expuestos a 33 °C (Figuras 12, y 13). El análisis de varianza indico que la temperatura ejerció un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre el consumo de oxígeno del camarón azul, pero el efecto de la salinidad y la interacción entre temperatura - salinidad no fue significativo ($P > 0.05$).

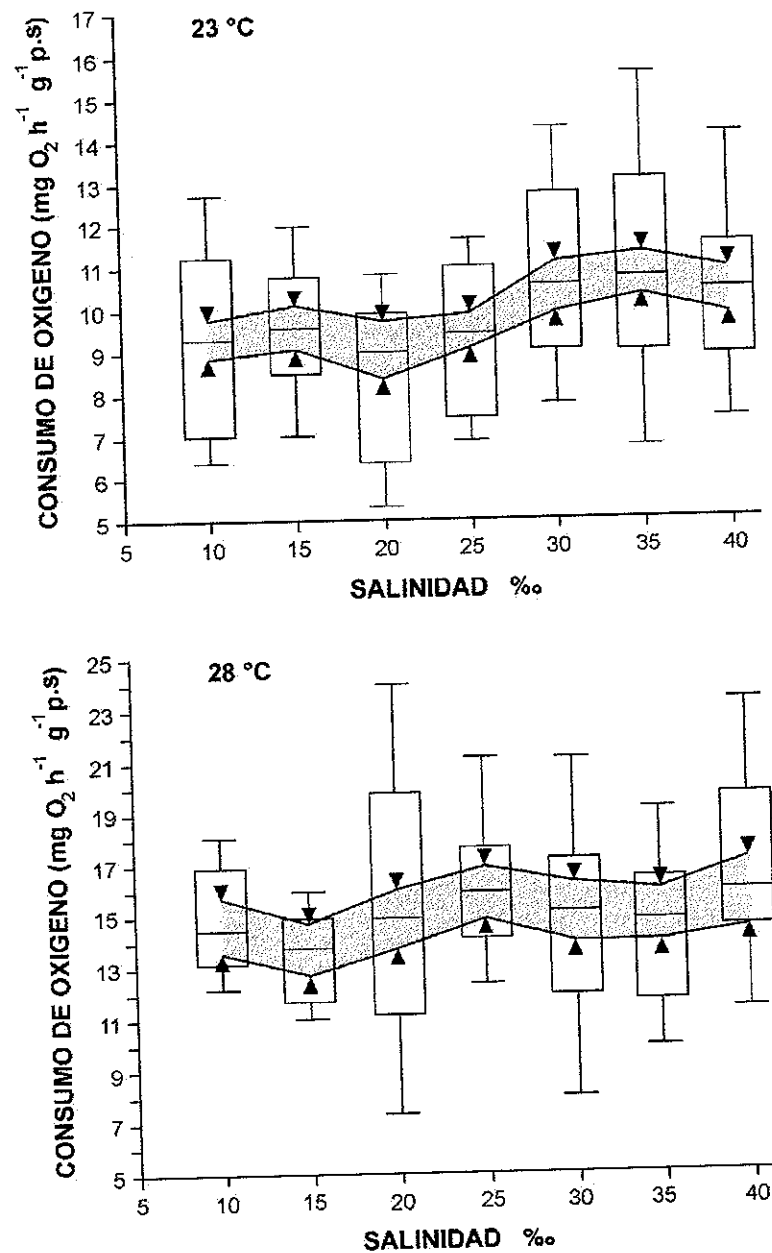


Figura 10.- Consumo de oxígeno (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s.) en *L. stylirostris* aclimatado a la temperatura de 23 y 28 °C y expuesto a diferentes salinidades constantes.

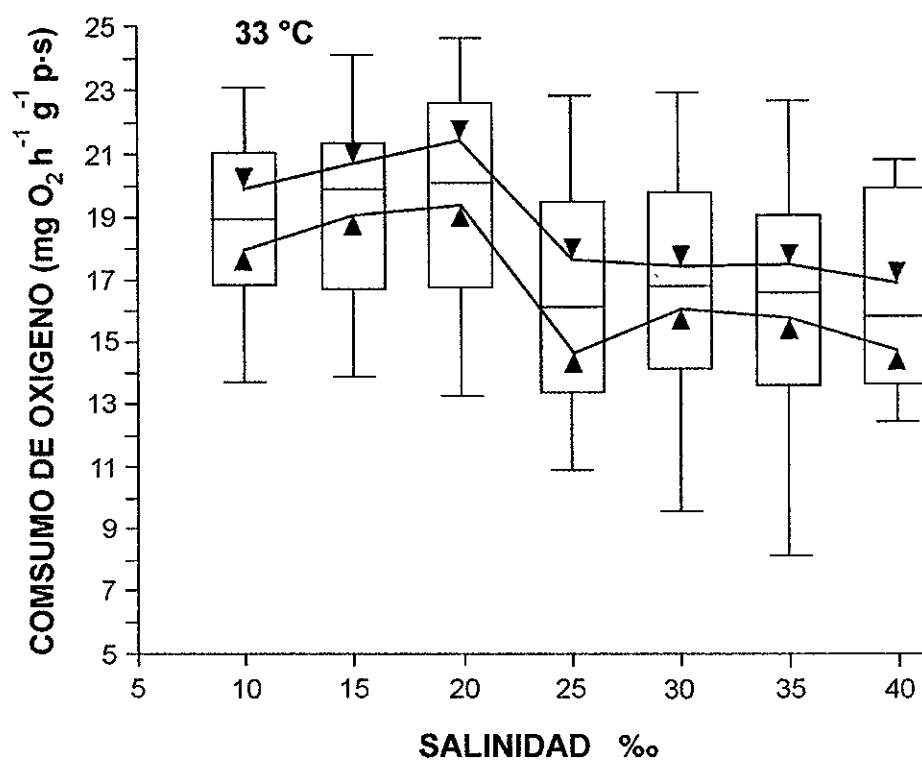


Figura 11.- Consumo de oxígeno (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s.) en *L. stylirostris* aclimatado a la temperatura de 33 °C y expuesto a diferentes salinidades constantes .

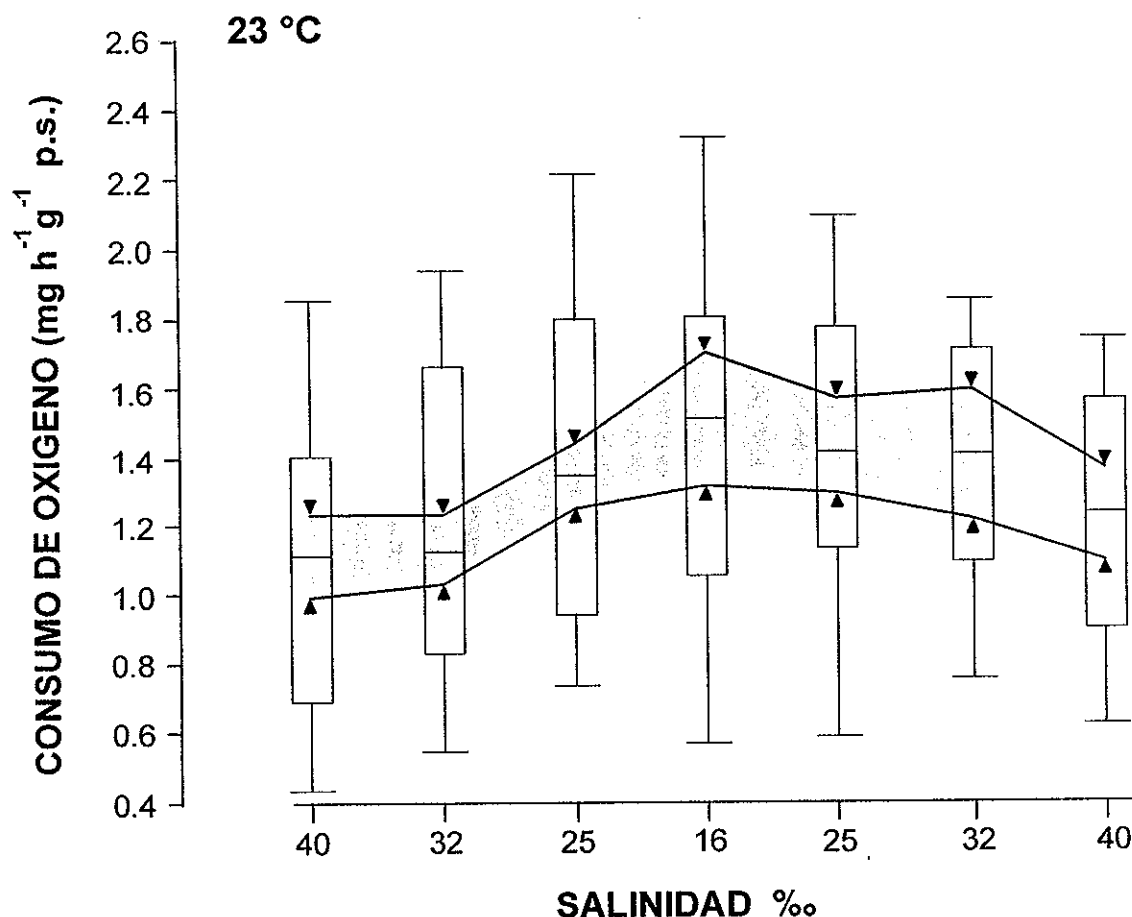


Figura 12.- Consumo de oxígeno (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s.) de *L. stylirostris* aclimatado a 23 °C expuesto a salinidades fluctuantes.

En el caso de la temperatura mas alta de 33° el metabolismo no solo se incremento debido a los cambios en la salinidad descendente ascendente, sino a que el organismo estaba aclimatado a una temperatura superior. En esta temperatura de 33 °C el consumo de oxígeno fue el mas alto de las tres temperaturas experimentales (2.5 a 3.3 mg h⁻¹ g p.s.) pero no se observo una diferencia significativa entre las salinidades fluctuantes a las que estuvieron expuestos (Figura 12).

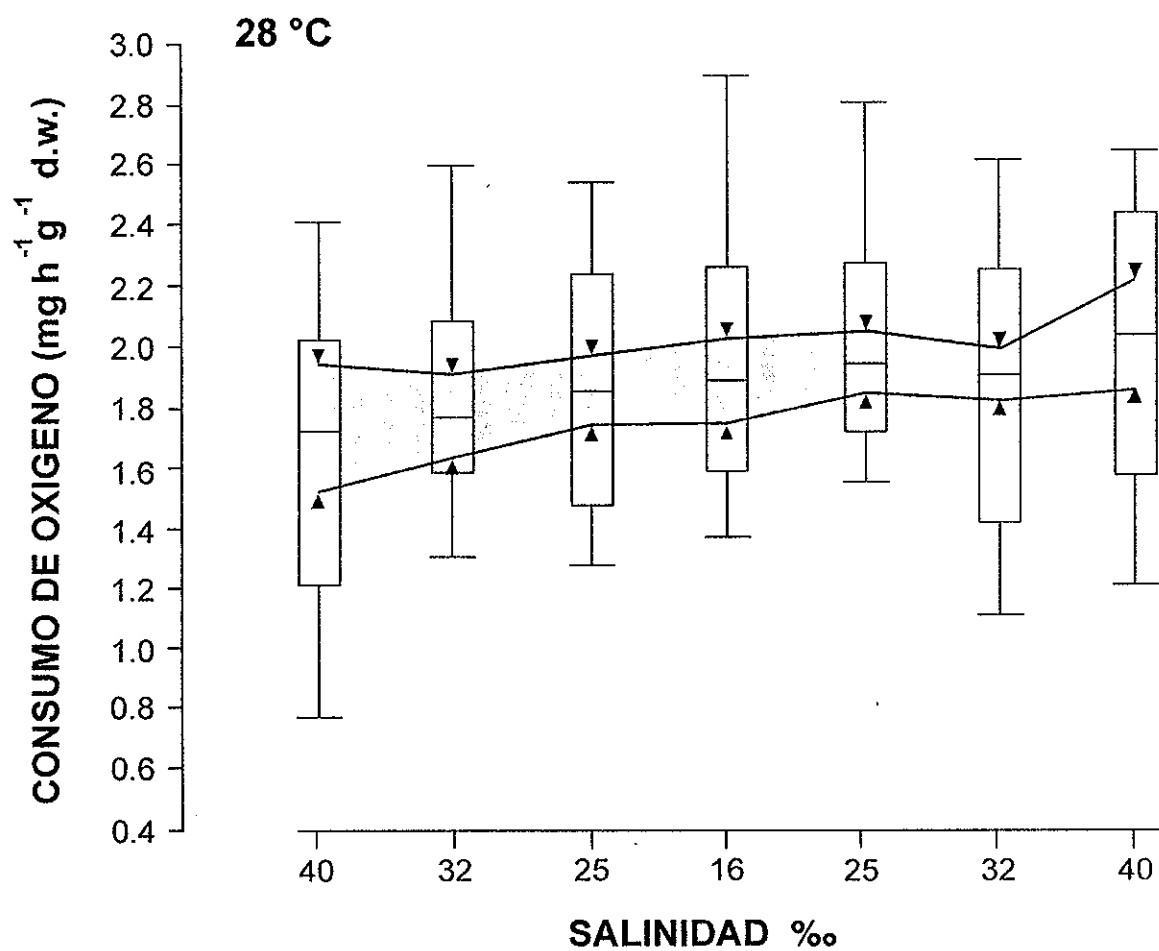


Figura.- 13 Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{p.s.}$) de *L. stylirostris* aclimatado a 28 °C expuesto a salinidades fluctuantes.

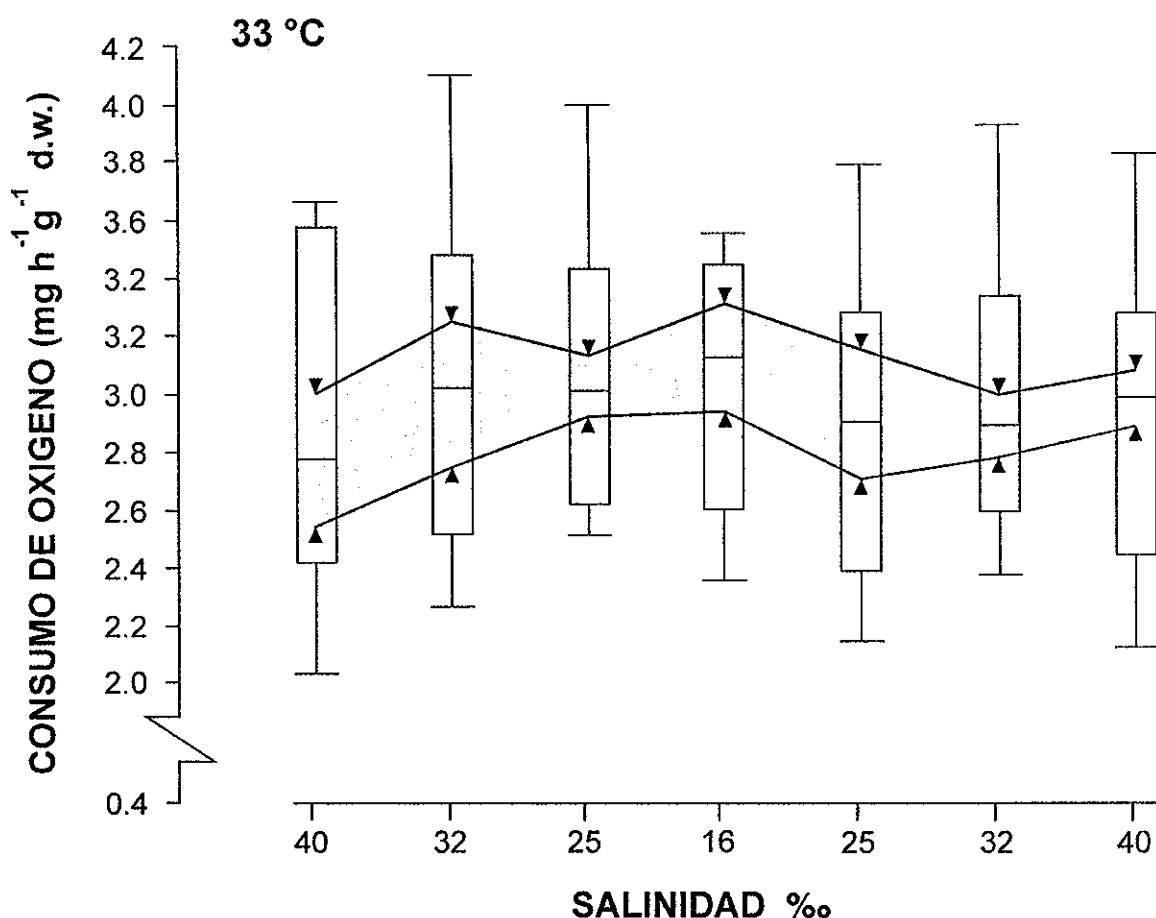


Figura 14.- Consumo de oxígeno (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s.) de *L. stylirostris* aclimatado a 33 °C expuesto a salinidades fluctuantes.

IV.5.- Efecto de la temperatura y salinidades constantes sobre la excreción nitrogenada

En el camarón azul *L. stylirostris* aclimatado a 23 °C se obtuvo que la tasa de excreción de amonio se incremento en 10% y disminuyo conforme se aumento la salinidad obteniéndose la tasa de excreción mas baja de 0.08 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ p.s. en las salinidades de 35 y 40‰. La tasa de excreción de los camarones mantenidos en 28 °C se mantuvo constante con un intervalo de 0.21-0.27 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ p.s. En los organismos expuestos a 33 °C la excreción de amonio se incremento significativamente en un 350-380% en las salinidades de 10-15‰, respecto al obtenido para los organismos aclimatados a 23 y 28 °C, al incrementarse la salinidad la excreción disminuyo hasta que en 40‰ se obtuvo una tasa de 0.20 mg NH₄⁺ h⁻¹

g^{-1} p.s (Figura 15 y 16). El análisis de varianza indico que hubo un efecto significativo de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de excreción de amonio ($P < 0.05$), pero la interacción entre la temperatura y la salinidad no fue significativa.

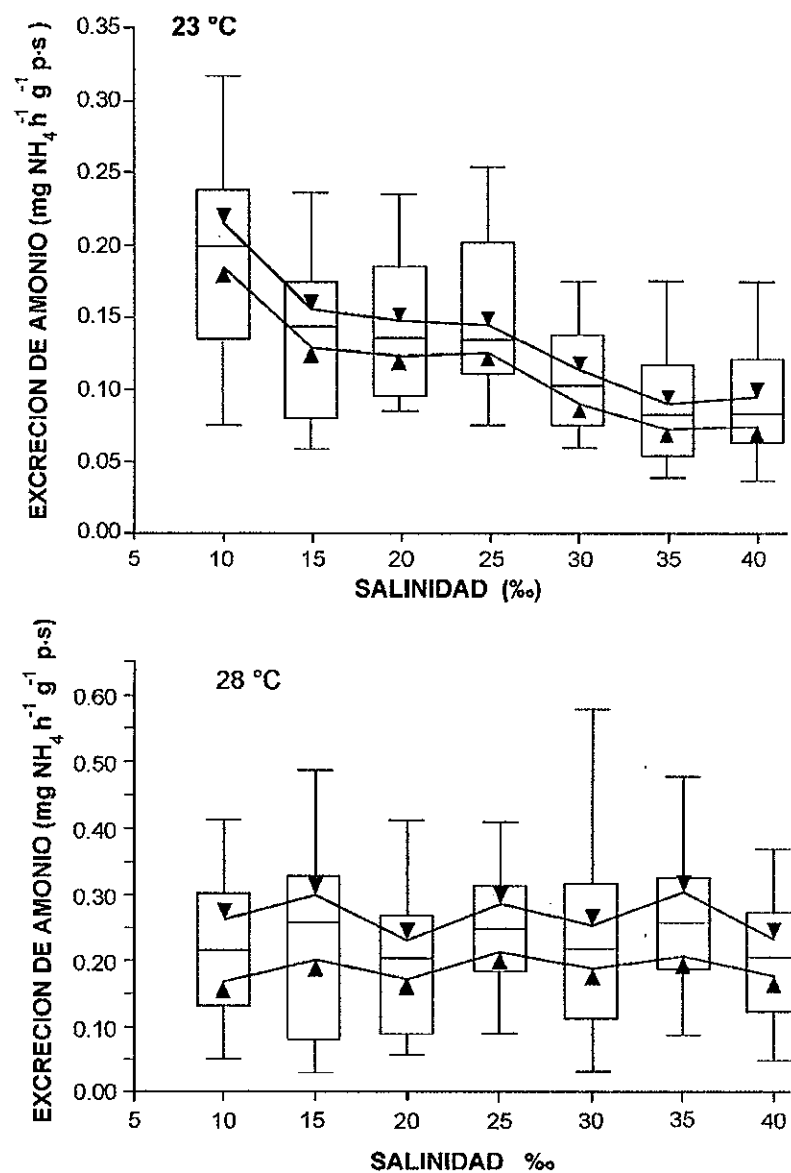


Figura 15.- Excreción de amonio ($\text{mg NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ p.s.) en *L. stylirostris* aclimatado a la temperatura de 23 y 28 °C y expuesto a salinidades constantes

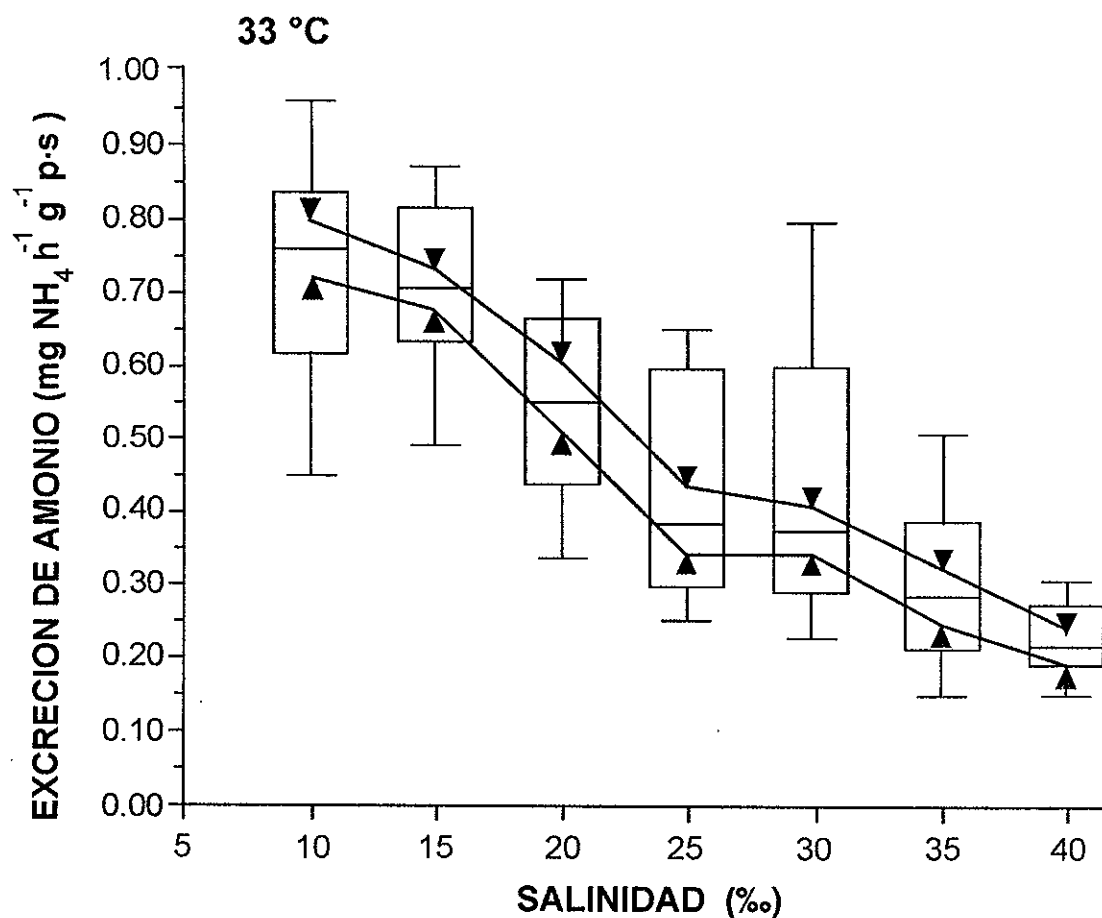


Figura 16.- Excreción de amonio ($\text{mg NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{p.s.}$) en *L. stylirostris* aclimatado a la temperatura de 33 °C y expuesto a salinidades constantes.

IV.6.- Efecto de la temperatura y salinidades fluctuantes sobre excreción nitrogenada

En los juveniles de *L. stylirostris* expuestos a la salinidad de 40‰ y aclimatados a 23 y 28 °C se obtuvo la menor tasa de excreción de amonio de 0.04-0.08 $\text{mg NH}_4 \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{p.s.}$ En los camarones mantenidos en 33 °C la tasa de excreción se incremento significativamente de 0.18 a 0.35 $\text{mg NH}_4 \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{p.s.}$ Cuando los organismos fueron expuestos a la fluctuación descendente de la salinidad de 40 a 25‰ la excreción de amonio

se incremento. En la salinidad de 16‰ y en las tres temperaturas en que se mantuvieron los camarones, la producción de amonio se incremento en promedio en un 220%. Cuando los organismos se expusieron a las salinidades ascendentes la excreción de los camarones disminuyo significativamente ($P < 0.05$) (Figuras 17, 18 y 19).

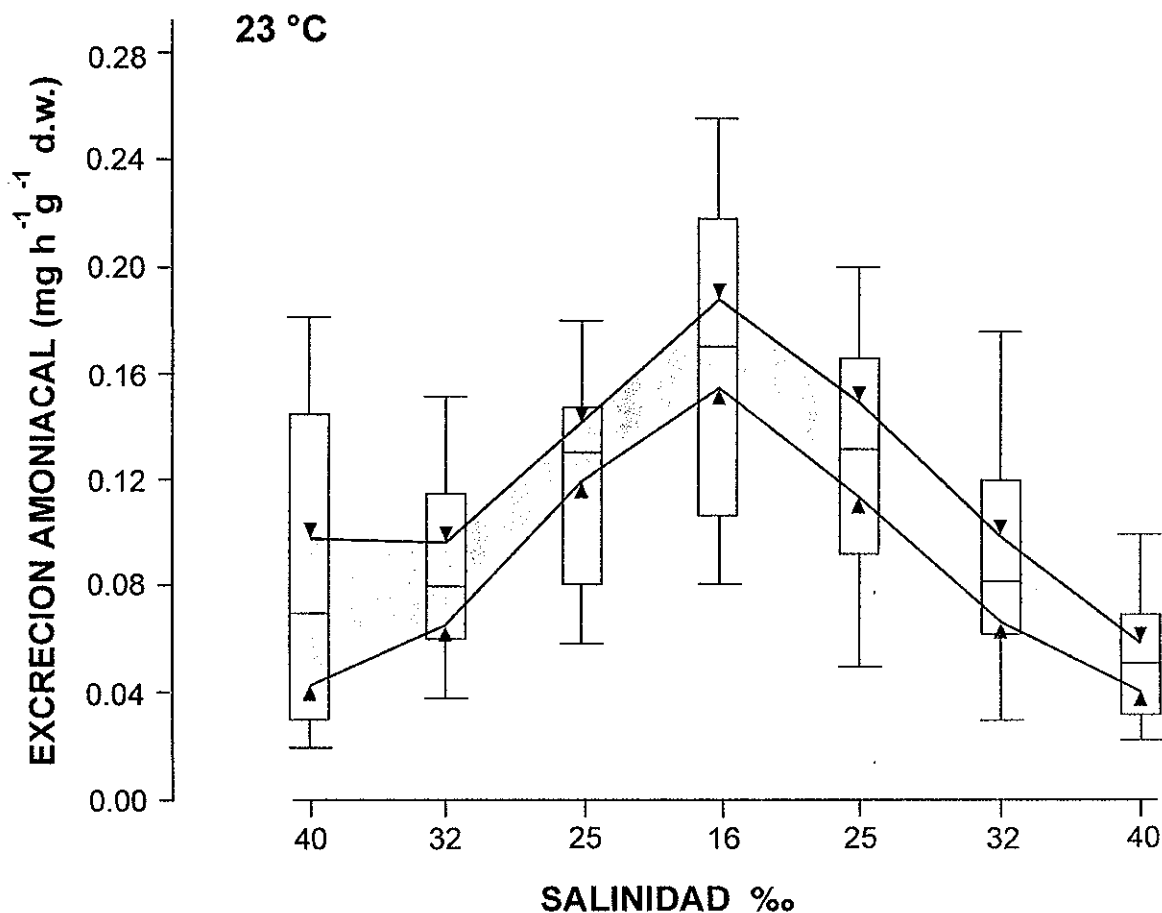


Figura 17. Tasa de excreción nitrogenada (mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ p.s.) de *L. stylirostris* a una temperatura de 23 °C y expuesto a salinidades fluctuantes.

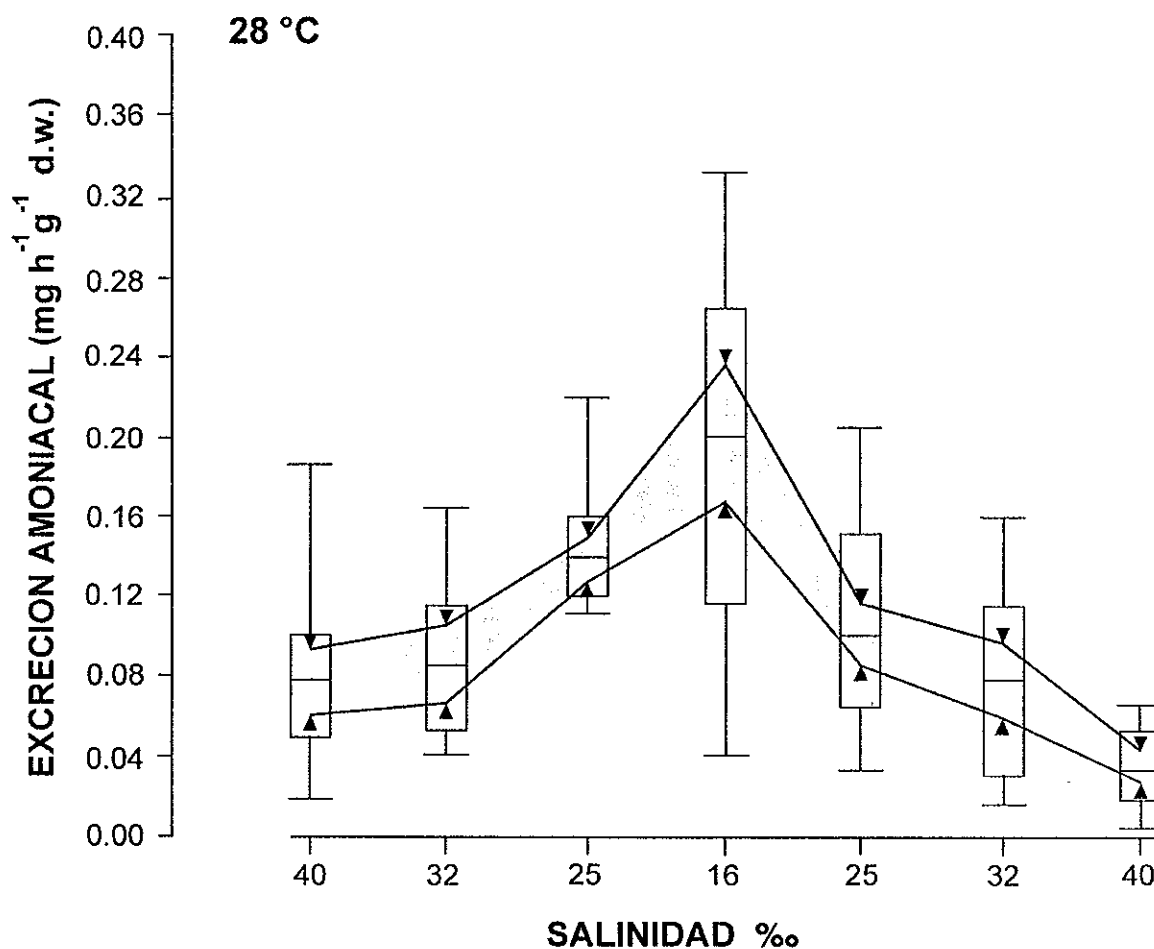


Figura 18.- Tasa de excreción nitrogenada ($\text{mg NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{p.s.}$) de *L. stylirostris* a una temperatura de 28 °C y expuesto a salinidades fluctuantes.

El análisis de varianza indicó que hubo un efecto significativo de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de excreción de amonio de *L. stylirostris* ($P < 0.05$), pero la interacción entre la temperatura y la salinidad no fue significativa ($P > 0.05$).

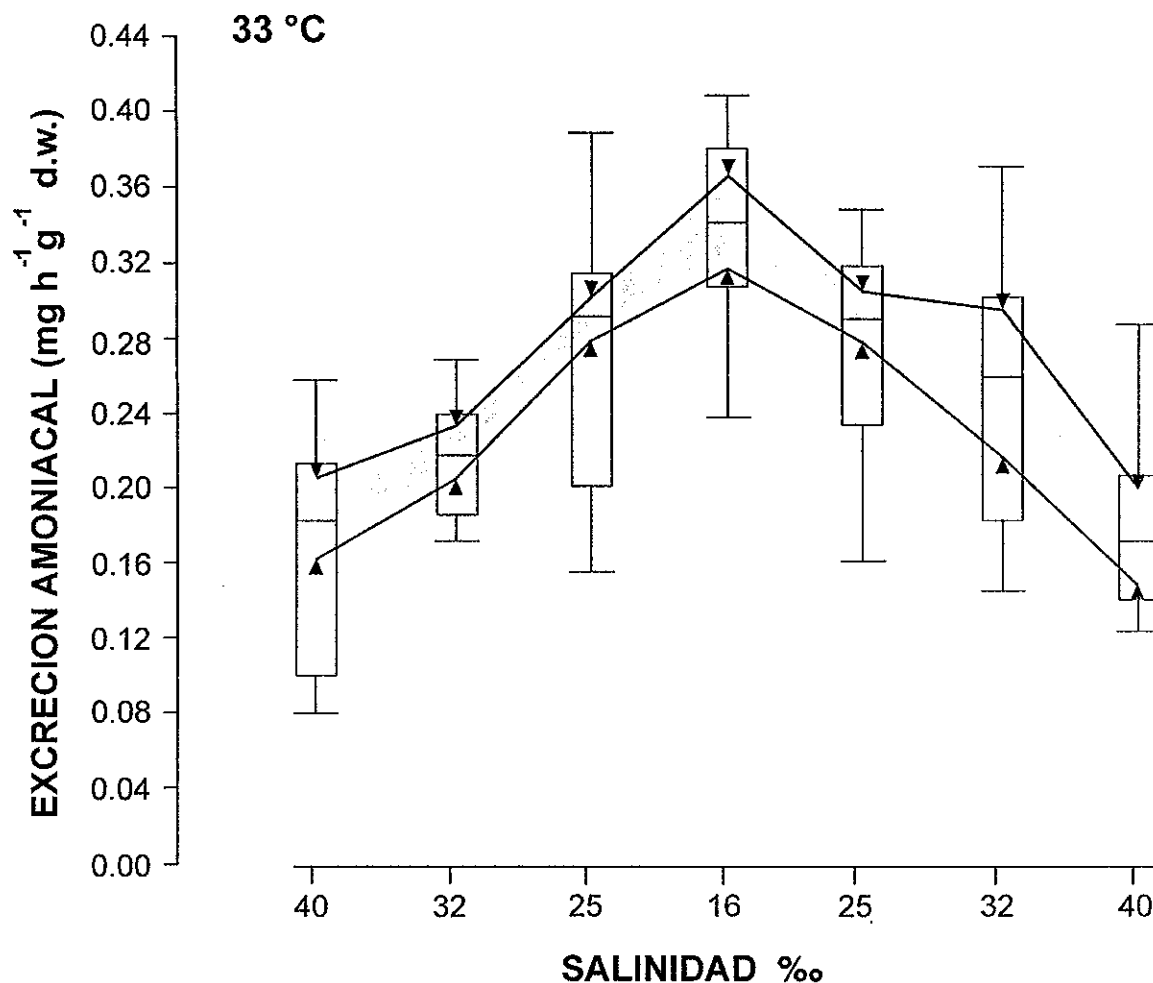


Figura 19.- Tasa de excreción nitrogenada ($\text{mg NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{p.s.}$) de *L. stylirostris* a una temperatura de 33 °C y expuesto a salinidades fluctuantes.

IV.7.- Efecto de la temperatura y salinidades constantes sobre la osmorregulación

En los juveniles aclimatados a 23, 28 y 33 °C la osmolaridad de la hemolinfa se relaciona de manera lineal con respecto a la del medio externo. Obteniéndose las siguientes ecuaciones (Tabla V).

Tabla V.- Relación entre la osmolaridad de la hemolinfa (M.I.) y la osmolaridad del medio externo (M.E.) en *Litopenaeus stylirostris* aclimatado a diferentes temperaturas y expuesto salinidades constantes.

Temperatura (°C)	Relación	
		R ²
23	M.I. = 511.26 + (0.245 x M.E.)	0.93
28	M.I. = 546.47 + (0.170 x M.E.)	0.96
33	M.I. = 444.27 + (0.366 x M.E.)	0.85

Donde M.I. es la osmolaridad de la hemolinfa de los camarones, M.E. es osmolaridad del medio externo.

Cuando la salinidad del medio externo se incremento de 10 a 20‰ (307-563 mmol Kg⁻¹) la concentración de la hemolinfa de los camarones fue hiperosmótica con respecto al medio externo con un intervalo de 590 a 654 mmol Kg⁻¹, en las salinidades de 25 a 40‰ (752-1186 mmol Kg⁻¹) en los organismos mantenidos en 23 y 28 °C la osmolaridad de la hemolinfa fue hiposmótica (671-801 mmol Kg⁻¹) con respecto al la del medio externo. Para los camarones aclimatados a 33 °C la concentración osmótica de la hemolinfa en ese intervalo de salinidad tuvo un patrón hiposmoconformador (Figura 20). El análisis de varianza indico que la salinidad y la temperatura tuvieron un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre la concentración osmótica de la hemolinfa de los camarones, así como la interacción entre la temperatura y la salinidad tuvieron un efecto significativo.

Los puntos isosmóticos obtenidos en los camarones expuestos a las diferentes salinidades tuvieron un intervalo de 676.8-700.74 mmol Kg⁻¹ (23.7-24.6‰) (Figura 21). La temperatura de aclimatación no afectó significativamente ($P > 0.01$) los valores de los puntos isosmóticos de los organismos expuestos a las diferentes salinidades.

En los juveniles del camarón azul la capacidad osmorreguladora (CO) fue modificada significativamente por la salinidad ($P < 0.05$) de hiper a hiposmótica ya que en las salinidades de (10-20‰) tuvo un intervalo de 306 a 10, en tanto que en las salinidades de (25-40‰) fue de -22 a -459 (Figura 21). La temperatura afectó de manera significativa ($P < 0.05$) la capacidad osmorreguladora de los organismos particularmente a los aclimatados a 33 °C.

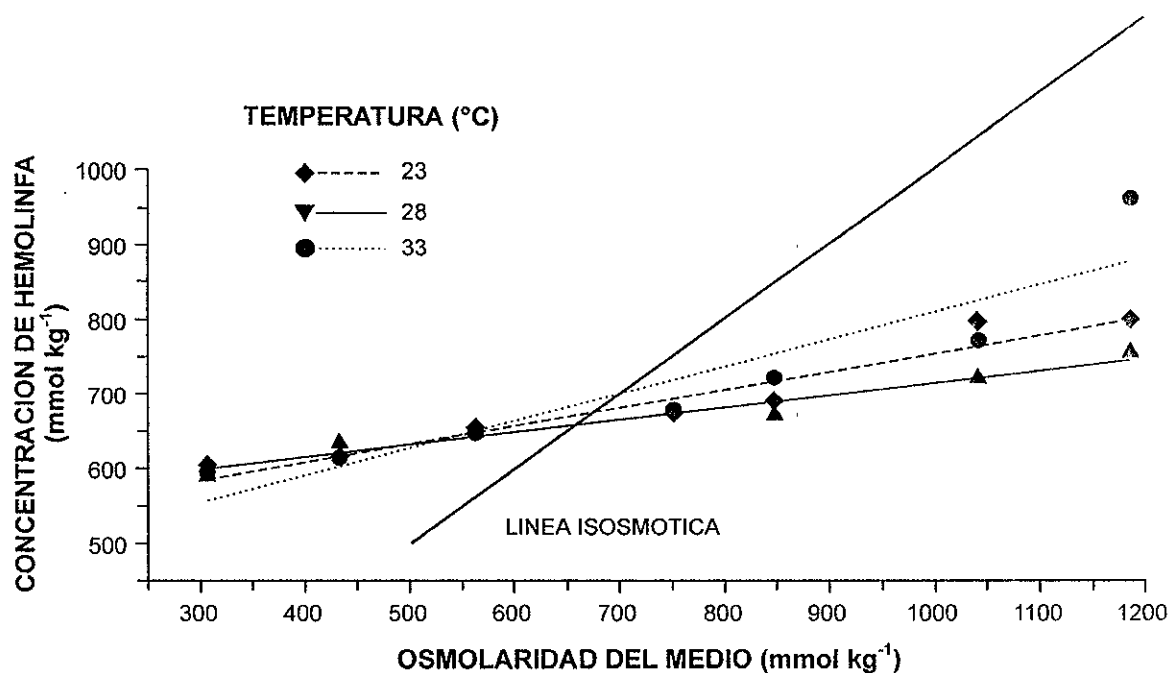


Figura 20.- Presión osmótica de la hemolinfa del camarón azul *L. stylirostris* aclimatado a 23, 28 y 33 °C y a salinidades constantes.

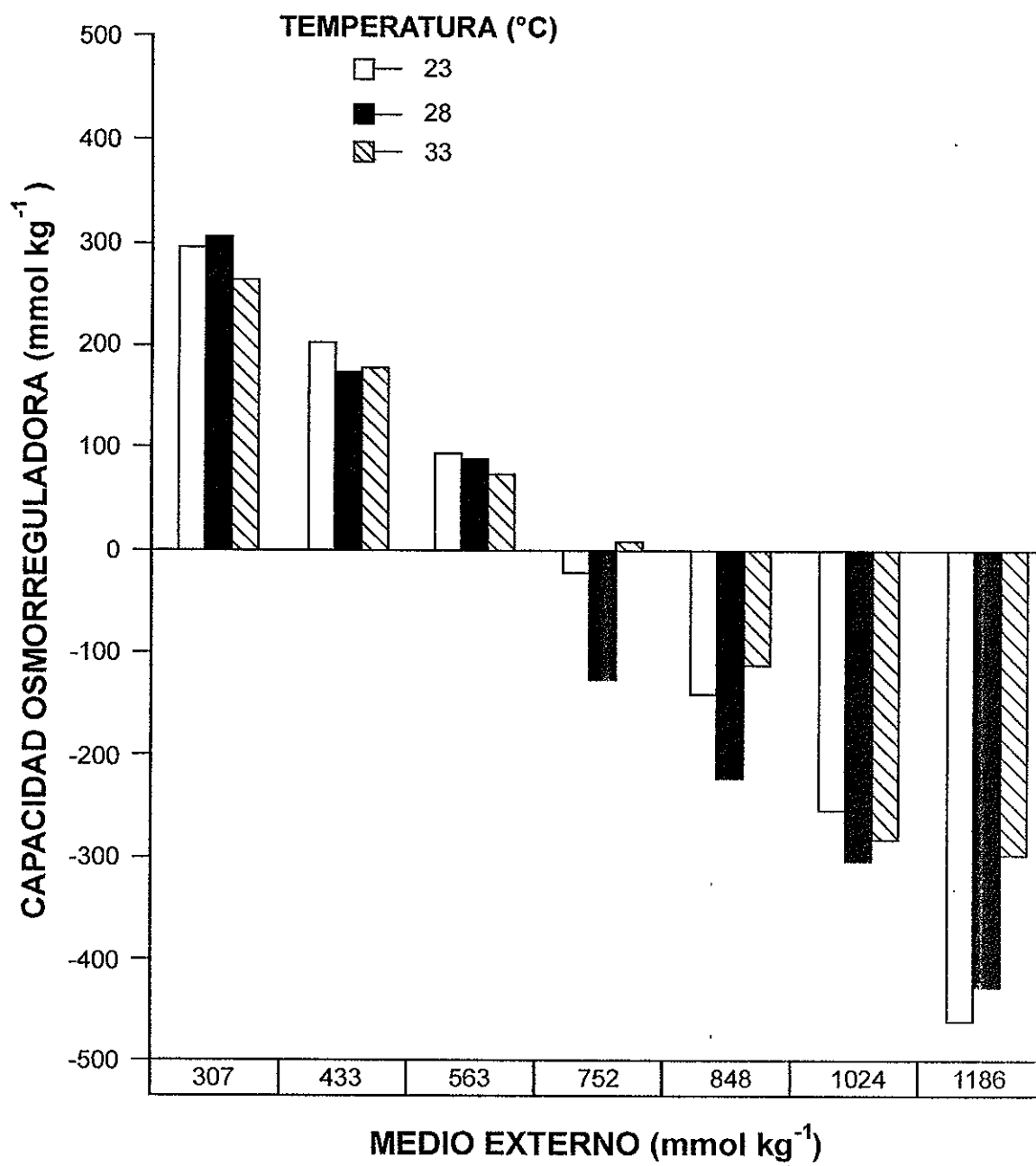


Figura 21.- Capacidad osmorreguladora del camarón azul *L. stylirostris* aclimatado a 23, 28 y 33 °C y expuesto a salinidades constantes.

IV.8.- Efecto de la temperatura y salinidades fluctuantes sobre la osmorregulación

La osmolaridad de la hemolinfa de *L. stylirostris* aclimatado a 23, 28 y 33 °C y expuesto a la fluctuación de la salinidad se relaciono de manera lineal (Tabla VI).

Cuando la salinidad disminuyo de 40 a 33‰ (1,278-965 mmol Kg⁻¹) la concentración de la hemolinfa fue hiposmótica con un intervalo de 873 a 777 mmol Kg⁻¹ con respecto al medio externo. En el intervalo de salinidades del medio externo de 25 a 16‰ (752-556 mmol Kg⁻¹) la hemolinfa de los camarones fue hiperosmótica con un intervalo de 677-770 mmol Kg⁻¹. Cuando se incremento la salinidad de 25 a 40‰ la osmolaridad del medio interno de los camarones fue hiposmótica con un intervalo de 737-848 mmol Kg⁻¹ (Figura 21). El análisis de varianza indico que la fluctuación de la salinidad tuvo un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre la concentración de la hemolinfa de los camarones, la temperatura y la interacción entre la temperatura y la salinidad no tuvieron un efecto significativo ($P > 0.05$).

Tabla VI.- Relación entre la osmolaridad de la hemolinfa (Y) y la osmolaridad del medio externo (X) en *Litopenaeus stylirostris* aclimatado a diferentes temperaturas y expuesto a la fluctuación de la salinidad.

Temperatura (°C)	Relación			
	Salinidad Descendente	R ²	Salinidad Ascendente	R ²
23	$Y = 536.5 + 0.261X$	0.98	$Y = 552.6 + 0.264X$	0.89
28	$Y = 624.1 + 0.173X$	0.86	$Y = 603.1 + 0.197X$	0.90
33	$Y = 672.3 + 0.113X$	0.79	$Y = 621.7 + 0.189X$	0.96

La temperatura de aclimatación no afectó significativamente ($P > 0.01$) los valores de los puntos isosmóticos de los organismos expuestos a la fluctuación de la salinidad. Los puntos isosmóticos obtenidos en los camarones expuestos a la fluctuación descendente de la salinidad tuvieron un intervalo de 726-758 mmol Kg^{-1} (24.9-25.9‰), cuando la salinidad se incremento tuvieron un intervalo de 751-766 mmol Kg^{-1} (25.7-26.2‰) (Figura 22).

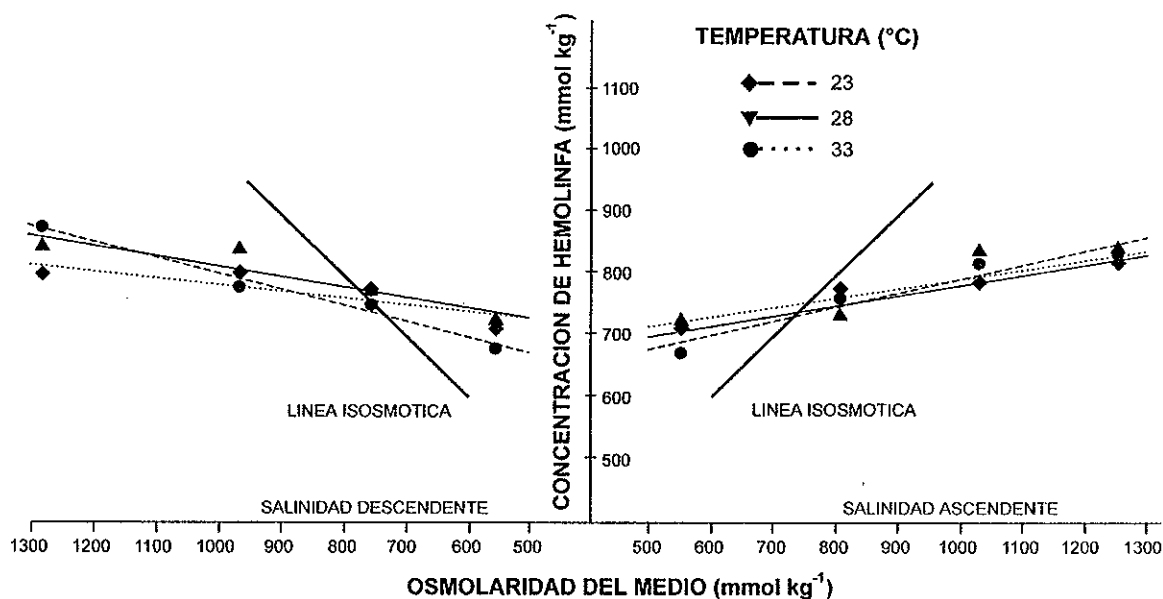


Figura 22.- Presión osmótica de la hemolinfa del camarón azul *L. stylirostris* aclimatado a 23, 28 y 33 °C y expuesto a salinidades fluctuantes

En los juveniles del camarón azul la capacidad osmorreguladora (CO) fue modificada significativamente por la salinidad ($P < 0.05$) de hipo a hiperosmótica ya que en las salinidades de (40, 32, 40‰) tuvo un intervalo de - 417 a -167, en tanto que en las salinidades de (25,16, 25‰) aumento de 18 a 143. La temperatura no afectó de manera

significativa ($P > 0.05$) la capacidad osmorreguladora de los organismos (Figura 22).

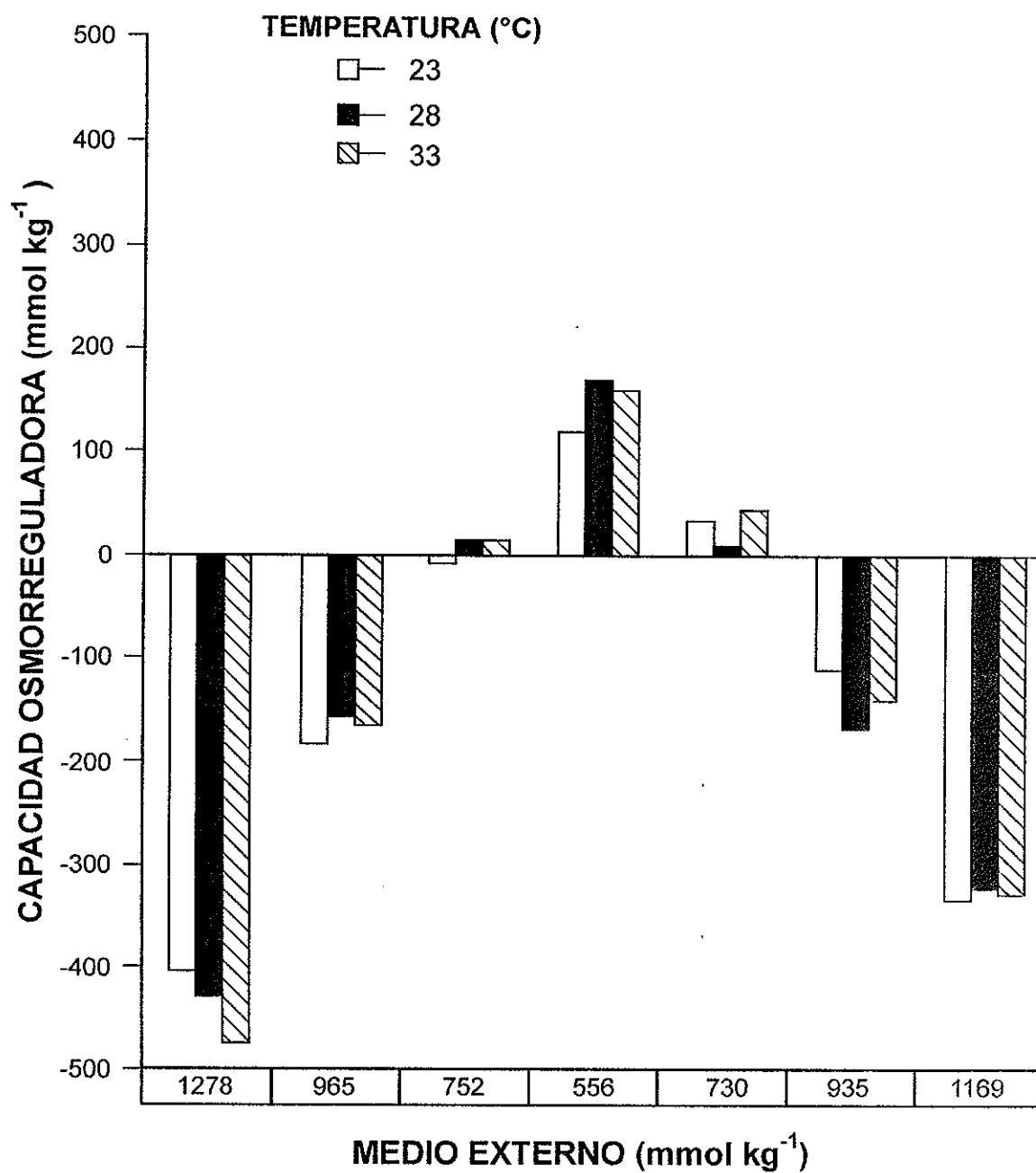


Figura 23.- Capacidad osmorreguladora de *Litopenaeus stylirostris* aclimatado a tres temperaturas y expuesto a salinidades fluctuantes .

IV.9.- Efecto de la salinidad sobre la bioenergética

El estudio de bioenergética se hizo en el camarón azul con la temperatura preferida 28 °C a diferentes salinidades (Tabla VII).

Tabla VII .- Datos morfométricos y porcentaje de sobrevivencia de los juveniles de *L. stylirostris* utilizados en el estudio de bioenergética y aclimatados a diferentes salinidades.

	Salinidad (‰)		
	20	25	30
Número inicial	20	20	20
Peso húmedo inicial (g)	1.94 ± 0.21^a	1.93 ± 0.21^a	1.94 ± 0.26^a
Peso húmedo final (g)	3.88 ± 0.99^a	4.11 ± 1.2^a	4.10 ± 0.9^a
Peso seco final (g)	1.21 ± 0.33^a	1.24 ± 0.34^a	1.36 ± 0.10^a
Sobrevivencia (%)	95	95	80

El peso húmedo y el peso seco final así como la TCE y el crecimiento semanal de los organismos mantenidos en las tres condiciones experimentales no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) (Fig. 24). La sobrevivencia de los camarones fue del 95% en las salinidades de 20 y 25‰, y disminuyó a 80% en la de 30‰ (Tabla VII).

Los valores de las tasas fisiológicas que componen el balance energético determinado para los juveniles de *L. stylirostris* expuestos a las tres condiciones experimentales se presenta en la Tabla VIII.

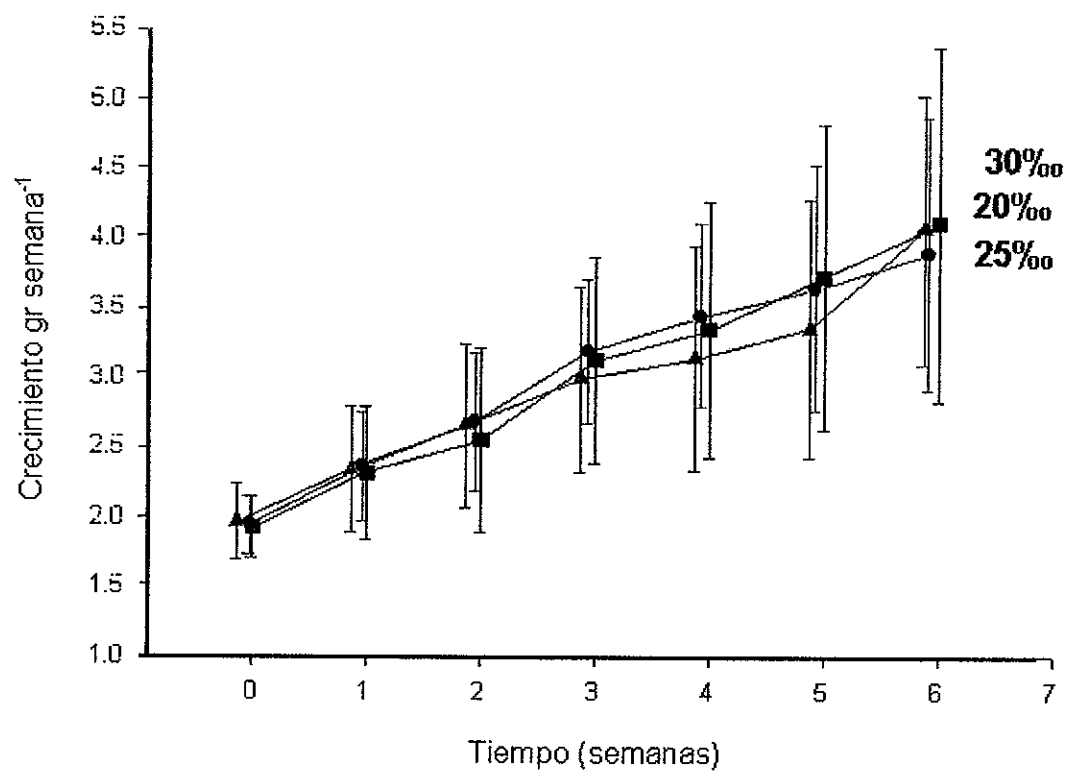


Figura 24.- Crecimiento promedio semanal de *L. stylirostris* en tres condiciones experimentales de salinidad 20, 25, y 30‰.

Tabla VIII.- Tasas fisiológicas ($\text{J día}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de peso seco) medianas $\pm$ Intervalos de confianza al 95% de los juveniles de *L. stylirostris* en tres condiciones de salinidad. Donde el consumo de alimento (C), producción de heces (F) metabolismo de rutina (R), Excreción nitrogenada (U), incremento de calor aparente (ICA) y energía potencial para el crecimiento (P); (K_1) y (K_2) índices de eficiencia de conversión bruta y neta respectivamente. Letras iguales indican ausencia de diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).

	SALINIDAD (‰)		
	20	25	30
C	3410.27 $\pm$ 42 ^a	3455.63 $\pm$ 52 ^a	3445.22 $\pm$ 59 ^a
F	237.8 $\pm$ 36.1 ^b	226.5 $\pm$ 35.7 ^b	191.6 $\pm$ 47.06 ^a
R	215.26 $\pm$ 82.06 ^b	108.85 $\pm$ 84.09 ^a	160.79 $\pm$ 79.81 ^b
U	64.9 $\pm$ 2.34 ^b	31.12 $\pm$ 1.07 ^a	39.62 $\pm$ 1.22 ^a
ICA	195.5 $\pm$ 129.8 ^b	150.5 $\pm$ 130.2 ^a	168.51 $\pm$ 129.8 ^b
P	2526.07 $\pm$ 52.0 ^a	2738.21 $\pm$ 49.0 ^a	2700.58 $\pm$ 39.0 ^a
E	183.81 $\pm$ 4.3 ^a	189.37 $\pm$ 3.3 ^a	184.69 $\pm$ 4.6 ^a
K₁ (%)	74.07	79.25	78.39
K₂ (%)	75.51	79.97	79.35

La energía ingerida a través del alimento consumido diario tuvo un intervalo de 3410.27 a 3455.63 $\text{J día}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de peso seco no presento una diferencia significativa con respecto a las salinidades a las que se expusieron los organismos. El consumo diario de alimento en relación al peso húmedo fue de 4.9, 4.6, y 4.7% para los camarones mantenidos en las salinidades de 20, 25 y 30‰ respectivamente.

Las respuestas del metabolismo de rutina (R), excreción nitrogenada (U), y heces (F) de *L. stylirostris* se describen en la Tabla VIII. La producción de heces fue significativamente diferente en cada una de las condiciones de salinidad. El mayor consumo de oxígeno de los camarones se obtuvo en las salinidades de 20‰ y 30‰ y la

mayor tasa de excreción de amonio en la de 20‰. La energía destinada al proceso de la muda no fue significativamente diferente en las tres salinidades teniendo un intervalo de 183.81 ± 4.3 a 189.37 ± 3.3 (Tabla VIII).

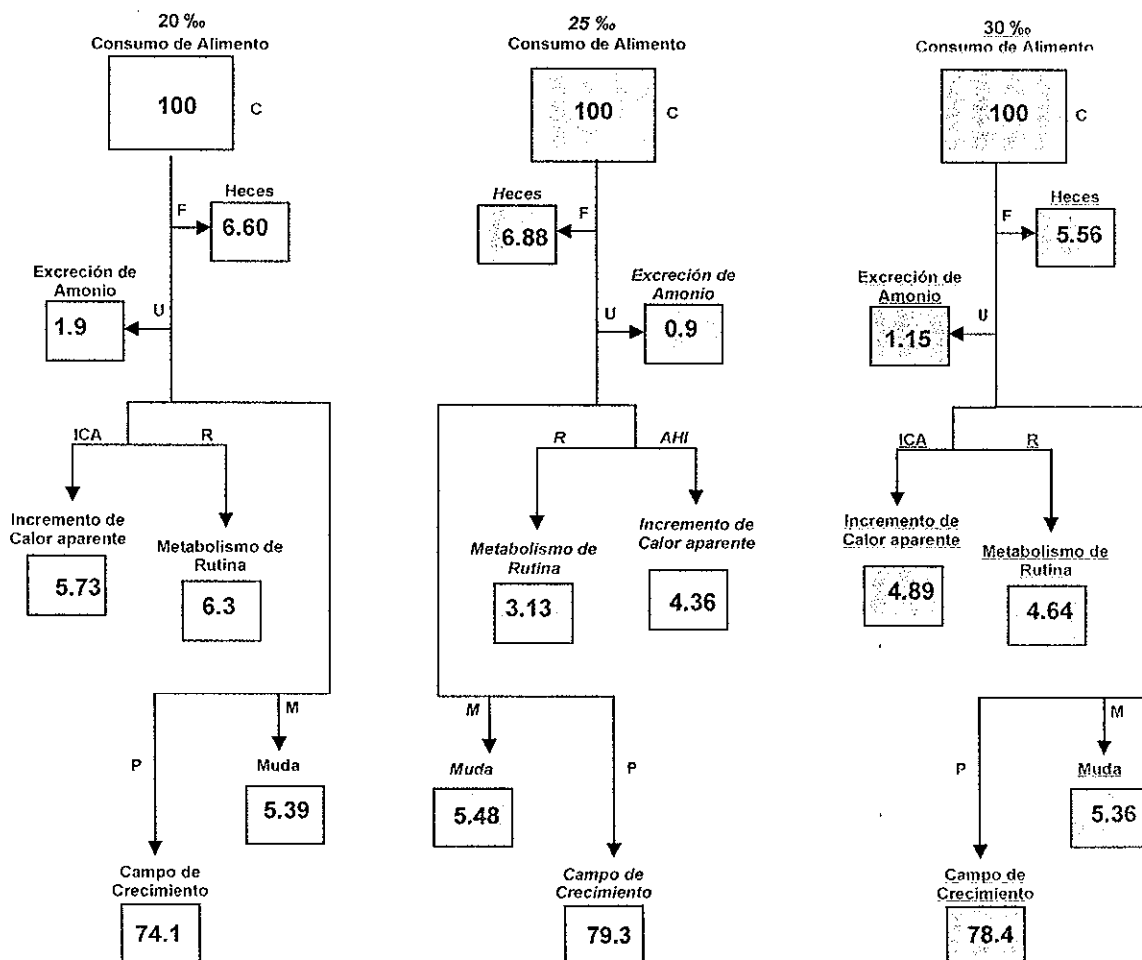


Figura 25.- Distribución porcentual de la energía utilizada en los diferentes procesos del balance energético evaluada para los juveniles de *L. stylirostris* expuestos a las salinidades de 20, 25 y 30 ‰. Producción de heces (F), metabolismo de rutina (R), Excreción nitrogenada (U), incremento de calor aparente y energía potencial para el crecimiento (P).

Los valores para el campo de crecimiento del camarón azul (P) no difieren significativamente con intervalo de 74.1 a 79.3% (Fig. 25). El incremento de calor aparente (ICA) obtenido para los organismos mantenidos en cada una de las salinidades fue significativamente diferente teniendo un intervalo de 150.5 a 195.48 J día⁻¹ g⁻¹ (Tabla IX). Las eficiencias de conversión bruta y neta K₁ y K₂ no fueron significativamente diferentes de 74.07 a 79.97 respectivamente (Fig. 25).

Tabla IX.- Consumo de oxígeno (VO₂) promedio con su respectiva desviación estándar de los juveniles de *L. stylirostris* recién alimentados y mantenidos en inanición durante 24 horas, se presenta el ICA obtenido. Letras iguales indican ausencia de diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).

Consumo	Salinidad (‰)		
	20	25	30
VO ₂ (J día ⁻¹ g ⁻¹) Sin alimentar	215.26±82.06 ^a	108.85±84.98 ^a	160.79±79.81 ^a
VO ₂ (J día ⁻¹ g ⁻¹) alimentados	394.44± 90.26 ^a _b	259.35± 115.43	311.40±76.64 ^b
VO ₂ (J día ⁻¹ g ⁻¹) ICA	195.5±82.06 ^a	150.53±11.78 ^a	150.51±101.5 ^a
ICA (%)	54.57	58.04	51.7

Al inicio y al final de los experimentos de bioenergética se midió la presión osmótica de la hemolinfa así como la salinidad del medio externo para conocer la capacidad osmorreguladora de los camarones mantenidos en las diferentes condiciones experimentales. En las tres salinidades los organismos modificaron su capacidad osmorreguladora; en 20‰ disminuyó la capacidad osmorreguladora de 90 a 45, en 25‰ disminuyó -76 a -2. En la condición de 30‰ la capacidad osmorreguladora se modificó de -158 a -142 (Figura 26, 27 y 28).

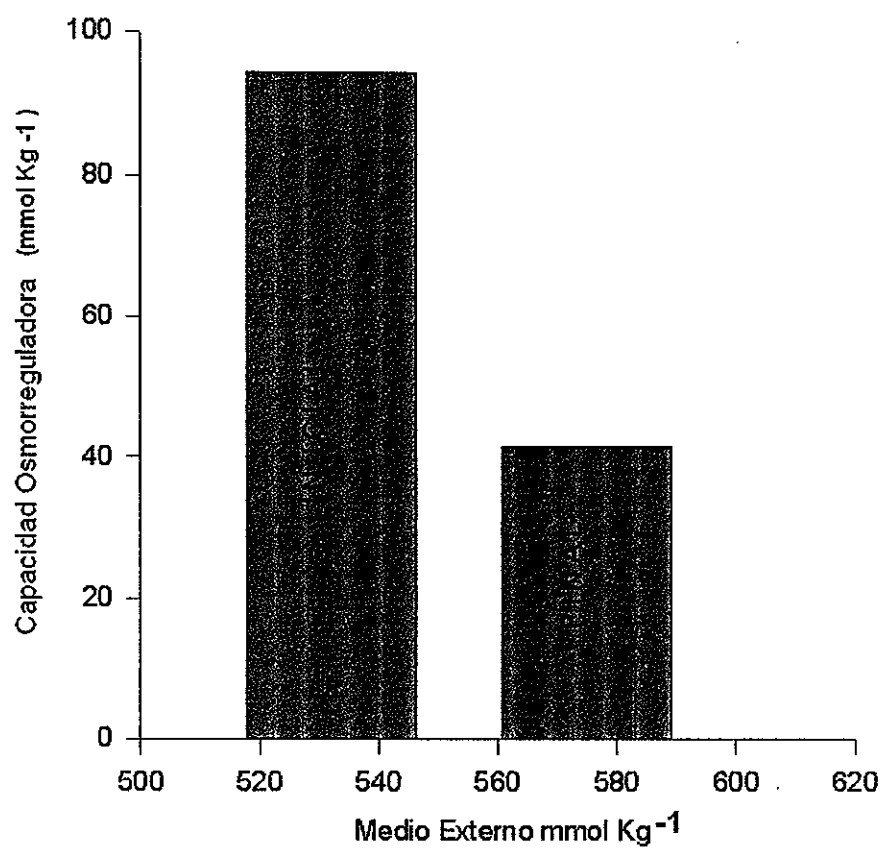


Figura 26.- Capacidad osmorreguladora de *L. stylirostris* en 20 %.

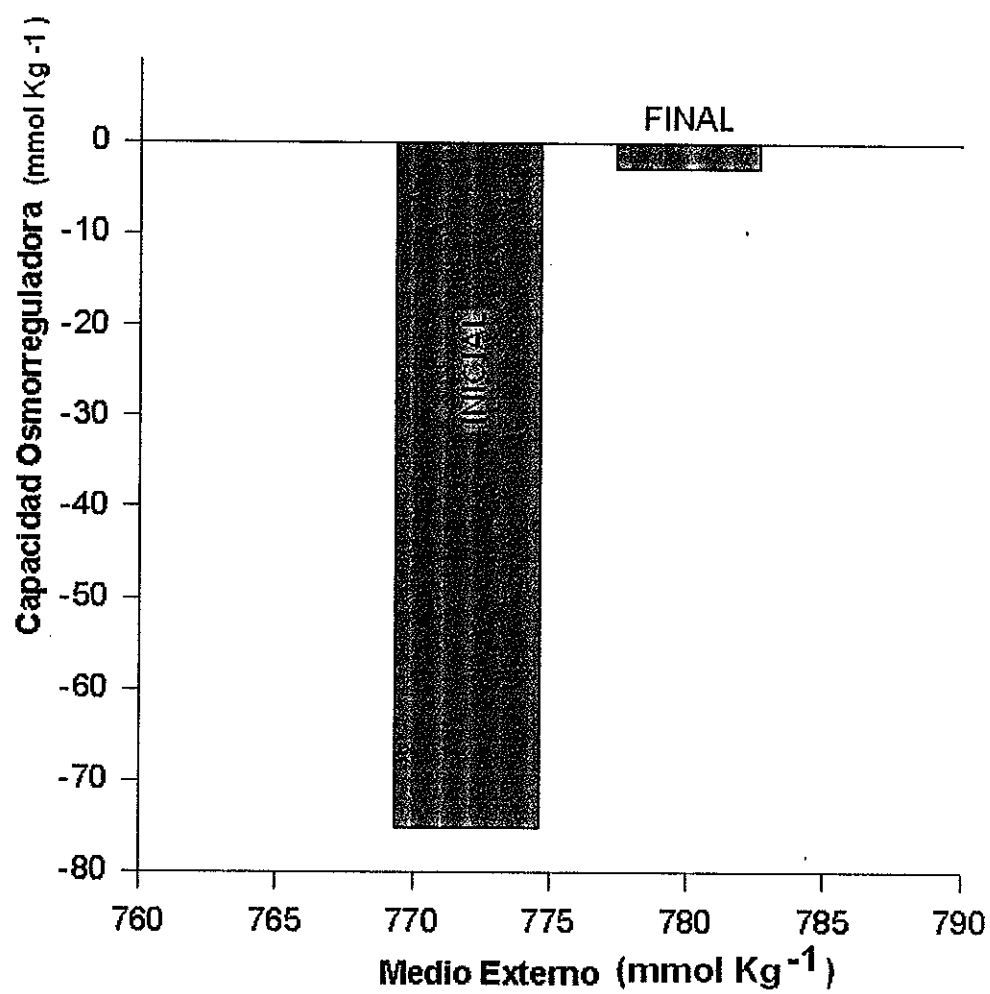


Figura 27.- Capacidad osmorreguladora de *L. stylirostris* en 25 ‰.

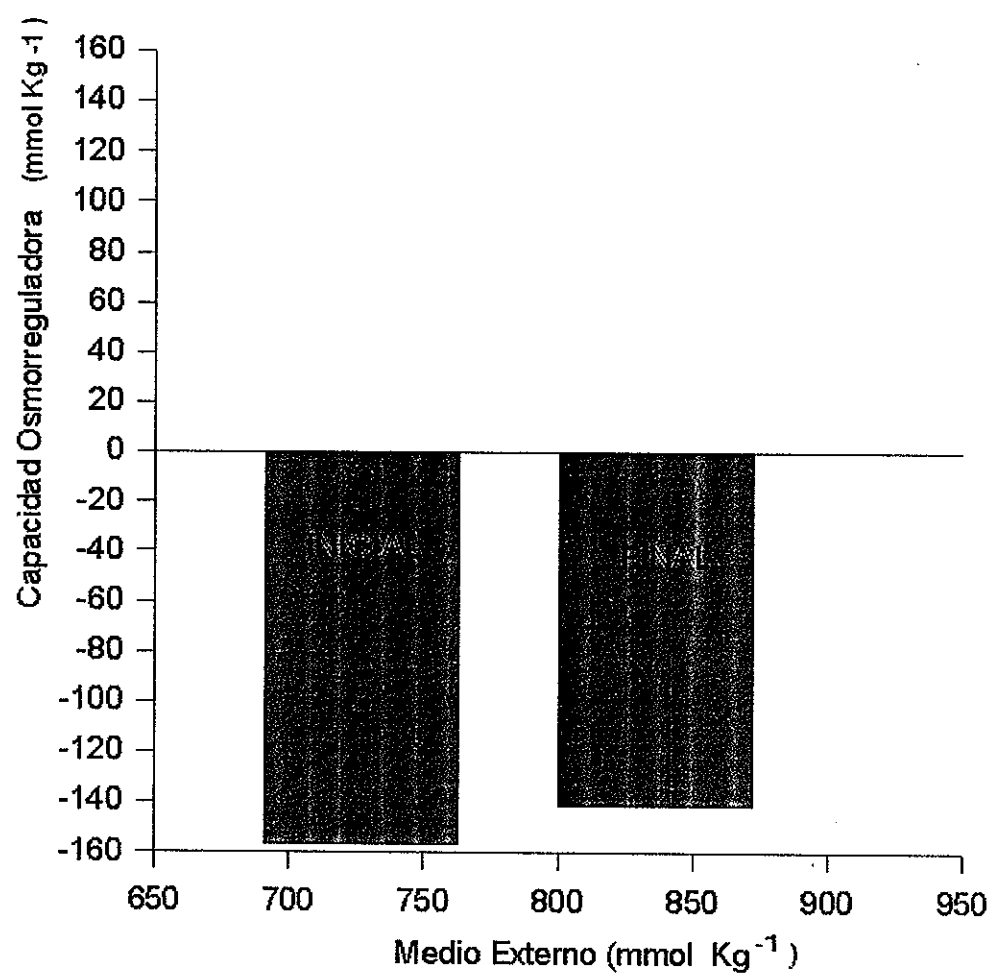


Figura 28.- Capacidad osmorreguladora de *L. stylirostris* en 30 %.

V DISCUSION

V.1.- Temperatura preferida y T.C.Max.

No se encontraron diferencias en el preferendum final de temperatura de *L. stylirostris* cuando fue mantenido en las salinidades de 10, 20, 30 y 40‰ utilizando el método gravitacional. Este se ubico en 28 ± 1.44 °C obtenido en este estudio. En *L. vannamei* Valdez, (2002) no encontró diferencias entre el preferendum final de temperatura cuando lo mantuvo en salinidades de 20, 26 y 32‰ utilizando el método gravitacional. Esto concuerda con lo mencionado por Reynolds y Casterlin (1979a) que en la mayoría de las especies de camarones peneidos la influencia de la salinidad sobre la preferencia térmica no afecta mas allá de unos pocos grados Celsius por lo que dicho efecto no es relevante. Lester y Pante (1992) mencionan que el efecto de la salinidad sobre los peneidos tiene menor influencia que el causado por la temperatura.

Para *L. stylirostris* no se encontraron diferencias estadísticas entre las determinaciones del preferendum térmico de la fase diurna y la nocturna, en las salinidades de 10, 20, 30 y 40‰. Esto indico que el camarón azul no presento un ciclo día-noche de selección de temperatura, en este caso como en otros organismos esto significa que el alimento en su medio no se encuentra limitado (Amador, 2001; Valdez, 2002; Medina, 2002; Re, 2004).

La temperatura preferida obtenida para *L. stylirostris* es un buen indicador del ambiente térmico que esta especie necesita, considerando que los organismos se encuentran fisiológicamente estables en esta temperatura de acuerdo con Nichelman (1983) en ese intervalo de temperatura ellos están expuestos aun mínimo de estrés térmico y sus funciones fisiológicas se optimizan lo que se puede reflejar en un crecimiento máximo. La amplitud de esta zona termo neutral tiene implicaciones importantes desde un punto de vista ecológico y acuicultural (Huey y Stevenson, 1989). Consecuentemente el cultivo de *L. stylirostris* en la

parte noroeste de México puede ser llevado a cabo con éxito en aquellas regiones donde la temperatura del agua sea cercana al preferendum final de 28 ± 1.44 °C.

Los organismos cuando se exponen a un gradiente térmico presentan dos tipos de orientación espacial; si su distribución es amplia pero evitando los extremos se conoce como clinotermoquinesis, si por el contrario se congregan en un intervalo estrecho de temperaturas este se denomina ortotermoquinésis (Fraenkel y Gunn, 1961). En este estudio las diferencias entre las medianas de la temperatura preferida en los camarones expuestos a las diferentes salinidades no superó un intervalo de 2.7° por lo que se considera que la orientación espacial utilizada por esta especie es ortotermoquinética, esto concuerda con otros trabajos realizados en crustáceos y moluscos; en el caso de las langostas *Panulirus argus* y *Homarus americanus* así como en el camarón rosado *Penaeus duorarum* (Reynolds y Casterlin, 1979 b, c y d) en los langostinos asiático, y americano *Macrobrachium rosenbergii* y *tenellum* (Díaz y Bückle, 1993; Hernández *et al.*, 1995; Díaz *et al.*, 1993) así como en el abulón rojo, rosado y azul (Díaz *et al.*, 2000 y Medina-Romo, 2002; Re-Araujo, 2003) que presentaron el mismo tipo de orientación. Esto implica que la velocidad de desplazamiento del camarón azul cambio en respuesta al gradiente de temperatura lo que posibilitó que los organismos se ubicaran rápidamente en las temperaturas que favorecen su máximo campo metabólico. Por lo tanto la preferencia de temperatura en los camarones parece ser un proceso que maximiza la disponibilidad de energía para ser canalizada a funciones como actividad, crecimiento, reproducción y sobrevivencia (Kelsch y Neill, 1990; Bryan *et al.* 1990, Kelsch, 1996)

La temperatura crítica máxima (TCMax) de *L. stylirostris* aumento significativamente con la temperatura de aclimatación en las diferentes combinaciones de temperatura y salinidad (Tabla IV). La temperatura crítica máxima es considerada como una medida de la tolerancia térmica de los organismos y se determina al incrementar gradualmente la temperatura desde la de aclimatación hasta que ocurre la desorganización física en respuesta al estresor térmico (Becker y Genoway, 1979; Paladino *et al.*, 1980). Se obtuvo una relación directa entre la temperatura de aclimatación y la tolerancia térmica del camarón azul, conforme se incremento esta, la temperatura crítica máxima aumento en un intervalo de 3 a 5

°C. En otras especies de crustáceos como *Palaemonetes kadiakensis*, *Procambarus clarkii*, *Macrobrachium tenellum*, *M. rosenbergii*, *M. acanthurus* y *Cherax quadricarinatus* (Nelson y Hooper, 1982; Díaz *et al.*, 1994; Hernández *et al.*, 1996; Díaz *et al.*, 1998; Díaz *et al.*, 2002; Díaz *et al.*, 2004) reportaron una relación directa entre la temperatura crítica y la de aclimatación como la obtenida para *L. stylirostris*.

Se consideró como el punto final de la temperatura crítica máxima en el camarón azul a la desorientación total (D.T.) ya que esta respuesta de estrés térmico representa el punto de pre-muerte en el cual los movimientos locomotores quedan desorganizados debido a un bloqueo neuromuscular y a una falla presináptica del sistema nervioso, por lo que el organismo pierde la habilidad de escapar de condiciones que lo lleven a la muerte (Beitinger y Fitzpatrick, 1979; White, 1983; Beitinger *et al.*, 2000).

La salinidad no causó un efecto significativo sobre la tolerancia térmica del camarón azul. Resultados similares fueron obtenidos por Criales y Chung (1980) para juveniles del camarón rosado *Farfantepenaeus brasiliensis* y para *F. aztecus* (Re *et al.*, 2005) ambas especies de camarón se caracterizan por tener una amplia tolerancia a la salinidad. Para *L. stylirostris* (Re *et al.*, 2004) obtuvieron un patrón de regulación hiperosmótico en salinidades por debajo del punto isosmótico e hiposmótico en las altas salinidades. Esto demuestra que el camarón azul se puede caracterizar como un fuerte regulador ya que se adapta rápidamente a la variación de la salinidad por incrementar o disminuir la concentración osmótica de la hemolinfa.

Paladino *et al.* (1980) mencionan que en las prácticas acuiculturales con organismos de importancia comercial, es de fundamental importancia conocer la temperatura crítica máxima ya que esta respuesta, es un indicador de la resistencia térmica de los organismos, y además es un método ecológico no destructivo que permite identificar la temperatura en la que aparecen los primeros síntomas de estrés, por lo que para asegurarse que el camarón azul en condiciones de cultivo no se exponga al estrés térmico; se sugiere que la temperatura del agua permanezca por debajo de los 35 °C.

En el camarón azul se determinó el (RRA) el que de acuerdo con Claussen (1977) es un índice de la magnitud de la aclimatación térmica, que para *L. stylirostris* tuvo un intervalo de 0.56 -0.74. Para diferentes especies de crustáceos de climas fríos como *Orconectes rusticus* (Claussen 1980) obtuvo un valor 0.24 y para *O. virilis* de 0.15, (Layne *et al.* 1987) reportó para *O. rusticus* valores de RRA entre 0.23-0.25. (Speer, 1955) y (Bowler 1968) obtuvieron valores de RRA entre 0.12-0.18 en el acocil *Astacus pallipes*. En *Procambarus clarkii* un acocil que se distribuye en zonas templado-cálidas la RRA calculada fue de 0.33 Díaz *et al.*, (1994). McLeese (1956) en postlarvas de la langosta *Homarus americanus* obtuvo un RRA de 0.24. En *Macrobrachium tenellum* el RRA calculado fue de 0.54 (Hernández *et al.*, 1996). Para dos estadios de desarrollo del langostino *M. rosenbergii* una especie tropical Díaz *et al.*, (1998) reportaron valores del RRA de 0.44-0.58. En *M. acanthurus* otra especie de langostino subtropical los valores obtenidos por Díaz *et al.* (2002) para la RRA fueron de 0.33-0.52. En *Cherax quadricarinatus* fue de 0.33-0.66 (Díaz *et al.*, 2004); en *Farfantepenaeus aztecus* el RRA fue de 0.30-0.50 (Re *et al.*, 2005).

Los datos presentados de la relación de respuesta a la aclimatación RRA para diferentes especies de crustáceos sugieren que las especies que habitan en regiones subtropicales y tropicales tienen valores más altos. Pérez *et al.* (2003) reportaron una tendencia similar en diferentes especies de peces de diferentes hábitats. Esta es una respuesta típica de los poiquiloterms. Se ha argumentado que las especies que habitan en regiones frías y templadas experimentan cambios graduales de temperatura, lo que les permite tener el tiempo suficiente para realizar ajustes metabólicos, que puedan dar como resultado, cambios substanciales en sus intervalos de tolerancia. Por otra parte las especies subtropicales y tropicales experimentan grandes fluctuaciones de temperatura en periodos cortos de tiempo, por lo que han desarrollado un amplio intervalo de tolerancia para sobrevivir a esos cambios de temperatura sin tener el tiempo suficiente para aclimatarse y ajustar su tolerancia (Johnson y Kelsch, 1998).

V.2.- Consumo de Oxígeno, Excreción Nitrogenada y Osmorregulación en Salinidades constantes y fluctuantes.

En los crustáceos la tasa respiratoria es modificada por factores externos como la salinidad, la intensidad luminosa, el oxígeno disuelto y la temperatura (Kutty *et al.* 1971; Bishop *et al.* 1980; Dalla Via 1986; Kurmaly *et al.* 1989 Martínez-Palacios *et al.* 1996).

Se obtuvo en los juveniles de *Litopenaeus stylirostris* una relación directa entre la tasa de consumo de oxígeno y la temperatura esta misma respuesta fue obtenida por Kutty *et al.* (1971) en *Fenneropenaeus indicus*, en *Penaeus monodon* por Kurmaly *et al.* (1989); Chen y Lai (1993), en *Farfantepenaeus californiensis* Villarreal y Ocampo (1993) y Martínez-Palacios *et al.* (1996) en *Litopenaeus vannamei*.

El consumo de oxígeno del camarón azul no fue afectado por la salinidad tanto en los mantenidos en las condiciones constantes como fluctuantes, se ha demostrado para otros decápodos eurihalinos, que la salinidad no tuvo un efecto pronunciado sobre el consumo de oxígeno si los organismos experimentales son aclimatados a las salinidades de prueba y si estas no son extremas (Bishop *et al.*, 1980; Gaudy y Sloane 1981; Díaz-Herrera *et al.*, 1992; Villarreal y Rivera 1993; Salvato *et al.*, 2001). Para los juveniles de *L. stylirostris* el tiempo de aclimatación a cada condición de salinidad fue el suficiente para que estabilizaran su medio interno (Castille y Lawrence, 1981), así como el intervalo de salinidades utilizado corresponde a las fluctuaciones naturales y a que la especie esta expuesta (Aragón, 2000).

Gaudy y Sloane (1981) mostraron que en postlarvas de *Penaeus monodon* y *Litopenaeus stylirostris* su metabolismo respiratorio no fue modificado por la salinidad, en juveniles de *Callinectes similis* expuestos a fluctuaciones ascendentes y descendentes de la salinidad Díaz-Herrera *et al.* (1992) obtuvieron que la tasa metabólica no se modifico significativamente, Villarreal y Rivera (1993) reportaron que la salinidad solamente tuvo un efecto marginal sobre la tasa metabólica en postlarvas de *Farfantepenaeus*

californiensis, Villarreal *et al.* (1994) obtuvieron en postlarvas de *Litopenaeus vannamei* la misma respuesta. En juveniles de *Penaeus monodon* y *Palaemon serratus* Salvato *et al.* (2001) no observaron una variación del consumo de oxígeno en relación con los cambios de salinidad a los que expusieron a esas especies.

Se ha enfatizado por Venkataramiah *et al.* (1974) que la tasa respiratoria no puede ser considerada como un buen índice de la tolerancia a la salinidad excepto en los casos donde la temperatura experimental corresponde a las características naturales del hábitat de los organismos, para el camarón azul la temperatura de 28 °C corrobora lo antes mencionado ya que correspondió a la preferida determinada para ésta especie por Re *et al.* (2000).

La tasa de excreción nitrogenada cuantificada en *L. stylirostris* se incrementó al exponerlo a las diferentes temperaturas de aclimatación, esta respuesta ha sido descrita para otros crustáceos (Chen y Lai, 1993; Jiang *et al.*, 2000).

En peneidos como en *M. japonicus*, *F. chinensis*, *P. monodon*, *F. aztecus* y *L. vannamei*, se ha reportado un incremento de la excreción nitrogenada cuando se disminuye la salinidad, (Chen y Lin, 1992; Chen y Lai 1993; Chen *et al.*, 1994; Hernández y Díaz 1995; Jiang *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2001). En este estudio en las condiciones experimentales de salinidades constantes como en las fluctuantes la tasa de excreción de amonio en los camarones aclimatados a las temperaturas de 23 y 33 °C se incremento cuando la salinidad se disminuyó de 40 a 10‰, esta respuesta posiblemente esta relacionada con un incremento en el catabolismo de los aminoácidos, ya que de acuerdo a Chen, (1998) los camarones en las bajas salinidades utilizan proteínas como la fuente primaria para la obtención de energía. Esta respuesta ha sido reportada en peneidos como en *M. japonicus*, *F. chinensis*, *P. monodon*, *F. aztecus* y *L. vannamei* (Chen y Lain, 1992; Chen y Lai 1993; Chen *et al.* 1994; Hernández y Díaz 1995; Jiang *et al.* 2000; Díaz *et al.* 2001).

En los juveniles del camarón azul expuestos a las diferentes salinidades constantes y fluctuantes la tasa de excreción de amonio se relaciono con los procesos de osmorregulación, ya que la excreción se incremento cuando los camarones fueron hiper-reguladores y disminuyó cuando hipo-regularon. Se ha demostrado por Mangum *et al*, (1976) y Pressley *et al*, (1981) que hay un incremento en la captación activa de Na^+ seguida por la transferencia de los organismos a medios diluidos y esto fue relacionado con un incremento en la excreción de amonio. La absorción de sodio es requerida para compensar su pérdida debido a la operación de la bomba de intercambio $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$. mecanismo que ha sido descrito desde Haberfield, (1975) para *Carcinus menas*; (Mangum, 1976) en *Callinectes sapidus*, (Spaargaren *et al.*, 1985) para *Penaeus japonicus*; (Regnault, 1987) describe para crustáceos en general, (Chen y Lai, 1993) *Penaeus japonicus*, (Chen y Nan, 1994) para cinco especies de peneidos y (Jiang *et al.*, 2000) en *Litopenaeus vannamei* describen este mismo comportamiento cuando los organismos son expuestos a bajas salinidades. En el camarón azul estos mecanismos fueron utilizados para balancear la concentración de sodio en la hemolinfa cuando fueron expuestos a medios hiperosmóticos. La cuantificación de la tasa de excreción nitrogenada en los camarones expuestos a diferentes factores ambientales es un importante requerimiento que debe ser tomado en cuenta para el diseño y operación de los sistemas intensivos de producción (Jiang *et al.*, 2000)

El patrón de osmorregulación de los juveniles del camarón azul *L. stylirostris* obtenido fue el típico de muchos crustáceos que habitan en sistemas lagunares estuarinos, fueron hiporreguladores e hiperreguladores en salinidades por arriba y por debajo del punto isosmótico (Vernberg y Vernberg, 1972; Mantel y Farmer, 1983)

Los puntos isosmóticos para los juveniles del camarón azul aclimatados a las salinidades constantes y fluctuantes y a las tres temperaturas tuvieron un intervalo de 676.8-700.7 mmol Kg^{-1} (23.7-24.6‰) y de 726-766 mmol Kg^{-1} (24.9-26.2‰) respectivamente, estos valores están dentro del intervalo de puntos isosmóticos reportados para diferentes especies de peneidos (Díaz *et al.*, 2001). Estos valores son mayores que el

reportado por Rodríguez (1981) y Castille y Lawrence (1981) de 610 y 680 mmol Kg⁻¹ respectivamente y menor al reportado por Lemaire *et al.*, (2002) de 735 mmol Kg⁻¹ para el camarón azul. En juveniles del camarón blanco expuestos a salinidades ascendentes y descendentes y aclimatados a diferentes temperaturas (Díaz *et al.* 2001) obtuvieron que los puntos isosmóticos tuvieron un intervalo de 712 a 777 mmol Kg⁻¹. Las diferencias se pueden atribuir a las diferentes condiciones experimentales utilizadas en estos estudios, ya que se conoce que factores como la temperatura, el oxígeno disuelto, el estadio del ciclo de muda, el tamaño de los organismos y el estado nutricional tiene una influencia sobre la osmolaridad de la hemolinfa.

Los valores de las pendientes de la relación entre la concentración osmótica del medio y de la hemolinfa de los juveniles del camarón azul aclimatados a las temperaturas de 23, 28 y 33 °C y expuestos a las salinidades constantes fueron 0.25, 0.17 y 0.37 respectivamente, en los expuestos a la fluctuación descendente y ascendente de la salinidad fueron 0.26, 0.17 y 0.11 y de 0.26, 0.19, 0.18 respectivamente. Una desviación de la pendiente de la línea isosmótica refleja el grado de la capacidad de regulación (pendiente = 0 osmorregulador, pendiente = 1 osmoconformador), organismos con pendientes altas como los mantenidos en 23 y 33 °C para las salinidades constantes y a 23 °C en las condiciones fluctuantes de salinidad tuvieron una débil regulación hiperosmótica. De acuerdo a Vernberg y Silverthorn, (1979) la temperatura afecta la capacidad osmorreguladora en los crustáceos por modificar el movimiento de agua a través de la membrana celular y la captación y pérdida de iones. El valor de la pendiente para los organismos mantenidos en 28 y 33 °C en salinidades constantes y fluctuantes reflejaron que en estas condiciones los camarones tuvieron un patrón osmorregulador de hiporregulación en altas salinidades e hiperregulación en bajas, por lo que pueden caracterizarse como fuertes reguladores, ya que se adaptaron rápidamente a las nuevas salinidades por incrementar o disminuir la concentración osmótica de la hemolinfa.

Para subadultos de *L. stylirostris* Lemaire *et al.* (2002) obtuvieron que conforme se disminuye la temperatura de 26 a 15 °C hubo una disminución significativa de la

capacidad osmorreguladora en los organismos mantenidos en salinidades constantes. Al comparar la capacidad osmorreguladora de juveniles del camarón azul expuestos a la fluctuación de la salinidad con subadultos de la misma especie mantenidos en salinidades constantes y aclimatados a diferentes temperaturas se observó una mayor sensibilidad en la capacidad osmorreguladora en los subadultos debido a la variación de la temperatura, esta respuesta diferencial puede considerarse desde el punto de vista adaptativo ya que la baja sensibilidad en la capacidad osmorreguladora mostrada por los juveniles de *L. stylirostris* les permite vivir en ambientes lagunares-estuarinos en los que se presenten variaciones significativas de temperatura.

V.3.- Efecto de la salinidad sobre la bioenergética

El estudio bioenergético en *L. stylirostris* evaluó el crecimiento de los organismos expuestos a las diferentes salinidades y no fue significativamente diferente para los expuestos a la salinidad de 25 ‰ (676.8-700.7 mmol Kg.⁻¹) que es el punto isosmótico encontrado previamente en este estudio. Tampoco se observó que la ingestión energética a través del consumo del alimento (C) en los camarones aclimatados a las tres salinidades fueron significativamente diferente lo que indicó que en este intervalo de salinidades el camarón consumió la misma cantidad de energía. En estudios realizados en *L. vannamei* se encontró que el camarón consumió la misma cantidad energética de alimento comercial cuando las salinidades son diferentes entre sí por un intervalo de 5‰ (Valdez, 2002). Guerin y Stickle (1997) reportaron que la tasa de energía consumida por juveniles de *Callinectes similis* no mostró una tendencia distinta aun en un intervalo salino de 2.5 a 50‰. El alimento utilizado en este estudio, es un alimento comercial que ha probado cubrir las necesidades del camarón en condiciones controladas en forma óptima (Re y Acosta, 2004).

La energía destinada a cubrir los procesos metabólicos de rutina de los juveniles de *L. stylirostris* mantenidos en las condiciones experimentales fue estadísticamente diferente, la salinidad de 25‰ los organismos usaron menos energía. Este resultado era predecible

debido al hecho que es la salinidad cercana al punto isosmótico reportado cuando los juveniles fueron expuestos a salinidades constantes y fluctuantes (Re *et al.*, 2004, Díaz *et al.*, 2004). Cuando los organismos se encuentran en un medio isosmótico no requieren de procesos activos para compensar cambios en la presión osmótica del medio interno (Panikkar, 1969). La mayor demanda energética por este concepto se registro en la menor salinidad donde los organismos fueron hiperosmóticos (20‰) y valores intermedios en la salinidad de 30‰, donde fueron hiposmóticos (Díaz *et al.*, 2004; Re *et al.*, 2004). Estos resultados son diferentes de los encontrados por Rosas *et al.*, (2001) y por Valdez, (2002) realizados en *L. vannamei* ya que la tendencia que encontraron en el metabolismo de rutina para el camarón blanco fue una mayor demanda energética se obtuvo en la salinidad mas alta, por aspectos evolutivos tiene una mayor capacidad osmorreguladora en salinidades bajas que en altas (Díaz *et al.*, 2001). Por otra parte Lemos *et al.*, (2001) reportaron que los procesos fisiológicos bajo diferentes salinidades (5, 15, 25 y 34‰) no causaron variaciones en el gasto energético medido en el consumo de oxígeno.

En los juveniles de *L. stylirostris* mantenidos en las tres salinidades el consumo de oxígeno se incremento después de consumir el alimento ICA, alcanzando su valor máximo en la mayoría de los casos a las dos horas posteriores de ser alimentados (11.4 a 8.26%). Este comportamiento coincide con el obtenido por Salvato *et al.*, (2001), Rosas *et al.*, (2002) y Valdez, (2002). Los patrones de consumo para *P. monodon* (Du Preez *et al.*, 1992) y *L. vannamei* (Valdez., 2002; Rosas *et al.*, 2002) variaron en picos registrados en una hora y hasta seis horas después de haber sido suministrado el alimento. Sin embargo esta respuesta depende de los hábitos y comportamiento individual de cada especie al momento de alimentarse y de la respuesta activa al manipularlo (Du Preez *et al.*, 1992).

En este estudio no se encontraron diferencias en el porcentaje de ICA en las diferentes condiciones experimentales dentro del intervalo de 51.7 a 58.04 % de la energía ingerida. Considerando que este índice depende fundamentalmente del contenido energético de la dieta se esperaba que no se encontraran diferencia debido a que se les administro la misma dieta. Beamish y Triple (1990) mencionan que los factores que

principalmente modifican la magnitud del incremento aparente de calor resultado de la ingestión es la naturaleza de la dieta entre estas son la composición química de la dieta la ración y el tamaño de la misma. Du Preez, (1992) reportaron que para *P. monodon* aclimatados diferentes salinidades experimentales extremas y alimentados con alimento comercial peletizado no obtuvieron diferencias significativas en el aumento en el consumo de oxígeno VO_2 ($J\text{ día}^{-1}\text{ gr}^{-1}\text{p.s.}$) En *L. vannamei* no se encontró diferencias significativas en la magnitud de este componente metabólico (ICA) que pudiera ser relacionado con la salinidad y la energía invertida en ese proceso. Rosas *et al.*, (2002), y Valdez, (2002) coinciden con los autores anteriores en el aspecto mas relevante, que la salinidad no determina la inversión energética en el ICA ya que entre diversas especies no sobrepasan el 30% de la variabilidad porcentual por el efecto de la asimilación.

El efecto de la salinidad sobre el metabolismo fue claramente observado en *L. stylirostris* a través de la excreción nitrogenada. El incremento en esta tasa se debe principalmente al catabolismo de los aminoácidos. La excreción nitrogenada (U) de los organismos fue menor en los mantenidos en 25‰, ya que en las otras salinidades la respuesta vario en un intervalo de 39.62 a 64.9 Joules $\text{gr}^{-1}\text{ día}^{-1}\text{ p.s.}$ esta variación esta dentro de los valores encontrados en otros decápodos (Díaz *et al.*, 2001). Se encontró que la mayor concentración de amonio fue producida en la salinidad donde los camarones fueron hiperosmóticos (20‰) los valores intermedios fueron registrados en los juveniles que estuvieron en condiciones hiposmoticas (30‰). Jiang *et al.*, (2002) así como Díaz *et al.*, (2001) y Valdez, (2002) reportaron tendencias similares estimando que la menor gasto energético por excreción amoniaca se obtiene en los organismos mantenidos en el punto isosmótico 26‰ lo que coincide con lo encontrado en este estudio en la salinidad de 25‰ que es la que corresponde al punto isosmótico de *L. stylirostris*. El incremento en la excreción de amonio favorece la captación de sodio cuando el organismo se encuentra en medios diluidos (Spaargaren *et al.*, 1985; Regnault, 1987; Chen y Nan, 1994; Jiang *et al.*, 2000).

La producción de exuvias (E) fue de 5.48 a 5.36 % en *L. stylirostris* que se considero dentro del promedio en relación a otros peneidos. El porcentaje de energía invertido en la producción de exuvias reportado para diferentes estadios de desarrollo de *Penaeus monodon* fue 1.4 al 3.8% y en *L. vannamei* fue de 14.80 a 17.02% (Kurmaly, Yule y Jones, 1989; Valdez, 2002) los que son muy cercanos a los encontrados en *L. stylirostris* cuando se expusieron a 20, 25 y 30 ‰. Valores similares han sido reportados para otros decápodos, tales como *Crangon crangon* y *C. maenas*, y *Homarus americanus* quienes invirtieron del 10 al 17% respectivamente de la energía ingerida a través del alimento en la formación del exoesqueleto (Klein-Breteler 1975; Logan y Epifanio 1978)

La inversión energética dirigida al campo de crecimiento (P) represento del 74.1% al 79.3% de la energía ingerida a través del alimento. Rosas *et al.*, (2001 y 2002) enfatizan la importancia de la tasa de crecimiento en relación a la disponibilidad del uso de aminoácidos obtenidos del alimento como factores osmóticos, lo cual permite una menor utilización de los aminoácidos provenientes del músculo y consecuentemente una mejor disponibilidad energética dirigida al aumento de biomasa. Sin embargo, en el caso de los estudios de Bray *et al.*, (1994) y de Lemos *et al.*, (2002) observaron mejores crecimientos de *L. vannamei* y *F. paulensis* en bajas salinidades, probablemente debido a la formación de razas fisiológicas, que logran utilizar otros iones en salinidades bajas y optimizar su recursos energéticos con mayores tasas de conversión alimenticia y dirigirlos a tejido y por lo tanto a un mayor crecimiento.

En este estudio el crecimiento de los juveniles de *L. stylirostris* no fue afectado significativamente por la salinidad obteniéndose que tanto el peso húmedo así como el peso seco final no fuesen diferentes para ninguna de las condiciones experimentales. El contenido de agua en el tejido de los juveniles de *L. stylirostris* aclimatado a las salinidades de 20, 25 y 30‰ fue de 68.82, 69.83, y 66.83% respectivamente. El porcentaje de humedad en los organismos aclimatados a las tres salinidades no vario mas de 1.52%. Chen *et al.*, (1995, 1998) mencionan que el contenido de agua en juveniles de *F. chinensis* decreció cuando se expusieron a 40‰ con respecto a 10‰ de salinidad. Estos autores

explicaron que el flujo osmótico del agua al interior del organismo en bajas salinidades se incremento, resultando en un aumento de orina con alta concentración de electrolitos. En los porcentajes encontrados por Valdez, (2002) así como los de este estudio no se observaron esta variación tan significativa entre los porcentajes de humedad corporal probablemente debido a que el intervalo salino al que fueron expuestos los camarones blanco y azul no es un intervalo extremo, por lo que las diferencias no difirieron entre si mas del 2%.

La tasa de conversión neta (K_2) reportada en Lemos *et al.*, (2001) para postlarvas de *F. paulensis* indicaron que la energía invertida en crecimiento cuando estos organismos se encontraron en salinidades de 5 a 25‰ (52.2 a 56.3%) fue similar mientras que cuando se mantuvieron en una condición de 34‰ dicho índice disminuyo a 44.4%. Los autores mencionan que existen procesos como el aumento en la tasa metabólica, cambios en la permeabilidad en las membranas, así como en el equilibrio intracelular que originan mayores demandas energéticas debidas a la salinidad en la que el organismo se encuentra. Los índices K_1 y K_2 fueron menores en los organismos que se aclimataron a 20 y a 30‰. Lo que permite suponer que el camarón azul mantiene un optimo fisiológico en el intervalo de 25 a 30‰ salinidad y a una temperatura de 28 °C lo que coincide con lo reportado por Valdez, (2002) que encontró que la salinidad no influyo en el balance energético de *L. vannamei*.

La capacidad osmorreguladora del camarón azul a la temperatura de 28 °C mostró una modificación conforme paso el tiempo ya que en las tres salinidades se observo una variación al final del experimento. En los casos extremos de 20 y 30‰ las respuestas fueron disminuir la diferencia iónica entre el medio externo y el medio interno, sin embargo la diferencia mas notable fue en la salinidad de 25‰ que se acerco al punto isosmótico, con un costo energético metabólico relativamente bajo de 215.26 ± 82.06 Joules día⁻¹gr⁻¹p.s. Lo que concuerda con otros estudios en donde los cambios de salinidad no impactan en el metabolismo de rutina de los peneidos cuando se encuentran en temperaturas y salinidades optimas (Díaz *et al.*, 2001; Rosas *et al.*, 2001; Valdez, 2002).

Existe una relativa variabilidad en entre los datos publicados para balances energéticos construidos para peneidos así como para otras especies de crustáceos. La variación de los resultados es debida a los diversos métodos experimentales utilizados así como de las condiciones experimentales en que se mantuvieron los organismos, además de las diferencias intrínsecas de los organismos (talla, fase del ciclo de muda y otros) y de los alimentos (cantidad y calidad energética) dosis, digestibilidad de los nutrientes y frecuencia de administración del alimento. Por lo anterior, una comparación directa de los valores absolutos de los resultados obtenidos en este trabajo con los reportados por otros autores es difícil. Sin embargo es posible comparar las tendencias relativas de la magnitud de las tasas fisiológicas que componen el balance energético para los juveniles de *L. stylirostris* y los reportados con otros estudios.

Los resultados obtenidos de este trabajo para *L. stylirostris*, indican que para el cultivo de esta especie con esta dieta comercial utilizada cubrió con todos los requerimientos nutricionales y le ofreció a los organismos la energía suficiente para crecer aun en una condición relativamente suboptima. Los estudios bioenergéticos son de gran importancia y este en particular hecho en camarón azul un crustáceo de gran importancia comercial radica en que permite describir y explicar las condiciones fisiológicas de los organismos, además de ser un método cuantitativo útil para conocer las diferentes rutas energéticas internas de los organismos así como el conocer la calidad de las dietas comerciales.

Finalmente considerando todas y cada una de las variables que se involucraron en este estudio se recomienda que para optimizar el cultivo del camarón azul en condiciones controladas se haga en temperaturas alrededor de 28 °C, y dado que la salinidad ha sido determinada experimentalmente, se propone que la salinidad de 25‰ se considere como la salinidad optima para esta especie, ya que esta cerca del punto isosmótico determinado para el camarón azul, que de acuerdo con (Pannikar 1968; Brito *et al.*, 2000; Chen y Nan, 1994; y a Jiang *et al.*, 2000) en estas condición los camarones gastan menos energía para el

mantenimiento del gradiente osmótico y que este intervalo en algunas especies gravita cerca del punto isosmótico y por lo tanto el crecimiento se incrementa ya que los organismos estarán en un ambiente libre de estrés ambiental.

VI. CONCLUSIONES

- ▲ Se obtuvo que la salinidad no modifico significativamente ($P < 0.05$) la temperatura preferida determinándose que para el camarón azul el preferéndum final se ubico en 28° C.
 - ▲ El camarón azul utilizo como mecanismo de orientación el ortotermoquinético cuando se expuso al gradiente térmico en las cuatro salinidades experimentales.
 - ▲ La temperatura de aclimatación influyo significativamente sobre la temperatura critica máxima. La relación de la respuesta a la aclimatación RRA tuvo un intervalo de 0.56 – 0.74 ubicando al camarón azul como un organismo subtropical el cual posee un amplio intervalo de tolerancia térmica en periodos cortos de tiempo.
 - ▲ Los resultados de TCMax nos permiten proponer que para que los organismos en condiciones de cultivo no se vean afectados ni en la integridad fisiológica ni en la supervivencia que no experimenten temperaturas mayores de 35 ° C.
 - ▲ El camarón azul exhibió el tipo I de respuesta propuesto por Kinne, (1967), ya que el consumo de oxígeno no se modificó significativamente en aquellos organismos mantenidos en 28 °C, al ser expuesto a las diferentes salinidades.
 - ▲ La tasa de excreción nitrogenada cuantificada en *L. stylirostris* se incrementó al exponerlo a las diferentes temperaturas de aclimatación.
 - ▲ En los juveniles del camarón azul expuestos a las diferentes salinidades la tasa de excreción de amonio se relacionó con los procesos de osmorregulación, ya que la excreción se incremento cuando los camarones fueron hiper-reguladores y disminuyó cuando hipo-regularon.
-

- ^ El balance energético realizado en el camarón azul permitió definir que las condiciones experimentales de 25‰ y de 30 ‰ de salinidad y 28 °C determinada como la temperatura preferida permiten un crecimiento y un balance energético optimo.
 - ^ En las tres condiciones de salinidad en las que se mantuvo al camarón azul se obtuvo un porcentaje del campo de crecimiento de mas del 74% lo que corrobora que es la cantidad de energía que el camarón tiene disponible para crecer una vez que cubrió las demandas metabólicas.
 - ^ El consumo porcentual de la dieta Rangen y el crecimiento final de los organismos en las tres condiciones no tuvo diferencias significativas por lo que en condiciones naturales de cultivo el acuacultor tiene un intervalo del 20 al 30‰ de salinidad en la temporada de engorda sin detrimento del peso de final de cosecha.
 - ^ Finalmente en la medida que el organismo sea expuesto a temperaturas alrededor de los 28 °C el camarón azul crecerá sin estrés, temperaturas de 23 y 32 °C exponen al camarón a niveles de estrés con la perdida de energía y un metabolismo que se aleja del optimo.
-

VII Literatura Citada

- Aragón, N. E. A. 2000. Ecología del reclutamiento del camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1871) en el alto Golfo de California. Tesis Doctoral. Ecología Marina. CICESE. Ensenada, B.C. 117 pp.
- Beamish, F. W. H. y E. A. Trippel. 1990. Heat increment: a static or dynamic dimension in bioenergetics models?. Trans. Amer. Fish. Soc. 119: 649-661.
- Becker, C.D. and Genoway, R.G. 1979. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. Env. Biol. Fish. 4: 245-256.
- Beintinger, T.L. y Fitzpatrick, L.C. 1979. Physiological and Ecological correlates of preferred temperature in fish. Am. Zool. 19:319-330.
- Beitinger, T.L., Bennett, W.A. y McCauley, R.W. 2000. Temperature tolerance of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. Env. Biol. Fish. 58: 237-275.
- Bishop, M. J., Gosselink, J. G. y Stone, J. H. 1980. Oxygen consumption and haemolymph osmolality of brown shrimp, *Penaeus aztecus*. Fish. Bull. 78: 741-757.
- Bowler, K. 1963. A study of factors involved in acclimatization of temperature and death at higher temperatures in *Astacus pallipes*. I Experiments in intact animals. J. Cell. Comp. Physiol. 62: 119-132.
- Bray, W. A., A. L. Lawrence y J. Leung-Trujillo. 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observation on the interaction of IHHN virus and salinity. Aquaculture. 122:133-146.
- Brett, J. R. 1971. Energetic responses of salmon to temperature: A study of some thermal relations in the physiology in freshwater ecology of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). Am. Zool. 11: 99-113.
- Brito R., M. A. Chimal y C. Rosas. 2000. Effect of salinity in survival, growth and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Decápoda: Penaeidae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 244: 253-263.
- Bryan, J.D., S.W. Kelsch, y Neill, W.H. 1990. The maximum power principle in behavioral thermoregulation by fishes. Trans. of Am. Fish. Soc. 119:611-621.
- Bücker, L. F., F. Díaz, F. Correa, B. Barón, y M. Hernández. 1994. "Diel thermoregulation of the crawfish *Procambarus clarkii* (Crustacea : Cambaridae)". J. Therm. Biol. 19, 419-422.
-

- Bückle, R. L. F., Díaz, H. F y S. Espina. (1996). "Thermoregulatory behavior applied to the culture of *Procambarus clarkii* (Decapoda : Cambaridae)". Rev. Biol. Trop. 44, 123-126.
- Calow A.B. 1977 Conversion efficiencies in heterotrophic organisms Biol. Rev. 52: 385-409.
- Cawthorne, D. F., T. Beard, J. Davenport y J. F. Wickins. 1983. Responses of juvenile *Penaeus monodon* Fabricius to natural and artificial seawaters of low salinity. Aquaculture. 32: 165-174 .
- Capuzzo, J. M. 1982. Crustacean bioenergetics: the role of environmental variables and dietary levels of macronutrients on energetic efficiencies. En: G. D. Pruder, C. J. Langdon y D. E. Conklin (eds.). Proceedings of the second international conference on aquaculture nutrition: biochemical and physiological approaches to shellfish nutrition. Louisiana State University. 2: 71-86.
- Casterlin, M. E. y W. W. Reynolds. 1979. "Behavioral thermoregulation in the grass shrimp *Palaemonetes vulgaris* (SAY)". Rev. Can. Biol. 38, 45-46.
- Castille, F. L. Jr. y A. L. Lawrence, 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentration in the haemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. Com. Biochem. Physiol. 68A, 75-80.
- Charmantier, G., M. Charmantier-Daures., N. Bouaricha., P. Thuet., D.E. Aiken y J.P. Trilles. 1988. Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two crustaceans: *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. Biol. Bull. 175:102-110.
- Charmantier-Daures, M., P. Thuet ., G. Charmantier y J.P. Trilles. 1989. Tólerance á la salinité et osmorégulation chez les post-larves de *Penaeus japonicus* et *Penaeus chinensis*. Effet de la température. Aquat. Living Res. 1: 267-276.
- Charmantier, G., N. Bouaricha., M. Charmantier-Daures., P. Thuet y J.P. Trilles. 1989. Salinity tolerance and osmoregulatory capacity as indicator of the physiological state of penaeid shrimps. Eur. Aquacult. Soc. Spec. Publ. 10: 65-66
- Charmantier, G., C. Soyez y Aquacop. 1994. Effect of molt stage and hypoxia on osmoregulatory capacity of the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 178: 233-246.
- Charmantier, G., Soyez, C. y Aquacop. 1994. Effect of molt stage and hypoxia on osmorregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 178, 233-246.
- Chen, J. C. y Lai. 1993 . Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 162:161-170.

- Chen, J. C. F. H. Nan. 1993 Changes of oxygen consumption and ammonia-N excretion by *Penaeus chinensis* Osbeck at different temperatures and salinity levels. J. Crust. Biol. 13:706-712
- Chen, J. C., M. N. Lin, Y. Y. Ting y J. N. Lin. 1995. Survival, haemolymph osmolality and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles acclimated to different salinity and temperatures levels. Comp. Biochem. Physiol, 3: 253-258.
- Claussen, D.L. 1977. Thermal acclimation in ambystomatid salamanders. Comp. Biochem. Physiol. 58A: 333-340.
- Claussen, D.L. 1980. Thermal acclimation in the crayfish *Orconectes rusticus* and *O. virilis*. Comp. Biochem. Physiol. 66A: 377-384.
- Clark, J. V. 1992. Physiological responses of adult *Penaeus semisulcatus* (De Haan) to change in salinity. Comp. Biochem. Physiol. 101 A: 117-119.
- Clifford III, H. C. y R. W. Brick. 1979. A physiological approach to the study of growth and bioenergetics in the freshwater shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. Proc. World Mar. Soc, 10: 710-719.
- Coman, G.J., P.J., Crocos, Preston, y D. Fielder. 2002. The effects of temperature on the growth survival and biomass of different families of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. Aquaculture. 214: 185-199.
- Cowles R.B. y C.M. Bogert. 1944 A preliminary study of the thermal requirements of desert reptiles. Bull. Am. Mus. Nat Hist 83: 261-296.
- Criales, M.M. y K.S. Chung, 1980. Tolerancia térmica en postlarvas y juveniles del camarón rosado *Penaeus brasiliensis*. Informes Museo del Mar. 27: 1-15.
- Crossin, O. T., S. A. Al-Ayoub, S. H. Jury, W. H. Howell y W. H. Watson III. 1998. Behavioral thermoregulation in the american lobster *Homarus americanus*. J. Exp. Biol. 201: 365-374.
- Dall, W. 1981. Osmoregulatory ability and juvenile habitat preference in some penaeid prawns. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 54:55-64.
- Dalla Via, G. J. 1986. Salinity responses of the juvenile penaeid shrimp *Penaeus japonicus* I. Oxygen consumption and estimations of productivity Aquaculture. 55 297-306.
- Dawirs, R.R. 1983. Respiration, energy balance and development during growth and starvation of *Carcinus maena* larvae J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 69:105-128.
- De la Lanza Espino, G. 1998. Aspectos fisicoquímicos que determinan la calidad del agua. En:

- Martínez Córdova L. R. (ed.). Ecología de los sistemas acuícolas ACT editores. A. México D. F., 1-24 p.
- Díaz, H. F. y Bückle, R. L. F., 1993. Efecto de la salinidad sobre el consumo y la excreción de amonio de *Macrobrachium rosenbergii* (Crustácea: Palaemonidae). Rev. Biol. Trop. 41: 239-243.
- Díaz, H. F., Pérez C. E., Luna, F. J., Tapia G. A. y Rosas, V. C. 1992. Consumo de oxígeno, excreción de amonio y osmorregulación de juveniles de *Callinectes similis* Williams (Crustácea: Portunidae) expuestos a salinidades fluctuantes. Ciencias Marinas. 18: 93-104.
- Díaz, H. F., Sierra, U. E., Bückle, R. L. F. y Garrido, M. A. 1998. Critical thermal maxima and minima of *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda: Palaemonidae). J. Therm. Biol. 23: 381-385.
- Díaz, H.F., Espina, S. y Bückle, R.L.F. 1994. Thermal stress responses of *Procambarus clarkii*. Riv. Ital. Acquacol. 29: 149-154.
- Díaz, H. F., Del Río-Portilla, M. A., Sierra, E., Aguilar, M. y Re-Araujo, D. 2000. Preferred temperature and critical thermal maxima of red abalone *Haliotis rufescens*. J. Therm. Biol. 25:257-261.
- Díaz, H. F., C. Farfán, E. Sierra y A. D. Re. 2001. Effects of temperature and salinity fluctuation on the ammonium excretion and osmoregulation of juveniles of *Penaeus vannamei*, Boone. Mar. Fresh. Behav. Physiol 34: 93-104.
- Díaz, F., Sierra, E., Re-Araujo, A., y Rodríguez, L. 2002. Behavioral thermoregulation and critical thermal limits of *Macrobrachium acanthurus* (Wiegman). J. Therm. Biol. 27:423-428.
- Díaz F., Re-Araujo, A., Sierra, E y Amador G. 2004 Behavioural thermoregulation and critical limits applied to the culture of red claw *Cherax quadricarinatus* (von Martens) Freshwater Crayfish 14:1-9.
- Díaz, F., Re-Araujo, A., Sierra, E y Díaz E. 2004. Effects of temperature and salinity fluctuation on the oxygen consumption, ammonium excretion and osmoregulation of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson)" J. Shellfish Res. 23: (in press).
- Díaz-Iglesias, E., M. Báez Hidalgo, E. Perera Bravet y I. Fraga Castro. 2002. Respuesta metabólica de la alimentación natural y artificial en juveniles de la langosta espinosa, *Panulirus argus* (Latreille, 1804). Hidrobiologica. 12.2: 101-112.
- Díaz-Iglesias, E., Díaz, F., Sierra, E., Re-Araujo, A., M. Báez Hidalgo, M. López Centeno, y G. Valdez Sánchez, A, K, López Murillo. 2004. Temperatura preferida y consumo de oxígeno

circadiano de la Langosta roja *Panulirus interruptus* (Randall, 1842) . Ciencias Marinas 30: 169-178.

Eckert R., D. Randall y G. Augustine 1990. Fisiología Animal Mecanismos y Adaptaciones. 670pp

Elliot y Davison 1975. Energy equivalent oxygen consumption in animal energetics. Oecologia 19:195-201

Espina S. y C. Vanegas. 1996. Ecotoxicología y Contaminación En Golfo de México, Contaminación e impacto ambiental: Diagnostico y Tendencias. EPOMEX SEP Univ. Aunt. De Campeche. 666p

Ferraris, R. P., Parado-Estapa, F. E., Ladja, J. M. y De Jesús, E. G. 1986. Effect of salinity on the osmotic, chloride, total protein and calcium concentrations in the haemolymph of the prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). Comp. Biochem. Physiol. 83A; 701-708.

Fraenkel, G.S., y Gunn, D.L. 1961. The Orientation of Animals. Kineses, taxes and compass reactions . Dover Publications, New York, USA, 376.

Fry, F.E.J. 1947. Effects of the environment on animal activity. Univ. Toronto Stud. Biol. Ser. 55, Publ. Ontario Fish. Res. Lab., 68:1-62.

Fry, F.E.J. 1971. The Effect of Environmental Factors on the Physiology of Fish. In W.S. Hoar y D.J. Randall (eds.). Fish Physiology Vol VII: Environmental Relations and Behaviour. Academic Press, New York, pp. 1-98.

Gaudy, R. y Sloane, L. 1981. Effect of salinity on oxygen consumption in post larvae of the penaeid shrimp *Penaeus monodon* and *P. stylirostris* without and with acclimation. Mar. Biol. 653 297-301.

Gerhardt, H.V. 1980. Nitrogen excretion by juvenile prawn *Penaeus indicus* Milne Edwards at various temperatures. S. Afr. J. Sci. 76: 39-40

Giattina J.R. y Garton, R.R. 1982. Graphical model of thermoregulatory behavior by fishes with a new measure of eurithermality. Can. J. Fish. Aquatic Sci. 39: 524-528.

Giattina, J.R. y Garton, R.R. 1982. Graphical model of thermoregulatory behavior by fishes with a new measure of eurithermality. Can. J. Fish. Aquatic. Sci. 39: 524-528.

Gnaiger, E. 1983. Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. En: Gnaiger, E. y H. Forstner (eds.). Polarographic oxygen sensor springer. Berlin, Alemania. 337-345.

Guerin, E. L. y W. B. Stickle. 1997. Effect of salinity on survival and bioenergetics of juvenile lesser blue crabs, *Callinectes similis*. Mar. Biol. 129: 63-69.

- Gutierrez-Yurrita, P. J. y C. Montcs. 2001. Bioenergetics of juveniles of crayfish *Procambarus clarkii*. Comp. Biochem. Physiol. 130A: 29-38 .
- Hall, Jr. L. W., Cincotta, D. A. Stauffer, Jr. J. R. y C. H Hocutt, 1978. "Temperature preference of crayfish *Orconectes obscurus*". Arch. Environ. Cont. Toxicol. 7, 379-383.
- Hartenstein, R. 1970. Nitrogen metabolism in non-insect arthropods. In J.W. Cambell, editor. Comparative biochemistry of nitrogen metabolism. Vol. 1. The invertebrates. London: Academic Press. pp. 299-385
- Hernández, R.M y Díaz, H.F. 1995. Interacción de la temperatura y la salinidad sobre la excreción de amonio y osmorregulación en *Penaeus aztecus* (Crustacea:Peneidae). Carib. J. Sci. 31: 284-288.
- Hernández, R.M., Buckle, R.L.F. y Díaz, F. 1996. Critical thermal maximum of *Macrobrachium tenellum*. J. Therm. Biol. 21: 139-143.
- Howe, N. R., W. D. Quasl y L. M. Cooper. 1982. Lethal and sublethal effects of a simulated salt brine effluent on adults and subadults of the shrimps *Penaeus setiferus* and *Penaeus aztecus*. Mar. Biol., 68: 37-47 p.
- Huey, R. B. y Stevenson, R. D., 1979. Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: A discussion of approaches. Am. Zool. 19, 357-366
- Huner, J.V. y L.B. Colvin. 1979. Observations on the molt cycles of two species of juvenile shrimp *Penaeus californiensis* and *Penaeus stylirostris* (Decápoda: Crustácea). Proc. Nat. Shell. Assoc. 69: 77-84.
- Hutchison, V. H. y Maness, J. D. 1979. "The role of behaviour in temperature acclimation and tolerance in ectotherms". Am. Zool. 19, 367-384.
- Jiang, D. H., A. L. Lawrence, W. H. Neill y H. Gong. 2000. Effects of temperature and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 253:193-209 .
- Jobling, M., 1981. Temperature tolerance and the final preferendum – rapid methods for the assessment of optimum growth temperatures. J. Fish. Biol. 19, 439-455.
- Johnson, J.A. y Kelsch, S.W. 1998. Effects of evolutionary thermal environment on temperature preference relationship in fishes. Env. Biol. Fish. 53: 447-458.
- Jury, S. H. y W. II. Watson III. 2000. Thermosensitivity of the lobster, *Homarus americanus*, as determined by cardiac assay. Biol. Bull. 199: 257-264 p.

- Kelsch, S. W. 1996. Temperature selection and performance by bluegills : Evidence for selection in response in available power. *Trans. of Amer. Fish. Soc.* 125: 948-955.
- Kelsch, S.W. y Neill, W.H. 1990. Temperature preference versus acclimation in fishes: selection for changing metabolic optimum. *Trans. Am. Fish. Soc.* 119: 601-610.
- Kinne, O. 1967. Physiology of estuarine organisms with special reference to salinity and temperature. In G.H. Lauff, editor. *Estuaries*. Washington, D.C: AAAS Publ. No 53. pp. 525-540.
- Kinne, O. 1970. Temperature: Animals, invertebrates. In O. Kinne, editor *Marine Ecology Vol 1 Part II*. New York: Wiley-Interscience. pp. 407-616.
- Kinne, O. 1971. Salinity: Animal Invertebrates. In O. Kinne (ed.), *Marine Ecology Vol I. Environmental Factors*. Wiley Interscience, London, pp. 821-995.
- Kinne, O. 1973. The effect of temperature and salinity on marine and brackish water animals : I Temperature. *Oceanographic Marine Biology Annual Review* 1: 301-340.
- Kinne, O. 1977. Cultivation of marine organisms: Water quality management and technology. In O. Kinne, editor *Marine Ecology Vol 1 Part III*. New York: John Wiley & Sons. pp. 742-883
- Klekowski, R. Z. y A. Duncan. 1975. Physiological approach to ecological energetics. En: W. Grodzinski, R. Z. Klekowski y A. Duncan (eds.). *Methods for ecological energetics*. Blackwell scientific publications. Oxford. 15-64.
- Klein Breteler, W. C. M. 1975. Food consumption, growth and energy metabolic of juveniles shore crab *Carcinus maena* *Net. J. Sea Res.* 9: 255-272.
- Kumlu, M., O. T. Eroldogan y M Aktas 2000 Effects of temperature and salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus*. *Aquaculture*. 188:167-173.
- Kumlu, M., O. T. Eroldogan, M. Aktas y B. Saglamtimur. 2001. Larval growth, survival and development of *Penaeus monoceros* (Fabricius) cultured in different salinities. *Aquac. Res* 32 -36.
- Kurmaly, K., D.A. Jones, A.B. Yule y J. East. 1989. Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) Larvae, from protozoa to postlarval, on Live Feeds, Artificial Diets and on combinations of both. *Aquaculture*. 81:227-245.
- Lagerspetz, K. Y. H. 1974. "Temperature acclimation and the nervous system". *Biology Review* 49, 477-514.
- Lange, R. 1972. Some recent work on osmotic, ionic and volume regulation in marine animals. A

- review. *Oceanography. Mar. Biol.* 10: 97-136.
- Layne, J.R., Claussen. D.L. y Manis, M.L. 1987. Effects of acclimation temperature, season and time of day on the critical thermal maxima and minima of the crayfish *Orconectes rusticus*. *J. Therm. Biol.* 12:183-187.
- Lemaire, P., E. Bernard., J.A. Martínez-Paz y L. Chim. 2002. Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 209: 307-317.
- Lemos, D., V. N. Phan y G. Álvarez. 2001. Growth, oxygen consumption, ammonia-N excretion, biochemical composition and energy content of *Farfantepenaeus paulensis* Perez-Farfante (Crustacea: Decápoda, Penaeidae) early postlarvae in different salinities. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 261: 55-74.
- Lester L. J. Y M. J. R. Pante 1992. Penaeid temperature and salinity responses En: A. W. Fast L.J. Lester Eds. *Marine shrimps culture principles and practices* Elsevier Amsterdam 515-534p
- Levine D. M y Sulkin S. D. 1979. Partitioned and utilization of energy during the larval development of the xantid crab *Rhithropanopeus harrisii* *J. Exp. Mar. Biol. Ecol* 40:247-257.
- Lignot, J.H., J.C. Cochrad., C. Soye., P. Lemaire y G. Charmantier. 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture*. 170: 79-92.
- Lignot, J.H., C. Spaniengs-Pierrot y G. Charmantier. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191: 209-245.
- Lockwood, A. P. M. 1962. The osmoregulation of crustacea. *Biol. Rev.* 37: 257-305
- López, Z. M. 2002. Preferendum térmico y halino en juveniles de *Panulirus interruptus* empleando un método de gradientes y la descripción del comportamiento termorregulador y osmoconformador. Tesis de Licenciatura, UABC. Ensenada, B. C. México. 49 pp.
- Logan, D.T. y Epifanio C. E. 1978. A laboratory energy balance for the larvae in juveniles of American lobster *Homarus americanus* *Mar. Biol.* 47:381-389.
- Lowe C.H. y V. J. Vance 1955. Acclimation of critical thermal maximum of the reptil *Urosaurus ornatus*, *Science* 122:73-74.
- Lucas, A. 1996. *Bioenergetics of aquatic animals* Taylor and Francis. London. 169 pp.

- Lutterschmidt, W.I. y Hutchison, V.H. 1997. The critical thermal maximum: History and critique. *Can. J. Zool.* 75: 1561-1574.
- Lutterschmidt, W. I. y Hutchison, V. M. 1997. The critical thermal maximum: Data to support the onset of spasms the definitive end point. *Can. J. Zool.* 75:1553-1560.
- Mangum, C. P. Silverthorn S. V. Harris J. L. Towle D. W. y Krall ., A. R. 1976. The relationship between blood ph, ammonia excretion and adaptation to low salinity in the blue crab *Callinectes sapidus*. *J. Exp. Zool.* 195:129-136.
- Mantel, L.H. y L.L. Farmer. 1983. Osmotic and ionic regulation. In L.H. Mantel, y L.L. Farmer, editors. *The Biology of Crustacea*, vol. 5. New York: Academic Press. pp. 53-161.
- Martinez-Palacios, C. A., Ross L.G. y Valenzuela L. J. 1996 The effect of temperature and body weight on the oxygen consumption of *Penaeus vannamei*, Boone 1931. *J. Aqua. Trop.* 11:59-65.
- Mathur, D., Schutsky, R. M y Purdy, E. 1982. "Temperature preference and avoidance responses of the crayfish *Orconectes obscurus* and associated statistical problems". *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 39, 548-553.
- Medina Romo Z. 2002 Temperatura optima de cultivo y temperatura critica maxima del abulón azul *Haliotis fulgens*. Tesis de Lic. UABC 62.
- McCauley R.W. 1977. Laboratory methods for determining temperatures preferences. *J. Fish Res. Board. Can.* 34: 749-752.
- McCauley, R. W. y Casselman, J.M. 1981. The final preferendum as and Index of optimum growth in fish. *Proceedings of the World. Symposium Aquaculture Heated Effluents . Recirculations Syst.* 11: 81-93
- McFarland, W. N. y B. D. Lee. 1963. Osmotic and ionic concentration of penaeidean shrimps of the Texas coast. *Bull. Mar. Sci. Gulf Carib.* 13: 391-417 .
- McLesse, D.W. 1956. Effects of temperature salinity and oxygen on survival of the American lobster. *J. Fish. Res. Bd. Canada* 13: 247-272.
- Miao, S. y S. Tu. 1995. Modeling thermal effect on growth of chinese shrimp, *Penaeus chinensis* (Osbeck). *Ecol. Modell.* 80: 187-196 .
- Mootz, C. A. y C. E. Epifanio. 1974. An energy budget for *Menippe mercenaria* larvae food *Artemia nauplii*. *Biol. Bull.* 146: 44-55 .
- Mourente, G. y A. Rodríguez. 1997 Effect of salinity and dietary DHA (22:6n-3) content on lipid

- composition and performance of *Penaeus kerathurus* postlarvae. Mar. Biol. 128: 289-298.
- Nelson, D.H. y Hooper, D.K. 1982. Thermal tolerance and preference of the freshwater shrimp *Palaemonetes kadiakensis*. J. Therm. Biol. 7: 183-187.
- Needham, A. E. 1957 Factors affecting nitrogen excretion in *Carcinus maenas* Physiol. Comp. Oecol. 4 209-239.
- Nichelmann, M. 1983. "Some characteristics of the biological optimum temperature". J. Therm. Biol. 39, 115-122.
- Paladino, F.V., Spotila, J.R., Schubauer, J.P. y Kowalski, K.T. 1980. The critical thermal maximum: a technique used to elucidate physiological stress and adaptation in fishes. Rev. Can. Biol. 39: 115-122.
- Panikkar, N. K. 1968. Osmotic behaviour of shrimps and prawns in relation to their biology and culture. FAO Fish. Rep., 57: 527-538 .
- Parado Estepa, F. D., R. P. Ferraris, J. M. Ladjá y E. G. De Jesús. 1987. Responses of intermolt *Penaeus indicus* to large fluctuations in environmental salinity. Aquaculture, 64:175-184 .
- Paul, J. D. 1980. Salinity – Temperature relationships in the green scallop *Chlamys opercularis*. Mar. Biol. 56: 295-300.
- Paul A. J. y Fuji, A. 1989. Bioenergetics the alaskan crab *Chionectes bairdi*. J. Crust. Biol. 9:25-36.
- Péqueux, A. 1995. Osmotic regulation in crustaceans. J. Crust. Biol. 15: 1-60.
- Perez, E., Diaz, F. y Espina, S. 2003. Thermoregulatory behavior and critical thermal limits of the angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces:Cichlidae). J. Therm. Biol. 28:531-537
- Ponce Palafox, J., C. A. Martínez Palacios y L. G. Ross. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juveniles white shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931. Aquaculture. 157:107-115 .
- Pressley, T. A.; Graves, J. S. y Krall, A. R. 1981. Amiloride sensitive ammonium and sodium ion transport in the blue crab. Am. J. Physiol., 241: 370-378.
- Prosser C.L. 1993 Environmental and metabolic animal physiology Ed Prosser (editor) New York 578 .

- Re-Araujo C. G. 2003. Temperatura preferida y crítica máxima con dos niveles de salinidad en el abulón rosa *Haliotis corrugata* Tesis de Lic. UABC 59.
- Re, A. D., Díaz, F., Sierra, E., Aguilar, M. y Valdés, M. V. 1998. Efecto de la salinidad sobre el comportamiento termorregulador en juveniles de *Penaeus stylirostris*, Stimpson. II Simposium Internacional de Acuicultura. Mazatlán, Sinaloa, México.
- Re-Araujo A. D. Y M. de J. Acosta. 2003. Ensayo de diferentes lecitinas en la dieta de juveniles de *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decápoda) Rev. Biol. Trop. 51(3-4) 743-748.
- Re, A. D., Díaz, F., Sierra, E. y Granados A. 2000. Efecto de la salinidad sobre la temperatura preferida y la tolerancia térmica de *Litopenaeus stylirostris*, Stimpson. V Congreso de Ciencias del Mar. Cuba 4-8 de diciembre de 2000.
- Re, A. D., Díaz, F., Sierra, E., y Gomes S. 2004. Consumo de oxígeno, excreción de amonio y capacidad osmorreguladora de *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) expuesto a diferentes combinaciones de temperatura y salinidad. Ciencias Marinas 30(3):443-453.
- Re, A. D., Díaz, F., Sierra y J. Rodríguez .2005 Effect of salinity and temperature on thermal tolerance of brown shrimp *Farfantepenaeus aztecus* (Ives) (Crustacea, Penaeidae). Riv. Ital. Acquacol. (en prensa).
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh-water Crustacea. Biol. Rev., 62: 1-24.
- Reynolds, W.W. 1979. Perspectives and Introduction to the Symposium: Thermoregulation in Ectotherms. Am. Zool. 19: 193-194.
- Reynolds, W. W. y Casterlin, M. E. 1979a. "Behavioral thermoregulation and the "final preferendum" paradigm". Am. Zool. 19, 211-224.
- Reynolds, W. W. y Casterlin, M. E. 1979b. "Behavioral thermoregulation and activity in *Homarus americanus*". Comp. Biochemistry. Physiology 64A: 25-28.
- Reynolds, W. W. y M. E. Casterlin. 1979c. Behavioral thermoregulation in the spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille). Hydrobiologia. 66.2:141-143.
- Reynolds, W. W. y M. E. Casterlin. 1979d. Thermoregulatory behavior of the pink shrimp *Penaeus duorarum* Burkenroad. Hydrobiologia. 67.2:179-182 .
- Rodier, J., 1979. Análisis de las aguas: naturales, aguas residuales y aguas del mar Ed. Omega. Barcelona 138-140 .
- Rodríguez G. A. 1981. Osmoregulation and total serum protein of two species of penaeidean shrimps from the pacific coast of México. J. Crust. Biol. 1 392-400.

- Rosas., C., I. Fernández, R. Brito y F. Díaz-Iglesias. 1993. The effect of eyestalk ablation on the energy balance of the pink shrimp, *Penaeus notialis*. Comp. Biochem. Physiol. 104A. 1:183-187 .
- Rosas, C.; Vanegas, C.; Tavares I. y Ramírez J. 1993 Energy balance of *Callinectes rhathbunae* (Contreras, 1930) In floating cages in a tropical coastal lagoon J. World Aquac. Soc. 24:71-79.
- Rosas, C., G. Cuzon, G. Gaxiola, y. L. Priol, C. Pascual, J. Rossignol, F. Contreras, A Sanchez y A. V. Wormhoudt. 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 259:1-22- 64
- Rosas, C., G. Cuzon, G. Gaxiola, C. Pascual, G. Taboada, L. Arena y A. V. Wormhoudt. 2002. An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 268: 47-67.
- Rosenberry, R. 1994. World shrimp farming 1993. Aquaculture Digest, San Diego, USA. 52.
- Salvato, B., V. Cuomo., P. Di Muro y M. Beltramini. 2001. Effects of environmental parameters on the oxygen consumption of four marine invertebrates: a comparative factorial study. Mar. Biol. 138: 659-668.
- Sasaki G.C.; Capuzzo, J.M. y Biesiot, E. 1986. Nutritional and bioenergetic consideration in the development of american lobster *Homarus americanus*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43:2311-2319.
- Scelzo, M. y Zuñiga, O. 1987. Consumo de oxígeno en el camarón *Penaeus brasiliensis* Latreille (Decápoda: Penaeidae) en relación a la salinidad y la temperatura. Memoria: Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, Contribución No.159. Tomo XLVII (127-128): 201-216.
- Schmidt-Nielsen, K., 1979. Animal Physiology: Adaptation and environment. Cambridge: Cambridge University Press 560.
- Secretaria de Pesca.,1992. Boletín informativo a los productores acuícolas. Fomento de desarrollo pesquero. Dirección General de Acuicultura. Manuscrito no publicado. México, D. F.332
- SEMARNAP, 2002. Anuario estadístico de pesca 2002. Secretaria del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca, México, D. F. 244 .
- Sierra Uribe, E., F. Díaz Herrera y L. F. Bucle Ramírez. 1997. Effect of unilateral eye~ talk ablation on the physiological energetics of *Procambarus clarkii* (Decápoda, Cambaridae). Riv. Ital. Acquac. 32: 105-113.
- Sierra, U. E. y F. Díaz Herrera. 1999. Dynamic bioenergetics of postlarvae and juveniles of *Macrobrachium rosenbergii* caused by unilateral eyestalk ablation. J. Aqua. Trop.14: 113-

119p.

- Spaargaren, D.H., P. Richard y H.J. Ceccaldi, 1982. Excretion of nitrogenous products by *Penaeus japonicus* in relation to environmental osmotic conditions. Comp. Biochem. Physiol 72A: 673-678.
- Spoor, W. 1995. Loss and gain of heat-tolerance by the crayfish. Biol. Bull. 108: 77-87.
- Staples, D. J. y D. S. Heales. 1991. Temperature and salinity optimum for growth and survival of juvenile banana prawns *Penaeus merguensis*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 154: 251-274 .
- Stern, S., Borut, A. y Cohen, D., 1984. The effect of salinity and ion composition on oxygen consumption and nitrogen excretion of *Macrobrachium rosenbergii*. Comp. Biochem. Physiol. 79A. 271-274.
- Stickney, R. R. 1994. Principles of aquaculture. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA. 502 pp.
- Strands, O., Solver, P.T., Andersen, K.K. y Magnesen, T. 1993. Salinity tolerance of juveniles scallops (*Pecten maximus* L.) at low temperature. Aquaculture 115: 169-179.
- Tacon, G.J.A. 1987. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Vol 2 Nutrient Sources and Composition. Argent Laboratories Press.
- Taylor, A. C., 1977. The respiratory responses of *Carcinus maenas* (L.) to changes in environmental salinity. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 29: 197-210.
- Tukey, J.W., 1977. Exploratory Data Analysis. Addison Wesley, Massachusetts, p. 668.
- Valdez-Sánchez G. 2002. Determinación de la preferencia térmica y fisiología energética de juveniles de *Litopenaeus vannamei* aclimatados a diferentes salinidades. Tesis de Maestría. CICESE 68..
- Vanegas, C., Pérez, G., Merino, E. C. Rosas y F. Díaz, 1988. Efecto de las fluctuaciones de la salinidad sobre el consumo de oxígeno de *Callinectes similis* Williams. Rev. Inv. Mar. 9: 67-77.
- Venkataramiah, A., Lakshmi, G.J. y Gunter, G. 1974. Studies on the effects of salinity and temperature on the commercial shrimp, *Penaeus aztecus* Ives, with special regard to survival limits growth, oxygen consumption and ionic regulation. Gulf Coast Research Laboratory, Ocean Springs, Mississippi. 134 .
- Vernberg, W. B. y Vernberg, F. J. 1972. Environmental physiology of marine animals. Springer-Verlag, New York Inc. 346 pp.

- Vernberg , F. J. y S. U. Silverthorn 1979. Temperature and osmoregulation in aquatic species In: R. Gilles, editor. Mechanisms of osmoregulation in Animals New York: Wiley. pp. 537-562.
- Villarreal, H. y Ocampo, L., 1993. Effect to size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis*. Comp. Biochem. Physiol. 106A: 97-101.
- Villarreal, H. y J. A. Rivera. 1993. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. Comp. Biochem. Physiol. 106A: 103-107.
- Villarreal, H., P. Hinojosa y J. Naranjo. 1994. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. Comp. Biochem. Physiol. 108A: 331-336.
- Vondracek, B., Cech, J. y Longanecker, D., 1982. Effect of cycling and constant temperatures on the respiratory metabolism of the tahoe sucker, *Catostomus tahoensis* (Pisces: Catostomidae). Comp. Biochem. Physiol. 73A: 11-14.
- White, R. 1983. Effects of acute temperature change and acclimation temperature on neuromuscular function and lethality in crayfish. Physiol. Zool. 56: 174-194.
- Williams, A. B., 1960. The influence of temperature on osmotic regulation in two species of estuarine shrimps (*Penaeus*). Biol. Bull. 119: 560-571.
- Wyban, J., W. A. Walsh y D. M. Godin. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture. 138: 267-279 p.
- Yagi H., H.J.Ceccaldi, y R. Gaudy 1990. The combined effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of the larvae of the pink shrimp *Palaemon serratus* (Pennant) (Crustacea, Decápoda Palaemonidae) Aquaculture 86: 77-92.
- Yáñez-Arancibia, A. 1986. Ecología de la Zona Costera: Análisis de siete tópicos. AGT Editor, México, 189 pp.
- Zar, J. H. 1999. Biostatistical analysis . 4th. Prentice Hall. N.J. p. 930.
- Zhu, C.; Dong, S.; Wang, F. y Huang, G. 2004. Effect of Na/K ratio in sea water on growth and energy budget on juveniles *Litopenaeus vannamei* . Aquaculture. 234:485-496.
-

VIII. ANEXO

Publicación 1.- Ciencias Marinas (2004), 30(3): 443-453.

Publicación 2.- Journal of Shellfish Research Vol 23 No3. (December, 2004).

Consumo de oxígeno, excreción de amonio y capacidad osmorreguladora de *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) expuesto a diferentes combinaciones de temperatura y salinidad

Oxygen consumption, ammonium excretion and osmoregulatory capacity of *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) exposed to different combinations of temperature and salinity

Ana Denisse Re¹
Fernando Díaz^{1*}
Elizabeth Sierra¹
Silvia Gómez-Jiménez²

¹ Departamento de Biotecnología Marina
Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)
Kilómetro 107 Carretera Tijuana-Ensenada
Ensenada, CP 22860, Baja California, México
* E-mail: fdiaz@cicese.mx.

² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD)
Apartado postal 1735
Hermosillo, CF 83000, Sonora, México

Recibido en enero de 2004; aceptado en abril de 2004

Resumen

Se determinaron las respuestas fisiológicas del camarón azul al exponer a los organismos a temperaturas de 23, 28 y 33°C y a salinidades de 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40‰. El consumo de oxígeno de *Litopenaeus stylirostris* expuesto a las salinidades experimentales se incrementó en relación directa con la temperatura; sin embargo, a 28°C la tasa metabólica se mantuvo constante. La tasa de excreción de amonio en los juveniles aclimatados a 23°C y 33°C se relacionó con el patrón de osmorregulación ya que cuando los camarones hiperregularon ésta se incrementó, y disminuyó cuando hipo-regularon, mientras que en los mantenidos a 28°C la excreción de amonio permaneció constante. La capacidad osmorreguladora de los juveniles mostró que fueron hiporreguladores e hiperreguladores a salinidades por arriba y por debajo del punto isosmótico, disminuyendo esta capacidad en los organismos mantenidos a 33°C y expuestos a las altas salinidades. El punto isosmótico de los camarones tuvo un intervalo de 676.8–700.7 mmol kg⁻¹ (23.7–24.6‰). Los valores de las pendientes entre la concentración osmótica del medio y la hemolinfa de los camarones aclimatados a 23°C, 28°C y 33°C fueron 0.25, 0.17 y 0.37, obteniéndose el menor valor de la pendiente en los juveniles mantenidos a 28°C, condición en la que el camarón azul se caracterizó como fuerte regulador. Para optimizar el cultivo de *L. stylirostris* en condiciones controladas se proponen salinidades de 25‰ y temperaturas de 28°C, las cuales se consideran condiciones óptimas para tales ambientes en los que los organismos están libres de estrés ambiental y, por ende, se incrementará su crecimiento.

Palabras clave: consumo de oxígeno, excreción de amonio, capacidad osmorreguladora, salinidad y temperatura, *Litopenaeus stylirostris*.

Abstract

The physiological responses of the blue shrimp were determined by exposing the organisms to temperatures of 23°C, 28°C and 33°C, and salinities of 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40‰. Oxygen consumption of *Litopenaeus stylirostris* exposed to experimental salinities increased in direct relationship with temperature, even though at 28°C the metabolic rate was steady. The ammonium excretion rate in juvenile shrimp acclimated at 23°C and 33°C was related to the pattern of osmoregulation, increasing when the shrimp were hyper-regulators and decreasing when they were hypo-regulators. The ammonium excretion rate remained constant in shrimp kept at 28°C. The osmoregulatory capacity of the juveniles indicated that they were hypo-regulators and hyper-regulators in salinities above and below the isosmotic point, this capacity decreasing in organisms kept at 33°C and exposed to higher salinities. The isosmotic point obtained ranged from 676.8 to 700.7 mmol kg⁻¹ (23.7–24.6‰). The values of the slopes between the osmotic concentration of the external medium and the hemolymph of shrimp acclimated at 23°C, 28°C and 33°C were 0.25, 0.17 and 0.3, respectively; the lowest value was obtained for juveniles maintained at 28°C, being strong regulators in this condition. To optimize the culture of *L. stylirostris* under controlled conditions, we propose that it be cultivated

in salinities of 25‰ and temperatures of 28°C, considered the optimum conditions because in these environments the organisms are free of stress and their growth therefore increases.

Key words: oxygen consumption, ammonium excretion, osmoregulatory capacity, temperature and salinity, *Litopenaeus stylirostris*.

Introducción

De acuerdo con Castille y Lawrence (1981) y Claybrook (1983), la capacidad adaptativa de los peneidos es específica y está determinada por diversos factores evolutivos que han causado que las especies de camarones se distribuyan diferencialmente en el gradiente marino-lagunar-estuarino. El ciclo de vida de muchas especies de camarones ocurre entre los ambientes marinos y lagunar-estuarinos. Los adultos dependen de la estabilidad del ambiente marino para la reproducción, en tanto que las postlarvas y los juveniles están adaptados para tolerar las variaciones ambientales cíclicas frecuentes en los sistemas lagunares-estuarinos (Zein-Eldin y Aldrich, 1965; Bishop *et al.*, 1980; Castille y Lawrence, 1981).

El camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) se distribuye desde Punta Abreojos, Baja California, en México, hasta Tumbes, Perú. En la porción central y norte del Golfo de California es la segunda especie de mayor abundancia y es la que domina en las lagunas costeras, estuarios y bahías desde el norte de Mazatlán hasta el Río Colorado (Aragón, 2000).

El consumo de oxígeno es una respuesta fisiológica que se puede correlacionar con las variaciones de los factores ambientales, ya que la tasa respiratoria está relacionada con el trabajo metabólico y el flujo de energía que los organismos canalizan hacia los mecanismos del control homeostático (Salvato *et al.*, 2001).

En los decápodos la excreción de amonio-N representa más del 85% de la excreción nitrogenada (Regnault, 1987). La excreción de amonio en los crustáceos es afectada por factores intrínsecos como el tamaño corporal, el estadio del ciclo de muda y por factores extrínsecos como la temperatura, la salinidad y el oxígeno disuelto (Needham, 1957). El efecto de la salinidad y la temperatura sobre la excreción nitrogenada se ha cuantificado en peneidos como *Fenneropenaeus indicus* (Milne Edwards), *Marsupenaeus japonicus* (Bate), *Penaeus monodon* (Fabricius), *F. chinensis* (Osbeck), *Farfantepenaeus aztecus* (Ives) y *Litopenaeus vannamei* (Boone) (Gerhardt, 1980; Chen y Lai, 1993; Chen *et al.*, 1994; Chen y Lin, 1995; Hernández y Díaz, 1995; Jiang *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2001). La función del amonio en los procesos de osmorregulación ha sido estudiado en dos aspectos, como un constituyente de los aminoácidos libres para la regulación osmótica intracelular (Bishop *et al.*, 1980) y como un ión de intercambio para la regulación del Na⁺ en la hemolinfa de los crustáceos (Mangum *et al.*, 1976; Pressley *et al.*, 1981).

La osmorregulación es un mecanismo importante de adaptación ambiental en especies acuáticas, particularmente en los crustáceos (Péqueux, 1995). Se ha demostrado que cuando los camarones juveniles son expuestos a cambios ambientales hay una modificación en el balance iónico y osmótico (Williams,

Introduction

According to Castille and Lawrence (1981) and Claybrook (1983), the adaptation capacity of penaeids is specific and determined by a number of evolutive factors, which have resulted in the differential distribution of shrimp species in the marine-lagoon-estuarine gradient. The life cycle of many shrimp species occurs within marine and lagoon-estuarine environments. Adults depend on the stability of the marine environment to breed, whereas portlarvae and juveniles are adapted to tolerate the cyclical environmental variations that are frequent in lagoon-estuarine systems (Zein-Eldin and Aldrich, 1965; Bishop *et al.*, 1980; Castille and Lawrence, 1981).

The blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson), is distributed from Punta Abreojos, Baja California, Mexico, to Tumbes, Peru. It is the second most abundant species in the central and northern Gulf of California, and is predominant in the coastal lagoons, estuaries and bays from northern Mazatlán to the Colorado River (Aragón, 2000).

Oxygen consumption is a physiological response that can be correlated with variations in environmental factors, since respiration rate is related to the metabolic work and flow of energy that the organisms channel into homeostatic control mechanisms (Salvato *et al.*, 2001).

In decapods, ammonium-N excretion represents more than 85% of nitrogen excretion (Regnault, 1987). Ammonium excretion in crustaceans is affected by intrinsic factors, such as body size and molt cycle stage, and extrinsic factors, such as temperature, salinity and dissolved oxygen (Needham, 1957). The effect of salinity and temperature on nitrogen excretion has been quantified in *Fenneropenaeus indicus* (Milne Edwards), *Marsupenaeus japonicus* (Bate), *Penaeus monodon* (Fabricius), *F. chinensis* (Osbeck), *Farfantepenaeus aztecus* (Ives) and *Litopenaeus vannamei* (Boone) (Gerhardt, 1980; Chen and Lai, 1993; Chen *et al.*, 1994; Chen and Lin, 1995; Hernández and Díaz, 1995; Jiang *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2001). The role of ammonium in osmoregulation processes has been studied from two viewpoints: as a constituent of free amino acids for intracellular osmotic regulation (Bishop *et al.*, 1980) and as an exchange ion for the regulation of Na⁺ in the hemolymph of crustaceans (Mangum *et al.*, 1976; Pressley *et al.*, 1981).

Osmoregulation is an important environmental adaptation mechanism in aquatic species and in particular crustaceans (Péqueux, 1995). When juvenile shrimp are exposed to environmental changes, a modification occurs in the ionic and osmotic balance (Williams, 1960; Castille and Lawrence, 1981; Hernández and Díaz, 1995; Díaz *et al.*, 2001; Lemaire *et al.*, 2002), respiratory activity (Dalla-Via, 1986; Villarreal *et*

1960; Castille y Lawrence, 1981; Hernández y Díaz, 1995; Díaz et al., 2001; Lemaire et al., 2002), la actividad respiratoria (Dalla Via, 1986; Villarreal et al., 1994; Chen y Lin, 1995; Rosas et al., 1999; Rosas et al., 2001; Villarreal et al., 2003), el crecimiento (Bray et al., 1994; Wyban et al., 1995; Ponce-Palafox et al., 1997; Kumlu et al., 2001; Coman et al., 2002) y la excreción de amonio (Chen y Lai, 1993; Chen y Nan, 1993; Chen y Nan, 1994; Jiang et al., 2000; Díaz et al., 2001). Esos estudios han aportado evidencias de que los camarones penaeidos están adaptados a tolerar las fluctuaciones naturales de los factores ambientales. El monitorear la condición fisiológica de los crustáceos mediante la osmorregulación puede tener un uso potencial como biomarcador para evaluar el estado fisiológico de los camarones y, por lo tanto, predecir el efecto del estrés causado por las variaciones de los factores ambientales y los contaminantes, así como para conocer las condiciones óptimas para su cultivo (Lignot et al., 1999, 2000; Brito et al., 2000).

Los estudios ecofisiológicos en el camarón azul son escasos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre el consumo de oxígeno, la excreción de amonio y la capacidad osmorreguladora de juveniles de *Litopenaeus stylirostris* para determinar las condiciones óptimas para su cultivo.

Materiales y métodos

Los juveniles de *L. stylirostris* se obtuvieron de la granja de producción El Camarón Dorado localizada en el estado de Sonora, México. En el laboratorio, 900 camarones con un intervalo de peso húmedo de 0.8–1.0 g fueron colocados en tres estanques de 500 L provistos de aireación constante, con flujo continuo de agua de mar a una salinidad de 35‰. El fotoperíodo se mantuvo en 12/12 h luz-obscuridad con un periodo de transición de 30 minutos. Los juveniles se aclimataron durante 30 días a 20°C, 28°C y 33°C $\pm$ 1, fase en la que los organismos fueron alimentados con alimento proporcionado a 10% de su peso húmedo corporal dos veces al día (10:00 y 18:00 h), con una dieta comercial para camarón con 35% de proteína. Los animales muertos, el alimento remanente y las exuvias fueron extraídos de los estanques diariamente.

Posteriormente se inició la aclimatación de los organismos a salinidades de 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40‰, para lo que se colocaron 20 organismos en recipientes de 20 L realizándose dos repeticiones para cada condición experimental. Las salinidades menores a 35‰ se obtuvieron mediante diluciones con agua de la llave previamente desclorada, salvo la de 40‰ que se obtuvo al adicionar sales sintéticas de mar. La tasa de disminución e incremento de la salinidad fue de 5‰ por día y, una vez alcanzadas las salinidades experimentales, los camarones permanecieron en tales condiciones durante siete días, tiempo suficiente para que estabilizaran su medio interno (Castille y Lawrence, 1981).

El consumo de oxígeno y la excreción de amonio de los organismos fueron medidos en un sistema respirométrico

al., 1994; Chen and Lin, 1995; Rosas et al., 1999; Rosas et al., 2001; Villarreal et al., 2003), growth (Bray et al., 1994; Wyban et al., 1995; Ponce-Palafox et al., 1997; Kumlu et al., 2001; Coman et al., 2002), and ammonium excretion (Chen and Lai, 1993; Chen and Nan, 1993, 1994; Jiang et al., 2000; Díaz et al., 2001). These studies have shown that penaeid shrimp are adapted to tolerate natural environmental fluctuations. Osmoregulation can be used as a potential biomarker to monitor the physiological condition of crustaceans and, hence, predict the effect of stress caused by variations in environmental factors and pollutants, and determine the optimal culture conditions (Lignot et al., 1999, 2000; Brito et al., 2000).

There are few ecophysiological studies on the blue shrimp. This work aims to evaluate the effect of temperature and salinity on oxygen consumption, ammonium excretion and osmoregulatory capacity of *Litopenaeus stylirostris* juveniles to determine the optimum conditions for its cultivation.

Materials and methods

Litopenaeus stylirostris juveniles were obtained from the El Camarón Dorado production farm located in the state of Sonora, Mexico. In the laboratory, 900 shrimp ranging from 0.8 to 1.0 g wet weight were placed in three 500-L tanks with constant aeration and continuous flow of 35‰ salinity seawater. A 12:12 h light:dark photoperiod was maintained, with a 30-min transition period. Juveniles were acclimated at 20°C, 28°C and 33°C $\pm$ 1 for 30 days. During this phase, the organisms were fed a commercial shrimp diet with 35% protein at 10% of their wet body weight, twice a day (10:00 and 18:00 h). The dead animals, leftover food and exuviae were removed daily from the tanks.

Subsequently, the organisms were acclimated at salinities of 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40‰. Twenty organisms were placed in 20-L recipients and two repetitions were made for each experimental condition. Salinities lower than 35‰ were obtained by diluting with previously dechlorinated tapwater and that of 40‰ was obtained by adding synthetic sea salts. The rate of salinity decrease and increase was 5‰ per day and once the experimental salinities had been obtained, the shrimp remained in those conditions for seven days, sufficient time for them to stabilize their internal medium (Castille and Lawrence, 1981).

Oxygen consumption and ammonium excretion were measured in a semi-open respiratory system like the one described by Díaz et al. (1989), consisting of 21 chambers of 250 mL each. Twenty shrimp in intermolt stage were individually introduced into the respiratory chambers 24 h before initiating measurements, which were made between 9:00 and 13:00 h. The molt cycle stage was identified according to the procedure described by Huner and Colvin (1979). Water flow in the chambers remained open for 2 h; before closing, two water samples were taken to measure the initial concentration of dissolved oxygen with a YSI 52 oxymeter (Yellow Springs Instruments Co.), equipped with a polarographic sensor, and

semiabierto como el descrito por Díaz *et al.* (1989) el cual consiste de 21 cámaras de 250 mL cada una. De manera individual 20 camarones en estadio de intermuda fueron introducidos en las cámaras respirométricas 24 h antes de iniciar las mediciones que se realizaron entre las 9:00 y las 13:00 h. El estadio del ciclo de muda fue identificado de acuerdo con el procedimiento descrito por Huner y Colvin (1979). El flujo de agua en las cámaras permaneció abierto durante 2 h, pero antes de cerrarlas se tomaron dos muestras de agua para medir la concentración inicial de oxígeno disuelto con un oxímetro YSI 52 (Yellow Springs Instruments Co.) provisto de un sensor polarográfico, y la concentración inicial de amonio por el método del fenolhipoclorito (Rodier, 1981). Las cámaras permanecieron cerradas durante 1 h, ya que de acuerdo a Stern *et al.* (1984), éste es el tiempo adecuado para que el oxígeno disuelto no disminuya por debajo de 30% y no cause estrés en los organismos. Antes de que el flujo de agua en las cámaras se reestableciera se tomaron dos muestras de agua para medir la concentración final del oxígeno disuelto y el amonio producido. La cámara número 21 fue usada como control para medir el consumo de oxígeno y la producción de amonio por los microorganismos y hacer las correcciones necesarias. Se realizaron dos repeticiones de cada prueba.

Para determinar la presión osmótica en los organismos provenientes de cada condición experimental se extrajo una muestra de hemolinfa de 10 µL con una pipeta automática a través de la membrana toraco-abdominal (previamente secada con papel absorbente). Las osmolaridades de la hemolinfa y del medio fueron medidas con un osmómetro de vapor Wescor 5520 y los datos se expresaron en mmol kg⁻¹.

Inmediatamente al finalizar los experimentos los camarones fueron muertos por inmersión en agua caliente, se secaron en una estufa a 60°C, se colocaron en un desecador durante 2 h y se pesaron en una balanza (Ohaus Explorer) para determinar su peso seco. Los resultados del consumo de oxígeno de los organismos y de la excreción de amonio se expresaron en mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ y mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ de peso seco (p.s.), respectivamente.

El consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada se graficaron en cajas en paralelo (Tukey, 1977). Dentro de las cajas el 50% de los datos se distribuyó alrededor de la mediana y en los intervalos de confianza. El otro 50% se distribuyó en cada barra. Se utilizó un análisis de varianza de dos vías (Sigma Stat) para determinar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre el consumo de oxígeno, la excreción nitrogenada y la osmolaridad de la hemolinfa de *L. stylirostris*. Para describir el efecto de la salinidad y la temperatura sobre la osmolaridad de la hemolinfa se utilizó una regresión lineal (Sigma-Stat). Los valores de los puntos isosmóticos (donde la osmolaridad de la hemolinfa es igual a la osmolaridad del medio) fueron determinados usando la fórmula de Ferraris *et al.* (1986). En los juveniles del camarón azul se calculó la capacidad osmorreguladora como la diferencia entre la osmolaridad de la hemolinfa y la del medio externo (Lignot *et al.*, 2000).

the initial concentration of ammonium by the phenolhypochlorite method (Rodier, 1981). The chambers remained closed for 1 h, because according to Stern *et al.* (1984), during this time dissolved oxygen does not decrease below 30% and does not cause stress to the organisms. Before re-establishing the water flow, two water samples were taken to measure the final concentration of dissolved oxygen and ammonium produced. The 21st chamber was used as control to measure oxygen consumption and ammonium production by the microorganisms and make the necessary corrections. Two repetitions were made of each test.

To determine the osmotic pressure in organisms from each experiment, a 10-µL hemolymph sample was taken with an automatic pipette through the thoraco-abdominal membrane (previously dried with absorbent paper). The osmolarity of the hemolymph and medium were measured with a Wescor 5520 vapor pressure osmometer and the data are given in mmol kg⁻¹.

Immediately following the experiments, the shrimp were put to death by immersion in hot water, dried in an oven at 60°C, placed in a desiccator for 2 h and weighed on an Ohaus Explorer balance to determine dry weight. The results of oxygen consumption and ammonium excretion are given in mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ and mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ dry weight (d.w.), respectively.

Oxygen consumption and ammonium excretion were plotted using parallel boxplots (Tukey, 1977). Within the boxes, 50% of the data were distributed around the median and in the confidence intervals; the other 50% were distributed in each bar. A two-way analysis of variance was used (Sigma Stat) to determine the effect of temperature and salinity on oxygen consumption, ammonium excretion and osmolarity of the hemolymph of *L. stylirostris*. A linear regression (Sigma Stat) was used to describe the effect of salinity and temperature on hemolymph osmolarity. The values of the isosmotic points (where hemolymph osmolarity is equal to environmental osmolarity) were determined using Ferraris *et al.*'s (1986) formula. Osmoregulatory capacity in blue shrimp juveniles was calculated as the difference between osmolarity of the hemolymph and of the external medium (Lignot *et al.*, 2000).

Results

The rate of oxygen consumption in *L. stylirostris* juveniles maintained at 23°C ranged from 9.0 to 9.7 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ d.w. at salinities of 10–25‰ and from 10.5 to 12.0 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ d.w. at salinities of 30–40‰. In organisms acclimated at 28°C, the oxygen consumption rate was from 14.0 to 16.0 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ d.w., while in those acclimated at 33°C, consumption increased 30–40% at salinities of 10–20‰ and decreased at salinities of 25–40‰ (fig. 1). The analysis of variance indicated that temperature had a significant effect ($P < 0.05$) on oxygen consumption in blue shrimp, but that salinity and the interaction between temperature and salinity was not significant ($P > 0.05$).

Resultados

La tasa de consumo de oxígeno en los juveniles de *L. stylirostris* mantenidos a 23°C y aclimatados a salinidades de 10 a 25‰ fue de 9.0 a 9.7 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s., mientras que en los aclimatados de 30 a 40‰ el consumo se incrementó al intervalo de 10.5 a 12.0 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s. En los organismos aclimatados a 28°C la tasa fue de 14.0 a 16.0 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s. y en los expuestos a 33°C el consumo se incrementó del 30% al 40% en las salinidades de 10 a 20‰, y disminuyó en las de 25 a 40‰ (fig. 1). El análisis de varianza indicó que la temperatura ejerció un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre el consumo de oxígeno del camarón azul, la salinidad y la interacción entre temperatura y salinidad no tuvieron efectos significativos ($P > 0.05$).

En el camarón azul *L. stylirostris* aclimatado a 23°C la tasa de excreción de amonio se incrementó a 10‰ de salinidad y disminuyó conforme ésta se aumentó, obteniéndose la tasa de excreción más baja (0.08 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ p.s.) a salinidades de 35 y 40‰. La tasa de excreción de los camarones mantenidos a 28°C se mantuvo constante con un intervalo de 0.21–0.27 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ p.s. En los organismos expuestos a 33°C la excreción de amonio se incrementó significativamente en un 350–380% a salinidades de 10–15‰, respecto a la excreción de organismos aclimatados a 23°C y 28°C. Al incrementarse la salinidad la tasa de excreción disminuyó hasta que, a 40‰ se alcanzó una tasa de 0.20 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ p.s (fig. 2). El análisis de varianza indicó que hubo un efecto significativo de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de excreción de amonio ($P < 0.05$), pero el efecto de la interacción entre la temperatura y la salinidad no fue significativo.

En los juveniles aclimatados a 23°C, 28°C y 33°C la osmolaridad de la hemolinfa se relacionó de manera lineal con respecto a la del medio externo, obteniéndose las siguientes ecuaciones:

$$MI \text{ a } 23^{\circ}\text{C} = 511.26 + (0.245 \times ME), r^2 = 0.93$$

$$MI \text{ a } 28^{\circ}\text{C} = 546.47 + (0.170 \times ME), r^2 = 0.96$$

$$MI \text{ a } 33^{\circ}\text{C} = 444.27 + (0.366 \times ME), r^2 = 0.85$$

donde MI es la osmolaridad de la hemolinfa de los camarones y ME es osmolaridad del medio externo. Cuando la salinidad del medio externo se incrementó de 10 a 20‰ (307–563 mmol kg⁻¹) la concentración de la hemolinfa de los camarones fue hiperosmótica con respecto al medio externo en un intervalo de 590 a 654 mmol kg⁻¹, en las salinidades de 25 a 40‰ (752–1186 mmol kg⁻¹) en los organismos mantenidos en 23°C y 28°C la osmolaridad de la hemolinfa fue hiposmótica (671–801 mmol kg⁻¹) con respecto a la del medio externo. Para los camarones aclimatados a 33°C la concentración osmótica de la hemolinfa en ese intervalo de salinidad tuvo un patrón hipoosmoconformador (fig. 3). El análisis de varianza indicó que la salinidad y la temperatura tuvieron un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre la concentración osmótica de la hemolinfa de los camarones, así como la interacción entre la temperatura y la salinidad tuvieron un efecto significativo.

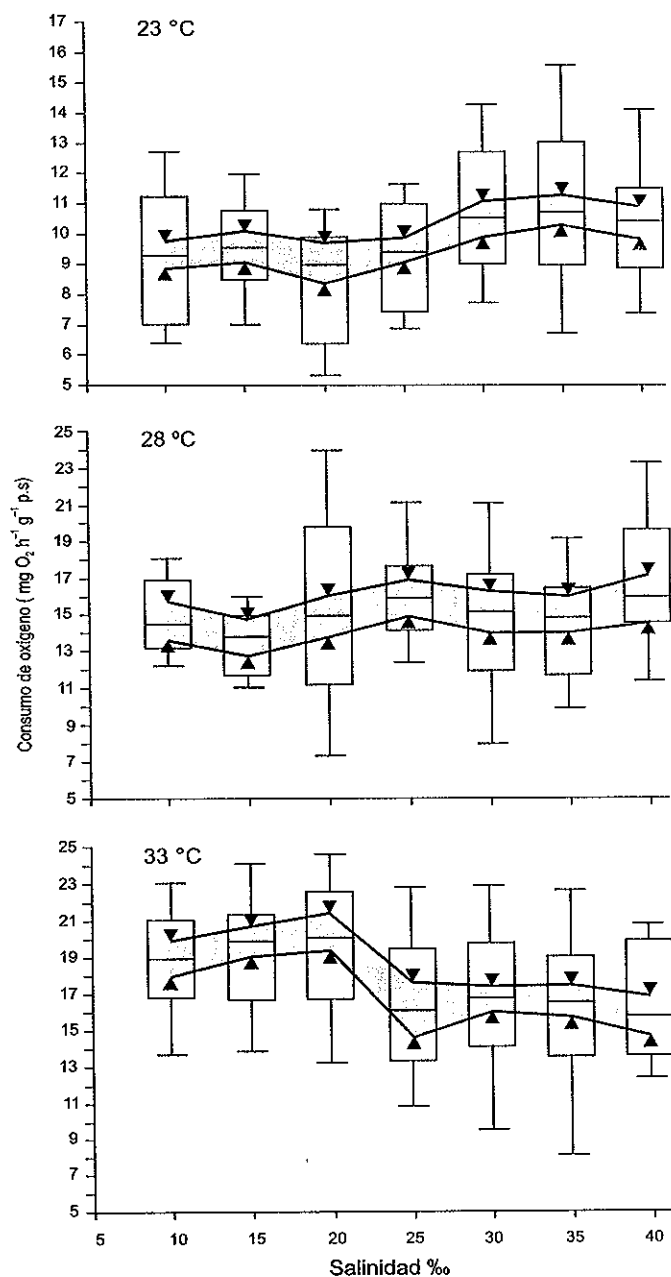


Figura 1. Consumo de oxígeno (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p.s.) en *Litopenaeus stylirostris* aclimatados a 23°C, 28°C y 33°C y expuestos a diferentes salinidades. La zona sombreada limitada por los triángulos representa el intervalo de confianza de la mediana al 95%. En las barras se encuentra distribuido el 50% de los datos y las líneas representan los cuartiles.

Figure 1. Oxygen consumption (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ d.w.) in *Litopenaeus stylirostris* acclimated at 23°C, 28°C and 33°C, and exposed to different salinities. The shaded area limited by triangles represents the 95% confidence interval of the median; 50% of the data are distributed in the clear bars and the lines represent the quartiles.

In *L. stylirostris* acclimated at 23°C, the rate of ammonium excretion increased at 10‰ and decreased as salinity increased, with the lowest value of 0.08 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ d.w. at 35–40‰. The rate of excretion in blue shrimp maintained at 28°C

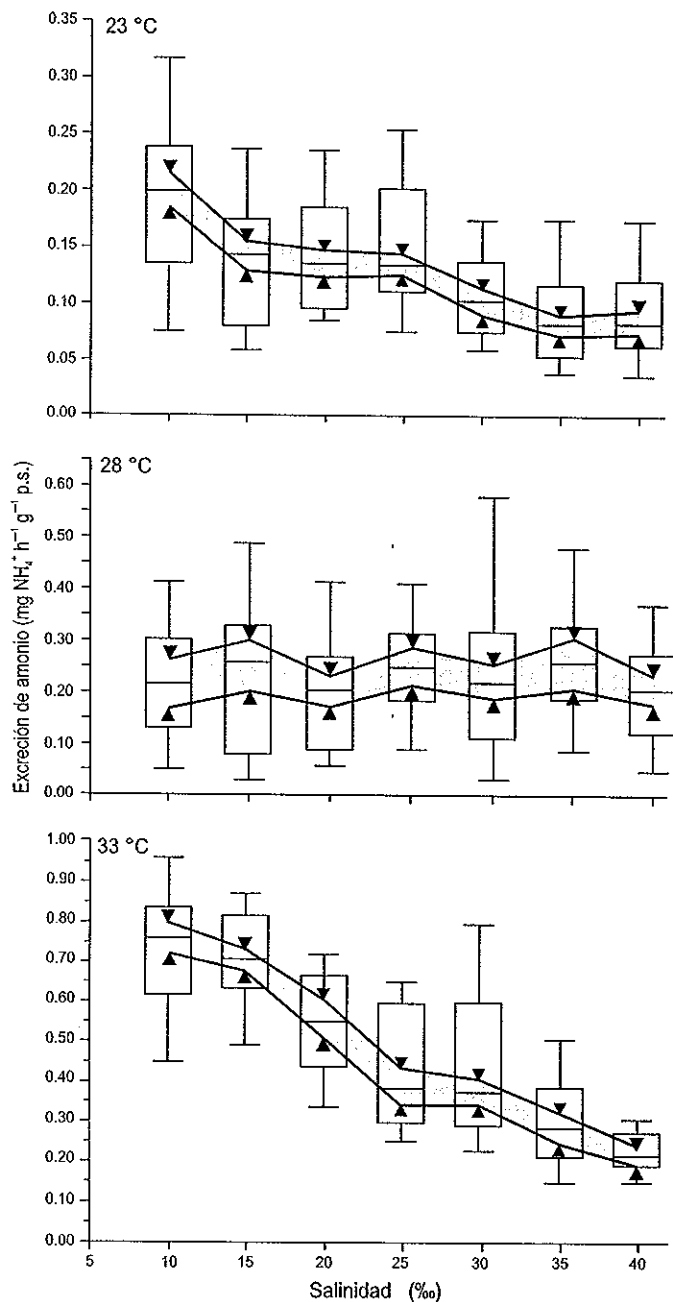


Figura 2. Excreción de amonio (mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ p.s.) en *Litopenaeus stylirostris* aclimatados a 23°C, 28°C y 33°C y expuesto a diferentes salinidades. La zona sombreada limitada por los triángulos representa el intervalo de confianza de la mediana al 95%. En las barras se encuentra distribuido el 50% de los datos y las líneas representan los cuartiles.

Figure 2. Ammonium excretion (mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ d.w.) in *Litopenaeus stylirostris* acclimated at 23°C, 28°C and 33°C, and exposed to different salinities. The shaded area limited by triangles represents the 95% confidence interval of the median; 50% of the data are distributed in the clear bars and the lines represent the quartiles.

Los puntos isosmóticos obtenidos en los camarones expuestos a las diferentes salinidades tuvieron un intervalo de 676.8–700.7 mmol kg⁻¹ (23.7–24.6‰). La temperatura de aclimatación no afectó significativamente ($P > 0.01$) los

remained constant, ranging from 0.21 to 0.27 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ d.w. In organisms exposed to 33°C, ammonium excretion increased significantly by 350–380% at salinities of 10–15‰ relative to that obtained for organisms acclimated at 23°C and 28°C; the rate of excretion decreased as salinity increased until a rate of 0.20 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ d.w. was obtained at 40‰ (fig. 2). The analysis of variance indicated a significant effect of temperature and salinity on the rate of ammonium excretion ($P < 0.05$), but the effect of the interaction between temperature and salinity was not significant.

In juveniles acclimated at 23°C, 28°C and 33°C, the osmolarity of the hemolymph was linearly related to that of the external medium. The following equations were obtained:

$$\text{MI at 23°C} = 511.26 + (0.245 \times \text{ME}), r^2 = 0.93$$

$$\text{MI at 28°C} = 546.47 + (0.170 \times \text{ME}), r^2 = 0.96$$

$$\text{MI at 33°C} = 444.27 + (0.366 \times \text{ME}), r^2 = 0.85$$

where MI is the osmolarity of the shrimp hemolymph and ME the osmolarity of the external medium. When salinity of the external medium increased from 10 to 20‰ (307–563 mmol kg⁻¹) the concentration of the hemolymph was hyperosmotic relative to the external medium, ranging from 590 to 654 mmol kg⁻¹. At salinities of 25–40‰ (752–1186 mmol kg⁻¹) the osmolarity of the hemolymph in organisms maintained at 23°C and 28°C was hypo-osmotic (671–801 mmol kg⁻¹) relative to the external medium. For shrimp acclimated at 33°C, the osmotic concentration of the hemolymph in that salinity range had a hypo-osmoconformer pattern (fig. 3). The analysis of variance indicated that salinity and temperature had a significant effect ($P < 0.05$) on the osmotic concentration of the hemolymph, and that the interaction between temperature and salinity also had a significant effect.

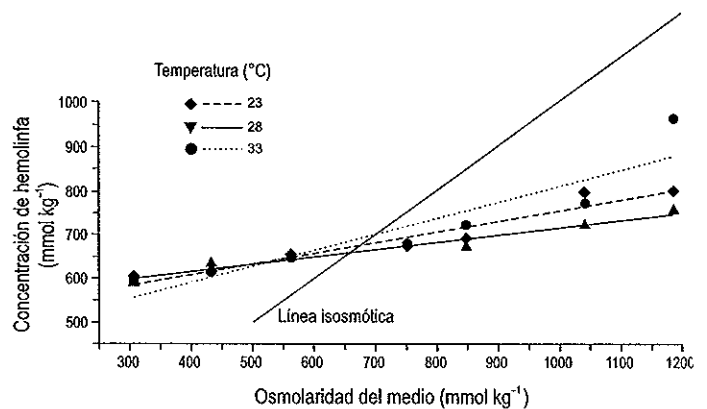


Figura 3. Relación entre la osmolaridad de la hemolinfa y la osmolaridad del medio de *Litopenaeus stylirostris* expuesto a diferentes combinaciones de temperatura y salinidad.

Figure 3. Relation between osmolarity of the hemolymph and osmolarity of the external medium of *Litopenaeus stylirostris* exposed to different combinations of temperature and salinity.

valores de los puntos isosmóticos de los organismos expuestos a las diferentes salinidades.

En los juveniles del camarón azul la capacidad osmorreguladora fue modificada significativamente por la salinidad ($P < 0.05$) de hiper a hiposmótica, ya que en las salinidades de 10–20‰ tuvo un intervalo de 306 a 10, en tanto que en las salinidades de 25–40‰ fue de –22 a –459 (fig. 4). La temperatura afectó de manera significativa ($P < 0.05$) la capacidad osmorreguladora de los organismos particularmente en los aclimatados a 33°C.

Discusión

La tasa respiratoria de los crustáceos es modificada por factores externos como la salinidad, la intensidad luminosa, el oxígeno disuelto y la temperatura (Kutty *et al.*, 1971; Bishop *et al.*, 1980; Dalla-Vía, 1986; Kurmaly *et al.*, 1989; Martínez-Palacios *et al.*, 1996). En los juveniles de *L. stylirostris* se obtuvo una relación directa entre la tasa de consumo de oxígeno y la temperatura. Esta misma respuesta fue obtenida por Kutty *et al.* (1971) en *Penaeus indicus*, en *P. monodon* por Kurmaly *et al.* (1989), por Chen y Lai (1993) en *P. japonicus*, por Villarreal y Ocampo (1993) en *P. californiensis* (Holmes) y por Martínez-Palacios *et al.* (1996) en *P. vannamei*. Los camarones que se mantuvieron a 28°C tuvieron una tasa metabólica constante en todo el intervalo de salinidades utilizadas. Venkataramiah *et al.* (1974) han enfatizado que la respiración no puede ser considerada como un buen índice de la tolerancia a la salinidad salvo en casos donde la temperatura experimental corresponda a las características naturales del hábitat de los organismos. La temperatura preferida por el camarón azul, determinada por Re *et al.* (2000), es de 28°C y además está dentro del intervalo medio de temperatura de su ambiente natural, de modo que la respiración puede ser indicativa de tolerancia a la salinidad.

El consumo de oxígeno del camarón azul no se vio afectado por la salinidad. Se ha demostrado para otros decápodos eurihalinos que la salinidad no tiene un efecto pronunciado sobre el consumo de oxígeno si los organismos experimentales son aclimatados a las salinidades de prueba y si éstas no son extremas (Bishop *et al.*, 1980; Gaudy y Sloane, 1981; Díaz-Herrera *et al.*, 1992; Villarreal y Rivera, 1993; Salvato *et al.*, 2001). En los juveniles de *L. stylirostris* el tiempo de aclimatación a cada condición de salinidad fue el suficiente para estabilizar su medio interno (Castille y Lawrence, 1981). Asimismo, el intervalo de salinidades utilizado corresponde a las fluctuaciones naturales a las que la especie está expuesta (Aragón, 2000).

Kinne (1967) describió cuatro tipos de respuesta metabólica en organismos acuáticos que han sido aclimatados a una nueva salinidad: (1) La tasa de consumo de oxígeno no es influenciada por los cambios de salinidad; (2) la tasa metabólica de los organismos se incrementa en salinidades reducidas y disminuye en salinidades altas; (3) la tasa metabólica se incrementa tanto en bajas como en altas salinidades; y (4) la tasa de consumo de oxígeno disminuye tanto en bajas como en altas

The isosmotic points obtained for blue shrimp exposed to different salinities ranged from 676.8 to 700.7 mmol kg⁻¹ (23.7–24.6‰). Acclimation temperature did not significantly affect ($P > 0.01$) the values of the isosmotic points of the organisms exposed to different salinities.

In shrimp juveniles the osmoregulatory capacity was significantly modified by salinity ($P < 0.05$) from hyper- to hypo-osmotic, with a range of 306 to 10 at salinities of 10–20‰ and of –22 to –459 at salinities of 25–40‰ (fig. 4). Temperature had a significant affect ($P < 0.05$) on the osmoregulatory capacity of the organisms, particularly those exposed to 33°C.

Discussion

The respiratory rate of crustaceans is modified by external factors such as salinity, light intensity, dissolved oxygen and temperature (Kutty *et al.*, 1971; Bishop *et al.*, 1980; Dalla-Vía, 1986; Kurmaly *et al.*, 1989; Martínez-Palacios *et al.*, 1996). In *L. stylirostris* juveniles a direct relationship was obtained between the rate of oxygen consumption and temperature. This same response was obtained by Kutty *et al.* (1971) for *Penaeus indicus*, by Kurmaly *et al.* (1989) for *P. monodon*, by Chen and Lai (1993) for *P. japonicus*, by Villarreal and Ocampo (1993) for *P. californiensis* (Holmes) and by Martínez-Palacios *et al.* (1996) for *P. vannamei*. Shrimp kept at 28°C had a steady metabolic rate throughout the range of salinities used. Venkataramiah *et al.* (1974) have stressed that respiration cannot be considered a good index of salinity tolerance except in cases where experimental temperature corresponds to natural characteristics of the organisms' habitat. For the blue shrimp, the preferred temperature determined by Re *et al.* (2000) is 28°C, which is also within the mean temperature range of its natural environment; hence, respiration can be indicative of salinity tolerance.

Oxygen consumption of blue shrimp was not affected by salinity. In other euryhaline decapods salinity was not found to significantly affect oxygen consumption if the experimental organisms were acclimated to the test salinities and if these were not extreme (Bishop *et al.*, 1980; Gaudy and Sloane, 1981; Díaz-Herrera *et al.*, 1992; Villarreal and Rivera, 1993; Salvato *et al.*, 2001). For *L. stylirostris* juveniles, the time of acclimation to each salinity condition was sufficient for them to stabilize their internal medium (Castille and Lawrence, 1981); moreover, the range of salinities used corresponds to the natural fluctuations to which the species is exposed (Aragón, 2000).

Kinne (1967) described four types of metabolic response in aquatic organisms exposed to a new salinity: (1) the rate of oxygen consumption is not influenced by changes in salinity, (2) the metabolic rate of the organisms increases in reduced salinities and decreases in high salinities, (3) the metabolic rate increases in both low and high salinities, and (4) the rate of oxygen consumption decreases in both low and high salinities. The blue shrimp exhibited type 1 response because oxygen consumption was not significantly modified in those organisms

salinidades. El camarón azul exhibió la respuesta tipo 1, ya que el consumo de oxígeno no se modificó significativamente en los organismos mantenidos en 28°C, al ser expuestos a las diferentes salinidades. En los organismos aclimatados a 23°C y 33°C se obtuvo una tendencia no significativa a incrementar su metabolismo en altas y bajas salinidades.

La tasa de excreción nitrogenada cuantificada en *L. stylirostris* se incrementó al exponerlo a las diferentes temperaturas de aclimatación, respuesta que ha sido descrita en otros crustáceos (Spaargaren *et al.*, 1982; Chen y Lai, 1993; Jiang *et al.*, 2000).

En peneidos como *P. japonicus*, *F. chinensis*, *P. monodon*, *F. aztecus* y *L. vannamei*, se ha reportado un incremento de la excreción nitrogenada cuando se disminuye la salinidad (Spaargaren *et al.*, 1982; Chen y Lin, 1992; Chen y Lai, 1993; Chen *et al.*, 1994; Hernández y Díaz 1995; Jiang *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2001). En este estudio la tasa de excreción de amonio en los camarones aclimatados a 23°C y 33°C se incrementó cuando la salinidad se disminuyó de 40 a 10‰. Esta respuesta posiblemente está relacionada con un incremento en el catabolismo de los aminoácidos ya que, de acuerdo con Chen (1998), los camarones, en bajas salinidades, utilizan proteínas como fuente primaria para la obtención de energía.

En los juveniles de camarón azul expuestos a las diferentes salinidades la tasa de excreción de amonio se relacionó con los procesos de osmorregulación, ya que la excreción se incrementó cuando los camarones fueron hiper-reguladores y disminuyó cuando hipo-regularon. Mangum *et al.* (1976) y Pressley *et al.* (1981) demostraron que, después de la transferencia de los organismos a medios diluidos, hay un incremento en la captación activa de Na⁺, lo que fue relacionado con un incremento en la excreción de amonio. La absorción de sodio es requerida para compensar su pérdida debido a la operación de la bomba de intercambio Na⁺/NH₄⁺. Estos mecanismos fueron utilizados por los camarones para balancear la concentración osmótica de la hemolinfa al ser expuestos a medios hiperosmóticos.

El patrón de osmorregulación de los juveniles del camarón azul *L. stylirostris* obtenido fue el típico de muchos crustáceos que habitan en sistemas lagunares estuarinos, fueron hiporreguladores e hiperreguladores en salinidades por arriba y por debajo del punto isosmótico respectivamente (Vernberg y Vernberg, 1972; Mantel y Farmer, 1983).

Los puntos isosmóticos para los juveniles del camarón azul aclimatados a las tres temperaturas tuvieron un intervalo de 676.8–700.7 mmol kg⁻¹ (23.7–24.6‰). Estos valores están dentro del intervalo de puntos isosmóticos reportados para diferentes especies de peneidos (Díaz *et al.*, 2001), y son mayores que los reportados por Rodríguez (1981) y Castille y Lawrence (1981) de 610 y 680 mmol kg⁻¹, respectivamente, y menores al reportado por Lemaire *et al.* (2002), de 735 mmol kg⁻¹ para el camarón azul. Las diferencias se pueden atribuir a las diferentes condiciones experimentales utilizadas en estos estudios, ya que se conoce que factores como el estadio del ciclo de muda, el tamaño de los organismos y el estado

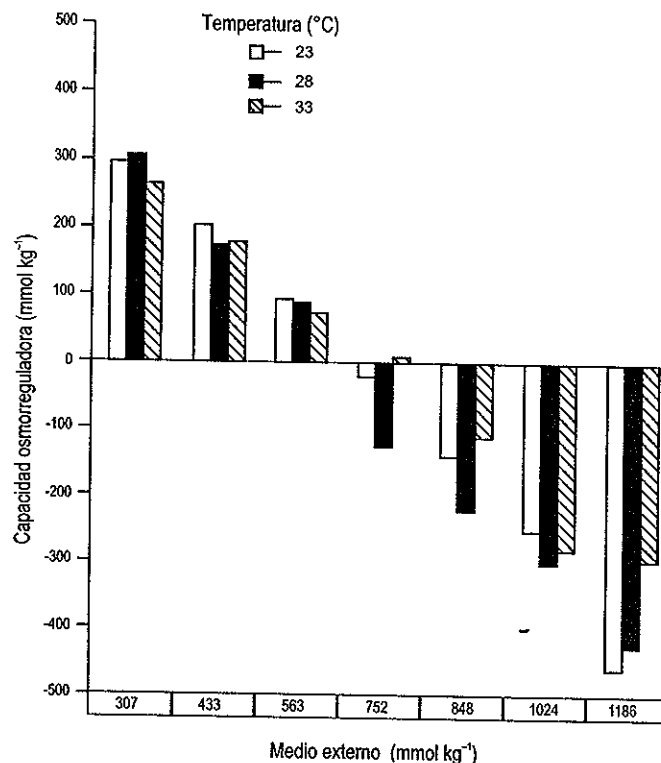


Figura 4. Capacidad osmorreguladora del camarón azul *Litopenaeus stylirostris* aclimatado a 23°C, 28°C y 33°C y a diferentes salinidades.

Figure 4. Osmoregulatory capacity of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* acclimated at 23°C, 28°C and 33°C and at different salinities.

kept at 28°C and exposed to different salinities; a non-significant trend was obtained for those organisms acclimated at 23°C and 33°C, their metabolism increasing in high and low salinities.

The ammonium excretion rate quantified in *L. stylirostris* increased on exposure to different acclimation temperatures. This response has been described for other crustaceans (Spaargaren *et al.*, 1982; Chen and Lai, 1993; Jiang *et al.*, 2000).

Nitrogenated excretion has been found to increase in *P. japonicus*, *F. chinensis*, *P. monodon*, *F. aztecus* and *L. vannamei* when salinity decreases (Spaargaren *et al.*, 1982; Chen and Lin, 1992; Chen and Lai, 1993; Chen *et al.*, 1994; Hernández and Díaz 1995; Jiang *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2001). In this study, the rate of ammonium excretion in shrimp acclimated at 23°C and 33°C increased when salinity decreased from 40 to 10‰; this response may be related to an increase in the catabolism of the amino acids because, according to Chen (1998), shrimp at low salinities use proteins as the main source of energy.

In blue shrimp juveniles exposed to different salinities the rate of ammonium excretion was associated with osmoregulatory processes, since excretion increased when the shrimp were hyper-regulators and decreased when they were hypo-regulators. Mangum *et al.* (1976) and Pressley *et al.* (1981)

nutricional tiene una influencia sobre la osmolaridad de la hemolinfa.

Los valores de las pendientes de la relación entre la concentración osmótica del medio y de la hemolinfa de los juveniles del camarón azul aclimatados a 23°C, 28°C y 33°C y expuestos a las diferentes salinidades fueron 0.25, 0.17 y 0.37, respectivamente. Una desviación de la pendiente de la línea isosmótica refleja el grado de la capacidad de regulación (pendiente = 0 osmorregulador, pendiente = 1 osmoconformador). Organismos con pendientes altas, como los mantenidos a 23°C y 33°C, tuvieron una regulación hiperosmótica débil. El valor de la pendiente para los organismos mantenidos a 28°C reflejó que, en tal condición, los camarones pueden caracterizarse como fuertes reguladores.

Se recomienda que para optimizar el cultivo del camarón azul en condiciones controladas, éste se haga a temperaturas alrededor de 28°C y, dado que la salinidad no ha sido determinada experimentalmente, nosotros proponemos que 25‰ se considere como la óptima para esta especie, ya que esta salinidad corresponde con el punto isosmótico determinado para el camarón azul que, de acuerdo con Pannikar (1968), en estas condiciones los camarones gastarán menos energía en el mantenimiento del gradiente osmótico y, por lo tanto, el crecimiento de los organismos se incrementará al estar en un ambiente libre de estrés ambiental.

Agradecimientos

Agradecemos a la granja de producción El Camarón Dorado, ubicada en Sonora, México, la donación de los ejemplares utilizados en esta investigación; a SIMAC-CONACYT el apoyo económico dado a los proyectos 980111106004 y 200017509; y a José M. Domínguez y Francisco Javier Ponce, del Departamento de Dibujo de CICESE, la elaboración del material gráfico.

Referencias

- Aragón, N.E.A. (2000). Ecología del reclutamiento del camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1871) en el alto Golfo de California. Tesis doctoral, CICESE, Ensenada, Baja California, México, 117 pp.
- Bishop, J.M., Gosselink, J.G. and Stone, J.H. (1980). Oxygen consumption and hemolymph osmolarity of brown shrimp *Penaeus aztecus*. Fish. Bull., 78: 741–757.
- Bray, W.A., Lawrence, A.L. and Leung-Trujillo, J.R. (1994). The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHHN virus and salinity. Aquaculture, 122: 133–146.
- Brito, R., Chimal, M.E. and Rosas, C. (2000). Effect of salinity in survival, growth and osmotic capacity in early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Decapoda: Penaeidae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 244: 252–263.
- Castille, F.L. Jr. and Lawrence, A.L. (1981). The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. Comp. Biochem. Physiol., 68A: 75–80.

have reported an increase in the active capture of Na⁺ following the transfer of organisms to diluted media, and this was related to an increase in ammonium excretion. The absorption of sodium is necessary to compensate its loss due to the operation of the Na⁺/NH₄⁺ exchange pump. These mechanisms were used by shrimp to balance the osmotic concentration of the hemolymph when exposed to hyper-osmotic media.

The osmoregulatory pattern of *L. stylirostris* juveniles obtained was typical of many crustaceans that inhabit lagoon-estuarine systems: they were hypo-regulators and hyper-regulators in salinities above and below the isosmotic point, respectively (Vernberg and Vernberg, 1972; Mantel and Farmer, 1983).

The isosmotic points for blue shrimp juveniles acclimated at three temperatures ranged from 676.8 to 700.7 mmol kg⁻¹ (23.7–24.6‰). These values are within the range of isosmotic points reported for different penaeid species (Díaz et al., 2001). They are higher than those reported by Rodríguez (1981) and Castille and Lawrence (1981) of 610 and 680 mmol kg⁻¹, respectively, and lower than those reported by Lemaire et al. (2002) of 735 mmol kg⁻¹ for blue shrimp. The differences can be attributed to the different experimental conditions used in these studies, considering that factors such as the molt cycle stage, organism size and nutritional state influence the osmolality of the hemolymph.

The slope values of the relation between the osmotic concentration of the external medium and the hemolymph of blue shrimp juveniles acclimated at 23°C, 28°C and 33°C and exposed to different salinities were 0.25, 0.17 and 0.37, respectively. A deviation of the slope of the isosmotic line reflects the degree of regulatory capacity (slope = 0, osmoregulator; slope = 1, osmoconformer); organisms with high slopes like those maintained at 23°C and 33°C had a weak hyperosmotic regulation. The value of the slope for organisms kept at 28°C indicated that shrimp can be characterized as strong regulators in this condition.

To optimize the culture of blue shrimp under controlled conditions, we recommend that temperatures of around 28°C be used. Also, as salinity has not been experimentally determined, we suggest that 25‰ be considered optimum for this species because it corresponds to the isosmotic point determined for blue shrimp and, according to Pannikar (1968), in this condition shrimp expend less energy on maintaining the osmotic gradient and, therefore, growth will increase since the organisms will be in a stress-free environment.

Acknowledgements

We thank the El Camarón Dorado farm in Sonora, México, for donating the specimens used in this research; SIMAC-CONACYT for financial support of projects 980111106004 and 200017509; and José M. Domínguez and Francisco Javier Ponce (Graphics Department, CICESE) for preparing the figures.

English translation by Christine Harris.

- Chen, H.Y. (1998). Nutritional requirements of the black tiger shrimp: *Penaeus monodon*. Rev. Fish. Sci., 6: 79–80.
- Chen, J.C. and Lin, C.Y. (1992). Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* juveniles exposed to ambient ammonia at different salinity levels. Comp. Biochem. Physiol., 102C: 287–291.
- Chen, J.C. and Lai, S.H. (1993). Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 165: 161–170.
- Chen, J.C. and Nan, F.H. (1993). Changes of oxygen consumption and ammonia-N excretion by *Penaeus chinensis* Osbeck at different temperature and salinity levels. J. Crust. Biol., 13: 706–712.
- Chen, J.C. and Lin, C.Y. (1995). Responses of oxygen consumption, ammonia-N excretion and urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels. Aquaculture, 136: 243–255.
- Chen, J.C. and Nan, F.H. (1994). Comparisons of oxygen consumption and ammonia-N excretion of five penaeids. J. Crust. Biol., 14: 289–294.
- Chen, J.C., Chen, C.T. and Cheng, S.Y. (1994). Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid level in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed at different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. Mar. Ecol. Prog. Ser., 110: 85–94.
- Claybrook, D.L. (1983). Nitrogen metabolism. In: L.H. Mantel (ed.), The Biology of Crustacea: Internal Anatomy and Physiology Regulation. Vol. 5. Academic Press, New York, pp. 163–213.
- Coman, G.J., Crocos, P.J., Preston, N.P. and Fielder, D. (2002). The effects of temperature on the growth, survival and biomass of different families of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. Aquaculture, 214: 185–199.
- Dalla-Via, G.J. (1986). Salinity responses of the juvenile penaeid shrimp *Penaeus japonicus*. I. Oxygen consumption and estimations of productivity. Aquaculture, 55: 297–306.
- Díaz, F., Espina, S., Rosas, C., Sánchez, A., Vanegas, C. y Díaz-Iglesias, E. (1989). Ritmo respiratorio y amplitud metabólica del camarón café *Penaeus aztecus* con ablación de los pedúnculos oculares. Rev. Invest. Mar., X: 27–39.
- Díaz-Herrera, F., Pérez-Cruz, E., Luna-Figueroa, J., Tapia-Gamas, A. and Rosas-Vázquez, C. (1992). Oxygen consumption, ammonia excretion and osmoregulation of *Callinectes similis* juveniles (Crustacea: Portunidae) exposed to fluctuating salinities. Cienc. Mar., 18: 93–104.
- Díaz, F., Farfán, C., Sierra, E. and Re, A.D. (2001). Effects of temperature and salinity fluctuation on the ammonium excretion and osmoregulation of juveniles of *Penaeus vannamei*, Boone. Mar. Freshwat. Behav. Physiol., 34: 93–104.
- Ferraris, R.P., Parado-Estapa, F.E., Ladja, J.M. and De Jesús, E.G. (1986). Effect of salinity on the osmotic, chloride total protein and calcium concentrations in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). Comp. Biochem. Physiol., 83A: 701–708.
- Gaudy, R. and Sloane, L. (1981). Effect of salinity on oxygen consumption in postlarvae of the penaeid shrimps *Penaeus monodon* and *P. stylirostris* without and with acclimation. Mar. Biol., 65: 297–301.
- Gerhardt, H.V. (1980). Nitrogen excretion by juvenile prawn *Penaeus indicus* Milne Edwards at various temperatures. S. Afr. J. Sci., 76: 39–40.
- Hernández, R.M. y Díaz, H.F. (1995). Interacción de la temperatura y la salinidad sobre la excreción de amonio y osmorregulación en *Penaeus aztecus* (Crustacea, Penaeidae). Caribb. J. Sci., 31: 284–288.
- Huner, J.V. and Colvin, L.B. (1979). Observation of the molt cycles of two species of juvenile shrimp *Penaeus californiensis* and *Penaeus stylirostris* (Decapoda: Crustacea). Proc. Nat. Shell. Assoc., 69: 77–84.
- Jiang, D.H., Lawrence, A.L., Neill, W.H. and Gong, H. (2000). Effects of temperature and salinity on nitrogen excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 253: 193–209.
- Kinne, O. (1967). Physiology of estuarine organisms with special reference to salinity and temperature. In: G.H. Lauff (ed.), Estuaries. AAAS Publ. No. 53, Washington, DC, pp. 525–540.
- Kumlu, M., Eroldogan, O.T., Aktas, M. and Saşlantimur, B. (2001). Larval growth, survival and development of *Metapenaeus monodon* (Fabricius) cultured in different salinities. Aquacult. Res., 32: 81–86.
- Kurmaly, K., Yule, A. and Jones, D.A. (1989). Effects of body size and temperatures on the metabolic rate of *Penaeus monodon*. Mar. Biol., 103: 25–30.
- Kutty, M.N., Murugapoopathy, G. and Krishnan, T.S. (1971). Influence of salinity and temperature on oxygen consumption in young juveniles of the Indian prawn *Penaeus indicus*. Mar. Biol., 11: 125–131.
- Lemaire, P., Bernard, E., Martinez-Paz, J.A. and Chim, L. (2002). Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Penaeus stylirostris*. Aquaculture, 209: 307–317.
- Lignot, J.H., Cochrad, J.C., Soye, C., Lemaire, P. and Charmantier, G. (1999). Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. Aquaculture, 170: 79–92.
- Lignot, J.H., Spaniengs-Pierrot, C. and Charmantier, G. (2000). Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. Aquaculture, 191: 209–245.
- Mangum, C.P., Silverthorn, S.V., Harris, J.L., Towle, D.W. and Krall, A.R. (1976). The relationship between blood pH, ammonia excretion and adaptation to low salinity in the blue crab *Callinectes sapidus*. J. Exp. Zool., 195: 129–136.
- Mantel, L.H. and Farmer, L.L. (1983) Osmotic and Ionic Regulation. The Biology of Crustacea. Vol. 5. Academic Press, New York, pp. 53–161.
- Martínez-Palacios, C.A., Ross, G.L. and Jiménez, V.L. (1996). The effect of temperature and body weight on the oxygen consumption of *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. J. Aquacult. Trop., 11: 59–65.
- Needham, A.E. (1957). Factors affecting nitrogen excretion in *Carcinus maenas*. Physiol. Comp. Oecol., 4: 209–239.
- Pannikar, N.K. (1968). Osmotic behaviour of shrimps and prawns in relation to their biology and culture. FAO Fish. Rep., 57: 527–538.
- Péqueux, A. (1995). Osmotic regulation in crustaceans. J. Crust. Biol., 15: 1–60.
- Ponce-Palafox, J., Martínez-Palacios, C.A. and Ross, G.L. (1997). The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp *Penaeus vannamei* Boone, 1931. Aquaculture, 157: 107–115.
- Pressley, T.A., Graves, J.S. and Krall, A.R. (1981). Amiloride sensitive ammonium and sodium ion transport in the blue crab. Am. J. Physiol., 241: 370–378.
- Re, A.D., Díaz, F., Sierra, E., Aguilar, M. y Granados, A. (2000). Efecto de la salinidad sobre la temperatura preferida y la tolerancia térmica de *Litopenaeus stylirostris*. Stimpson. 5to Congreso de Ciencias del Mar, Marcuba 2000. Resumen. 36 pp.
- Regnault, M. (1987). Nitrogen excretion in marine and freshwater crustacea. Biol. Rev., 62: 1–24.
- Rodier, J. (1981). Análisis de las aguas: Aguas naturales, aguas residuales y agua de mar. Omega, Barcelona, pp. 134–138.
- Rodríguez, G.A. (1981). Osmoregulation and total serum proteins of two species of penaeidean shrimps from the Pacific coast of

- two species of penaeidean shrimps from the Pacific coast of Mexico. J. Crust. Biol., 1: 392-400.
- Rosas, C., Ocampo, L., Gaxiola, G., Sánchez, A. and Soto, L.A. (1999). Effect of salinity on survival, growth and oxygen consumption of postlarvae (PL10-PL21) of *Litopenaeus setiferus*. J. Crust. Biol., 19: 244-251.
- Rosas, C., López, N., Mercado, P. and Martínez, E. (2001). Effect of salinity acclimation on oxygen consumption of juvenile of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. J. Crust. Biol., 21: 912-922.
- Salvato, B., Cuomo, V., Di Muro, P. and Beltramini, M. (2001). Effects of environmental parameters on the oxygen consumption of four marine invertebrates: A comparative factorial study. Mar. Biol., 138: 659-668.
- Spaargaren, D.H., Richard, P. and Ceccaldi, H.J. (1982). Excretion of nitrogenous products by *Penaeus japonicus* in relation to environmental osmotic conditions. Comp. Biochem. Physiol., 72A: 673-678.
- Stern, S., Borut, A. and Cohen, D. (1984). The effect of salinity and ion composition on oxygen consumption and nitrogen excretion of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). Comp. Biochem. Physiol., 79A: 271-274.
- Tukey, J.W. (1977). Exploratory Data Analysis. Adisson-Wesley, Massachussets, 688 pp.
- Venkataramiah, A., Lakshmi, G.J. and Gunter, G. (1974). Studies on the effects of salinity and temperature on the commercial shrimp, *Penaeus aztecus* Ives, with special regard to survival limits growth, oxygen consumption and ionic regulation. Gulf Coast Research Lab., Ocean Springs, Mississippi. 134 pp.
- Vernberg, B.W. and Vernberg, F.J. (1972). Environmental Physiology of Marine Animals. Springer-Verlag, New York, 346 pp.
- Villarreal, H. and Ocampo, L. (1993). Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis* (Holmes, 1900). Comp. Biochem. Physiol., 106A: 97-101.
- Villarreal, H. and Rivera, J.A. (1993). Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. Comp. Biochem. Physiol., 106A: 103-107.
- Villarreal, H., Hinojosa, P. and Naranjo, J. (1994). Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. Comp. Biochem. Physiol., 108A: 331-336.
- Villarreal, H., Hernández-Llamas, A. and Hewitt, R. (2003). Effect of salinity on growth, survival and oxygen consumption of juvenile brown shrimp *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes). Aquacult. Res., 34: 187-193.
- Williams, A.B. (1960). The influence of temperature on osmotic regulation in two species of estuarine shrimps (*Penaeus*). Biol. Bull., 119: 560-571.
- Wyban, J., Walsh, W.A. and Godin, D.M. (1995). Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture, 138: 267-279.
- Zein-Eldin, Z.P. and Aldrich, D.V. (1965). Growth and survival of postlarval *Penaeus aztecus* under controlled conditions of temperature and salinity. Biol. Bull., 129: 199-216.

EFFECTS OF TEMPERATURE AND SALINITY FLUCTUATION ON THE OXYGEN CONSUMPTION, AMMONIUM EXCRETION AND OSMOREGULATION OF THE BLUE SHRIMP *LITOPENAEUS STYLIROSTRIS* (STIMPSON)

FERNANDO DÍAZ,^{1,*} ANA DENISSE RE,¹ ELIZABETH SIERRA¹ AND EUGENIO DÍAZ-IGLESIAS²

¹Departamento de Biotecnología Marina, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), Km. 107, Carretera Tijuana-Ensenada, Ensenada Baja California, México and

²Departamento de Acuicultura, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), Km 107, Carretera Tijuana-Ensenada, Ensenada Baja California, México

ABSTRACT This study presents data on the effect of temperature and fluctuations in salinity on the oxygen consumption, nitrogen excretion, and osmoregulation of *Litopenaeus stylirostris* juveniles to determine the combinations, so these can be used to optimize the culture conditions. The oxygen consumption rate of juveniles acclimated to 23°C, 28°C, and 33°C was measured. Fluctuating salinity levels were applied to these organisms in a sequence of 40‰, 32‰, 25‰, 16‰, 25‰, 32‰, and back to 40‰. The results indicate that metabolic rate of blue shrimp exposed to salinity fluctuation was not affected significantly. When the salinity was reduced from 40‰ to 25‰ the ammonium excretion of the shrimp was increased, in an 16‰ salinity in all temperatures the ammonium production increased in average of 220%, when the salinity was increased from 16‰ to 40‰ the ammonium excretion of the shrimp was reduced. Hemolymph osmolality of the organisms was hyposmotic as the salinity was reduced from 40‰ to 33‰, hyperosmotic during the 25‰ to 16‰ interval and hyposmotic as the salinity increased from 25‰ to 40‰. The isosmotic points had an interval of 676.8–700.7 mmol Kg⁻¹ (23.7‰ to 24.6‰). The excretion rate of ammonium of the shrimp acclimated at temperatures of 23°C, 28°C, and 33°C was related with the pattern of osmoregulation, when the shrimp were hyper-regulators, ammonium increased and diminished when they were hypo-regulators. To optimize the culture of *L. stylirostris* in controlled conditions, we propose that they be cultivated in salinities of 25‰ and temperatures of 28°C because these are considered the optimal conditions, also this environment is free of stress, and for this reason the growth of shrimp is increased.

KEY WORDS: temperature, salinity fluctuation, oxygen consumption, ammonium excretion, osmoregulation, *Litopenaeus stylirostris*

INTRODUCTION

Temperature and salinity of the water are among the most important environmental factors that affect the life of the penaeids shrimp (Chen & Nan 1995). The adaptative capacity of the penaeids is specific and determined by a number of factors, that have caused shrimp species to be distributed differently in the marine-estuarine gradient (Claybrook 1983). In recent years the studies on the physiology of the penaeids have increased, due to interest in the aquacultural practice with these organisms; through these investigations optimal conditions for their cultivation can be delimited (Brito et al. 2000).

One of the physiologic responses that can be correlated with the changes of the environmental parameters is the oxygen consumption rate, because it is related with the metabolic work and energy flow that the organisms must destine for the mechanisms of homeostatic control (Salvato et al. 2001). Therefore the measurement of the oxygen consumption in the aquatic animals is a valid method to evaluate the effect of environmental factors such as temperature, salinity, exposition to pollutants, light intensity, and the dissolved oxygen, because it allows the determination of the energetic cost associated with the physiologic stress that these combinations impose on the organisms (Kinne 1970, Villarreal 1993, Brown & Terwilliger 1999, Lemos et al. 2001, Altinok & Grizzle 2003).

The ammonium excretion rate has been used to evaluate the effect of various environmental factors on the physiology of the crustaceans (Jiang et al. 2000). The ammonium represents 40% to 90% of the total nitrogen excreted by the crustaceans and is con-

tinuously released through the branchial epithelium (Hartenstein 1970, Kinne 1977, Regnault 1987). A decrease of the environmental osmotic concentration gives a result of a decrease on the amino acids in the tissues and an increase in the ammonium excretion on the organisms (Lange 1972). Significant effects of temperature and salinity on ammonium excretion have been quantified in some species of crustaceans of commercial importance as in *Macrobrachium rosenbergii*, De Man (Nelson et al. 1977, Stern et al. 1984, Díaz Herrera & Buckle Ramirez 1993); *Fenneropenaeus indicus*, Milne-Edwards (Gerhardt 1980); *F. chinensis*, Osbeck (Chen & Lin 1992, 1995); *Marsupenaeus japonicus*, Bate (Chen & Lai 1993); *Penaeus monodon*, Fabricius (Chen et al. 1994); *Farfantepenaeus aztecus*, Ives (Hernández & Díaz 1995); and *Litopenaeus vannamei*, Boone (Jiang et al. 2000, Díaz et al. 2001).

The environmental variation of the salinity disorganizes the osmotic balance in the penaeids, provoking the readjustment of the osmotic concentration of the hemolymph on these organisms. The ability for osmoregulation in decapods was evaluated by Charman-tier et al. (1988, 1989) through the osmoregulatory capacity (OC), defined as the difference between the osmolality of the hemolymph and the external medium osmolality for a given salinity. The OC is a useful tool to evaluate the physiologic condition of the shrimps as well as to detect the sublethal effects of the stress in the culture systems (Lignot et al. 2000).

During the last 4 decades, the osmoregulatory physiology of different species of penaeids has been studied to evaluate the optimal conditions for their culture as in: *Farfantepenaeus aztecus* (Bishop et al. 1980, Castille & Lawrence 1981, Howe et al. 1982, Hernández & Díaz 1995); in *Litopenaeus setiferus*, Linnaeus *L. stylirostris* Stimpson and *L. vannamei* (Williams 1960, Castille & Lawrence 1981, Rodríguez 1981); in *P. esculentus*, Haswell; *Fen-*

*Corresponding author. E-mail: fdiaz@cicese.mx

neropenaeus merguensis, De Man; and *Metapenaeus bennettiae* Racek and Dall (Dall 1981); in *F. indicus* (Parado-Estepa et al. 1987); in *P. monodon* (Cawthorne et al. 1983, Ferraris et al. 1986); in *Marsupenaeus japonicus* (Charmantier-Daures et al. 1989); in *Fenneropenaeus chinensis* (Chen & Lin 1994, Chen et al. 1995, Chen & Lin 1998); and *P. semisulcatus*, De Hann (Clark 1992). However, the osmoregulation processes in these organisms were studied in regimes of constant salinity, whereas in the lagoon-estuarine systems in which these crustaceans normally inhabit, the factors are unstable and present marked variations in temperature, salinity, and dissolved oxygen throughout the year (Salvato et al. 2001).

The blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* is distributed from Punta Abrejos, Baja California down to Tumbes, Peru. This species is commercially cultivated in Ecuador and México, inhabits lagoons, estuaries and bays, places with a varying hydrography through the year, affecting organisms that inhabit in these aquatic systems, due to well defined periods of rain and drought (low water) (Rodríguez 1981, Aragón 2000). The aquacultural potential that the blue shrimp *L. stylirostris* has in México makes it necessary to know the effect of the variations of temperature and salinity on the oxygen consumption, nitrogen excretion and the osmoregulatory capacity, to determine the adequate environmental conditions to optimize its cultivation.

MATERIALS AND METHODS

A number of *Litopenaeus stylirostris* juveniles ($n = 1500$) was acquired in the production farm "Camarón Dorado S.A." located in Huatabampo, Sonora, México. The organisms were placed on three reservoirs of 2000 l in the laboratory with continuous flow of seawater and constant aeration. They were maintained at a temperature of $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ and a salinity of 35‰ during a week. The shrimps ($n = 900$) with a wet weight of 2.8 to 5.0 g were transferred to three circular reservoirs of 500 l for acclimation during 30 days to the temperatures of 23°C , 28°C , and $33^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ and 35‰ salinity. The temperatures of 23°C and 33°C were obtained by decreasing or increasing the temperature of the water of the reservoirs at a rate of 2°C by day. During this phase the shrimps were fed twice a day with Rangen diet for shrimp with 35% of protein. Once the period of thermal acclimation was over, salinity was increased to $40\text{‰} \pm 1\text{‰}$ and remained in these conditions for 6 days, sufficient time for the shrimps to stabilize their internal medium (Bishop et al. 1980, Rosas et al. 2001).

Of each experimental condition, 20 organisms in intermolt stage were selected. The stage of the moult cycle was identified according to the procedure described by Huner and Colvin (1979), 12 h before initiating the measurements they were introduced individually in a semi-opened respirometer as described by Díaz et al. (1989) which consists of 21 respirometric chambers of 1 l. These organisms, as well as the remainders ($n = 140$) that stayed in the reservoirs, were exposed during 4 h in a cycle of 28 h simulating a natural variation similar to an estuarine system, to the effect of the salinity fluctuation as the salinities were changed in sequence to 40‰, 32‰, 25‰, 16‰, 25‰, 32‰, and 40‰, according to the methodology described by Vanegas et al. (1988). To obtain the salinities lower than 35‰ dilutions were carried out using freshwater and the salinity of 40‰ was obtained by the addition of Instant Ocean salts. The shrimps were not fed 24 h before beginning the determination of oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulatory capacity.

The measurements of oxygen consumption and ammonium excretion were quantified simultaneously in 20 organisms placed in the respirometric chambers, the water flow on the chambers remained open for 3 hours to let the adjustment of the internal medium of the organisms exposed to a change of salinity (Díaz et al. 2001). Before closing the flow, two water samples were taken to measure the initial oxygen and ammonium concentration. Subsequently the chambers remained closed for 1 hour to avoid a reduction of the dissolved oxygen of 25% to 30%, and this constituted a stress factor (Stern et al. 1984). Before the water flow was re-established in the chambers, two water samples were taken to measure the final dissolved oxygen and ammonium production.

The dissolved oxygen concentration in the water samples were measured with a dissolved oxygen meter YSI, model 52, provided with a polarographic sensor, which was inside of an acrylic hermetic chamber with a 10-mL capacity with adequate stirring. The rate of oxygen consumption of the shrimps was calculated as the difference between the initial and the final concentrations and it was expressed as $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ of dry weight (d.w.) calibration in air at 100% relative humidity, to achieve this field probes can be placed in the plastic calibration bottle with a moistened sponge. For the quantification of ammonium excretion we used the phenylhypochlorite method (Rodier 1981). The ammonium production of the shrimps in each experimental condition was calculated as the difference between the final concentration and the initial and is expressed in $\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ d.w. The 21st chamber was used as a control to measure the oxygen consumption and the ammonium production by the microorganisms and to make the necessary corrections.

The determination of the osmotic pressure was carried out in the shrimps that remained in the reservoirs and they were exposed to the same regimen of salinity fluctuation. Before the salinity changed, 20 shrimps of the reservoir were extracted at random. To each organism a single hemolymph sample of 10 μL was extracted with an automatic pipette directly off the thoraco-abdominal membrane (previously dried with absorbent paper). Osmolality of the hemolymph and the external medium were measured with a Wescor 5520 vapor osmometer, calibration was run a 290 mmol/kg standard and 1000 mmol/kg standard to establish baseline calibration for these standards, and the data were expressed in mmol Kg^{-1} . The linear relationship in the decreased or increased salinity and osmolality at different temperatures were tested using linear regression (Sigma-Stat). The isosmotic points (where hemolymph osmolality is equal to medium osmolality) were determined using the formula of Ferraris et al. (1986). The osmoregulatory capacity (OC), in the blue shrimp was calculated according to Lignot et al. (2000) as the difference between the hemolymph osmolality and the medium osmolality.

Immediately after ending the experiments the shrimps were killed by immersion in boiling water, dried overnight at 60°C , placed on a desiccator for 2 hours and weighed on a balance (OHAUS Explorer) to determine the d.w.

The data of the oxygen consumption and ammonium excretion of the shrimps exposed to the different experimental conditions were plotted in parallel boxes (Tukey 1977). Within the boxes 50% of the data were distributed in the median and the confidence intervals, the other 50% remained distributed in each bar. A 2-way analysis of variance was used as previous determination of the normality and homoscedasticity of the data (Sigma-Stat), to determine the effect of the temperature and salinity fluctuation on the

oxygen consumption, nitrogen excretion and the hemolymph osmotic pressure of *L. stylirostris*.

RESULTS

The oxygen consumption rate in *Litopenaeus stylirostris* juveniles exposed to fluctuations of salinity and maintained in 23°C was 1.1–1.51 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ d.w. This rate was of 1.70–1.98 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ d.w. in organisms acclimated to 28°C and it increased 230% in comparison with those exposed to 33°C (Fig. 1). An analysis of variance indicated that temperature had a significant effect ($P < 0.05$) on the oxygen consumption of the blue shrimp, but the effect of salinity and the interaction temperature-salinity was not significant ($P > 0.05$).

L. stylirostris juveniles exposed to salinity of 40‰ and acclimated to 23°C and 28°C the lower ammonium excretion rate of 0.04–0.08 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ d.w. was obtained. In the shrimps maintained in 33°C the excretion rate increased significantly up to 0.18 to 0.35 mg NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ d.w. When the organisms were exposed to descending salinities of 40‰ to 25‰, ammonium excretion increased. In salinity of 16‰ and in the three temperatures in which the shrimps were maintained, the ammonium production increased an average of 220%. When the organisms were exposed to ascending salinities, the excretion of the shrimps was reduced significantly ($P < 0.05$) (Fig. 2). An analysis of variance indicated that there was a significant effect of temperature and salinity on the ammonium excretion rate of *L. stylirostris* ($P < 0.05$), the interaction between temperature and salinity was not significant ($P > 0.05$).

Hemolymph osmolality of *L. stylirostris* acclimated to 23°C, 28°C, and 33°C and exposure to salinity fluctuation was related linearly; the obtained slopes had an interval of 0.113 to 0.264 (Table 1). When salinity was reduced from 40‰ to 33‰ (1,278–965 mmol Kg⁻¹) the hemolymph concentration was hypo-osmotic with an interval of 873–777 mmol Kg⁻¹ in respect of the external medium. In the interval of salinities of 25‰ to 16‰ (752–556 mmol Kg⁻¹) the hemolymph of the shrimps was hyperosmotic with an interval of 677–770 mmol Kg⁻¹. When the salinity was increased from 25‰ to 40‰ the osmolality of the internal medium of the shrimps was hypo-osmotic with an interval of 737–848 mmol Kg⁻¹ (Fig. 3). An analysis of variance indicated that the fluctuation of salinity had a significant effect ($P < 0.05$) on the hemolymph concentration of the shrimps; the temperature and the interaction between temperature and salinity did not have a significant effect ($P > 0.05$).

The acclimation temperature did not affect significantly ($P > 0.01$) the values of the isosmotic points of the organisms exposed to salinity fluctuation. The isosmotic points obtained in the shrimps exposed to salinity fluctuation had an interval of 726–758 mmol Kg⁻¹ (24.9–25.9‰), when the increased salinity had an interval of 751–766 mmol Kg⁻¹ (25.7–26.2‰) (Fig. 3).

The osmoregulatory capacity (OC) in juveniles of the blue shrimp was modified significantly by salinity ($P < 0.05$) the hemolymph was hypo to hyper-osmotic since in the salinities of (40‰, 32‰, 40‰) had an interval of -417 to -167, whereas the salinities of (25‰, 16‰, 25‰) increased from 18‰ to 143‰ (Fig. 4). The temperature did not affect significantly ($P > 0.05$) the osmoregulatory capacity of the organisms.

DISCUSSION

The respiratory rate in the crustaceans is modified by external factors as salinity, light intensity, dissolved oxygen and tempera-

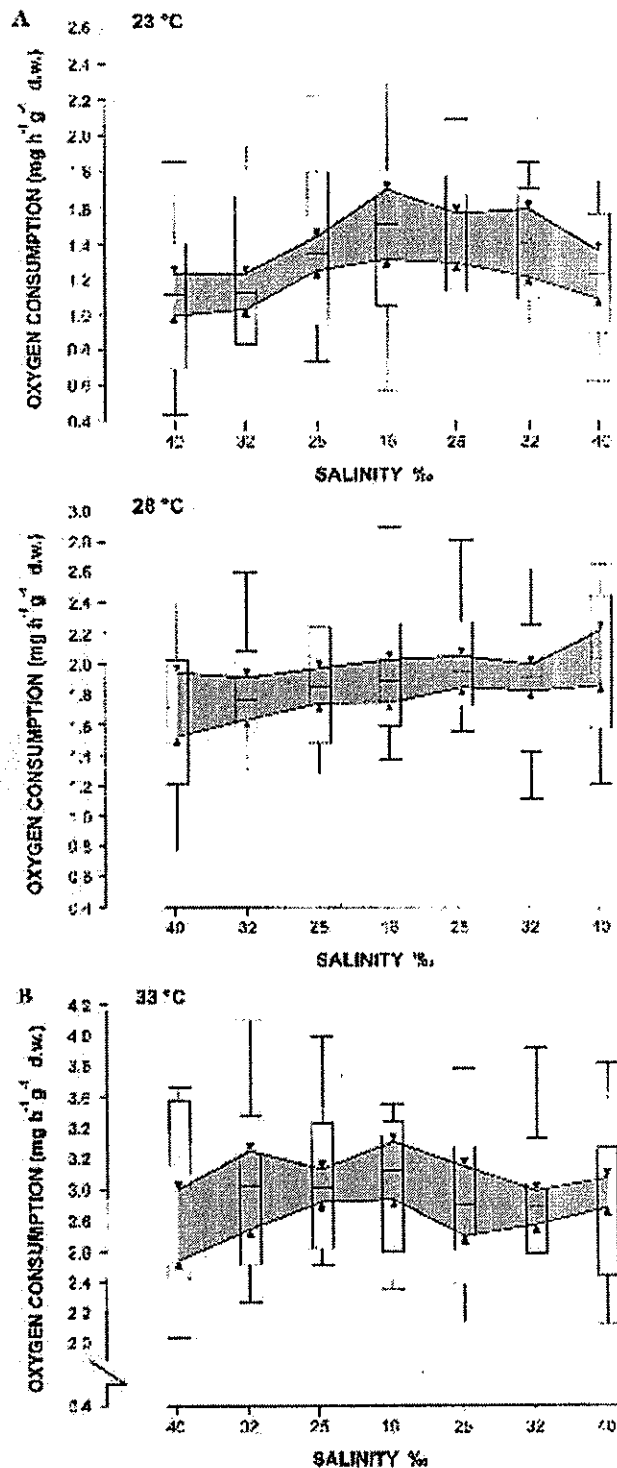


Figure 1. Oxygen consumption rate (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ d.w.) of *Litopenaeus stylirostris* acclimated at temperatures of 23°C, 28°C, and 33°C and exposed to salinity fluctuation. The shaded zone limited by triangles represents the interval of the median. The clear bars involve 50% of the organism distribution and the lines represent the quartiles.

TABLE 1.

Relationship between the hemolymph osmolality (y) and medium osmolality (x) for *Litopenaeus stylirostris* acclimated different temperatures and fluctuating salinities.

Temperature (°C)	Relationship			
	Salinity Decreased	R ²	Salinity Increased	R ²
23	$y = 536.5 + 0.261x$	0.98	$y = 552.6 + 0.264x$	0.89
28	$y = 624.1 + 0.173x$	0.86	$y = 603.1 + 0.197x$	0.90
33	$y = 672.3 + 0.113x$	0.79	$y = 621.7 + 0.189x$	0.96

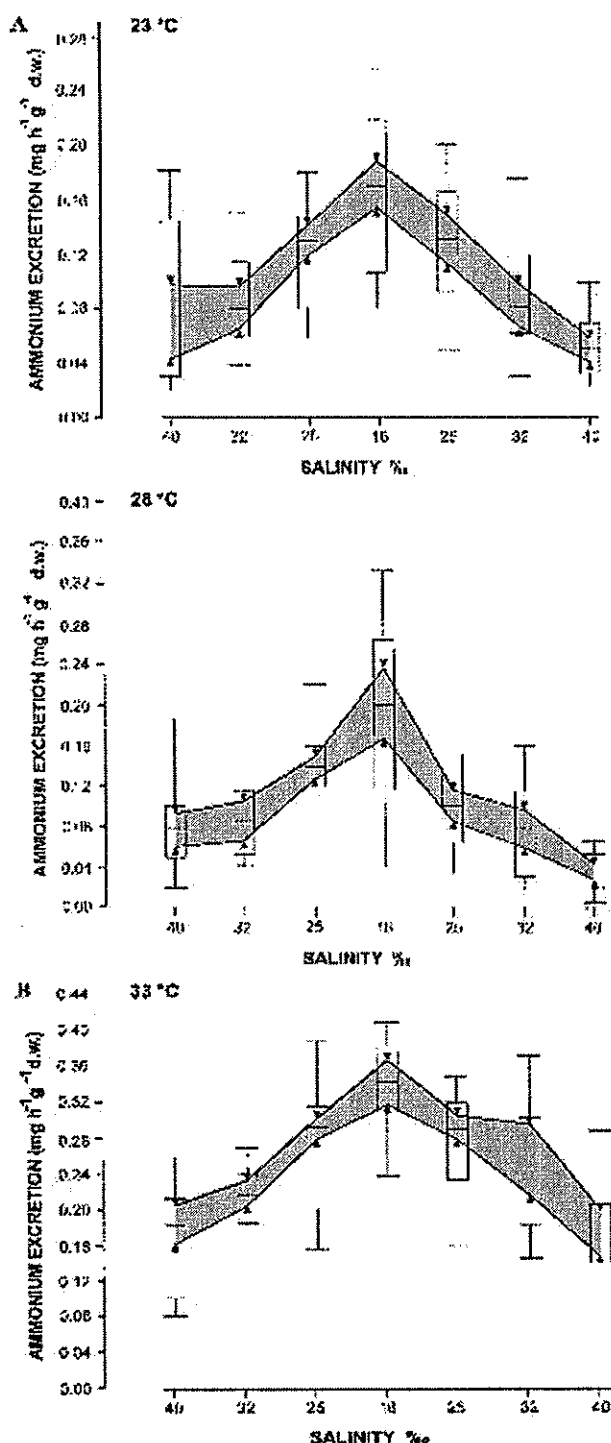


Figure 2. Ammonium excretion rate ($\text{mg NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{d.w.}$) of *Litopenaeus stylirostris* exposed to combination of temperature and salinity fluctuation. The shaded zone limited by triangles represents the interval of the median. The clear bars involve 50% of the organism distribution and the lines represent the quartils.

ture (Kutty et al. 1971, Bishop et al. 1980, Dalla-Via 1986, Kurmaly et al. 1989, Martínez-Palacios et al. 1996). In *Litopenaeus stylirostris* juveniles a direct relationship was obtained between the oxygen consumption rate and temperature. This same response was obtained by Kutty et al. (1971) in *Fenneropenaeus indicus*, in *Penaeus monodon* by Kurmaly et al. (1989) and Chen and Lai (1993), in *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes) by Villarreal and Ocampo (1993), and Martínez-Palacios et al. (1996) in *Litopenaeus vannamei*. It has been emphasized by Venkatarameiah et al. (1974) that the respiratory rate cannot be considered as a good index of the salinity tolerance, except in the cases where the experimental temperature correspond to the natural characteristics of the habitat of the organisms. For blue shrimp a temperature of 28°C corroborates the above-mentioned fact because it corresponds to the preferred temperature determined for this species by Re et al. (2000). Furthermore it is within the average interval experienced in their natural environment.

The oxygen consumption of *L. stylirostris* exposed to salinity fluctuation was not affected significantly. In other euryhaline decapods salinity was not found to significantly affect the oxygen consumption if the experimental organisms were acclimated to the test salinities and if this were not extreme (Bishop et al. 1980, Gaudy & Sloane 1981, Díaz-Herrera et al. 1992, Villarreal & Rivera 1993, Villarreal et al. 1994, Salvato et al. 2001). In aquatic organisms that have been acclimated to a new salinity, Kinne (1967) described four types of metabolic response. The blue shrimp exposed to salinity fluctuation exhibited the type I response because the oxygen consumption was not modified significantly. According to Newell (1976) physiologic rate independence from salinity obtained for blue shrimp is a characteristic of animals that experience highly variable environmental conditions. For other osmoregulator decapods it has been demonstrated, that salinity did not have a pronounced effect on the oxygen consumption if the experimental organisms were acclimated to salinities and if these are not extreme (Bishop et al. 1980, Gaudy & Sloan 1981, Villarreal & Rivera 1993, Salvato et al. 2001). Acclimation time for the *Litopenaeus stylirostris* juveniles to each condition of salinity was sufficient to stabilize their internal medium (Díaz et al. 2001). Furthermore, the intervals of the used salinities correspond to the natural variations to which this species is exposed (Aragón 2000).

In the juveniles exposed to salinity fluctuation ammonium excretion rate was increased, when salinity was reduced from 40‰ to 16‰. This response is related to an increase in the catabolism of the amino acids, because; according to Chen (1998) the shrimps in the lower salinities use proteins as the primary source for requirements of energy. This response has been reported in penaeids such as *M. japonicus*, *F. chinensis*, *P. monodon*, *F. aztecus*, and *L. vannamei* (Spaargaren et al. 1982, Chen & Lin 1992, Chen & Lai

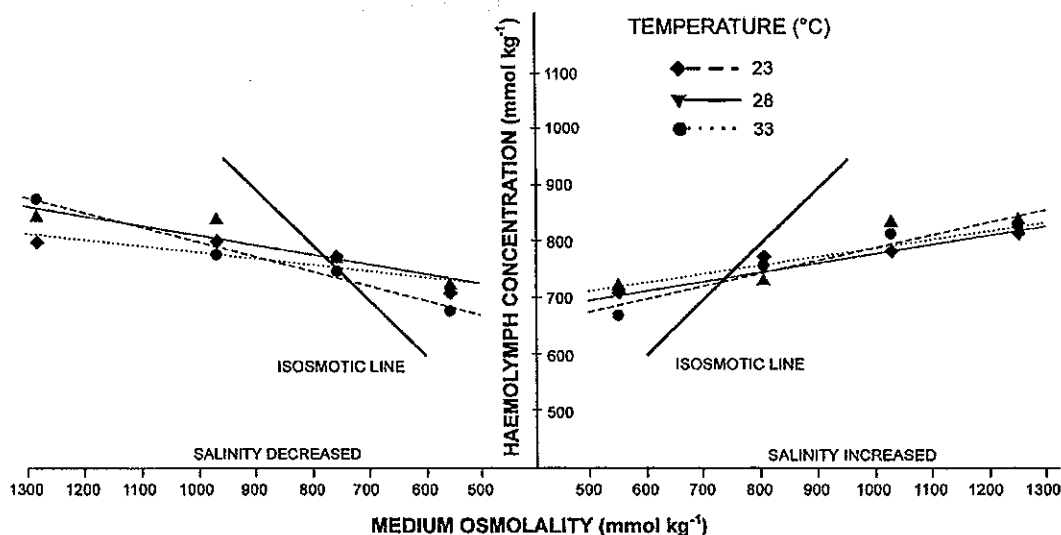


Figure 3. Relation between hemolymph osmolarity of *Litopenaeus stylirostris* and medium osmolarity when they were exposed to combinations of temperature and fluctuating salinities.

1993, Chen et al. 1994, Hernández & Díaz 1995, Jiang et al. 2000, Díaz et al. 2001).

In the blue shrimp exposed to salinity fluctuations, the ammonium excretion rate was related to the processes of osmoregulation, because excretion increased when the shrimps were hyper-regulators and reduced when they were hypo-regulators. It has been demonstrated that there is an increase in the active incorporation of Na^+ followed by the transfer from the organisms to dilute mediums, and this was related to an increase in ammonium excre-

tion because the sodium absorption is required to compensate its lost, caused by the operation of the exchange pump $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ (Mangum et al. 1976, Pressley et al. 1981). To balance the osmotic concentration of the hemolymph when exposed to dilute mediums, the shrimps use these mechanisms. The quantification of nitrogen excretion rate in the shrimps exposed to the effect of different environmental factors is an important requirement for the design and operation of the intensive production systems (Jiang et al. 2000).

In the *L. stylirostris* juveniles, the osmoregulation pattern obtained was typical of many crustaceans that inhabit the lagoon-estuarine systems. They were hypoosmoregulators and hyperosmoregulators above and below the isosmotic point (Vernberg & Vernberg 1972, Mantel & Farmer 1983). The isosmotic points for the juveniles of the blue shrimp acclimated to different temperatures and exposed to salinity fluctuations had an interval of 726–766 mmol Kg^{-1} (24.9‰ to 26.2‰). These values are within the interval of isosmotic points reported by Brito et al. (2000) and Díaz et al. (2001) in 8 and 11 different species of penaeid respectively. Lemaire et al. (2002) reported an isosmotic point 735 mmol Kg^{-1} for juvenile shrimp *L. stylirostris* maintained in constant salinities. In the *L. vannamei* juveniles exposed to salinity fluctuations and acclimated to different temperatures, Díaz et al. (2001) obtained that the isosmotic points had an interval of 712–777 mmol Kg^{-1} . These values are greater than those reported by Castille and Lawrence (1981) and Rodríguez (1981) of 680 (24‰) and 610 (21‰) mmol Kg^{-1} respectively. The differences can be attributed to the different experimental conditions used in these studies, because it is known that factors like temperature, dissolved oxygen, molt stage, the size of the organisms, and the nutritional state have an influence on the hemolymph osmolality control of the penaeid shrimp (Williams 1960, Charmantier et al. 1994, Lignot et al. 1999). Our observations were conducted under standardized experimental conditions, and allow us to isolate the effect of temperature salinity fluctuations and repeated the experiments.

To evaluate the osmoregulatory capacity of *L. stylirostris* the values of the slopes of the relationship between the osmotic concentration of the medium and the hemolymph were compared with

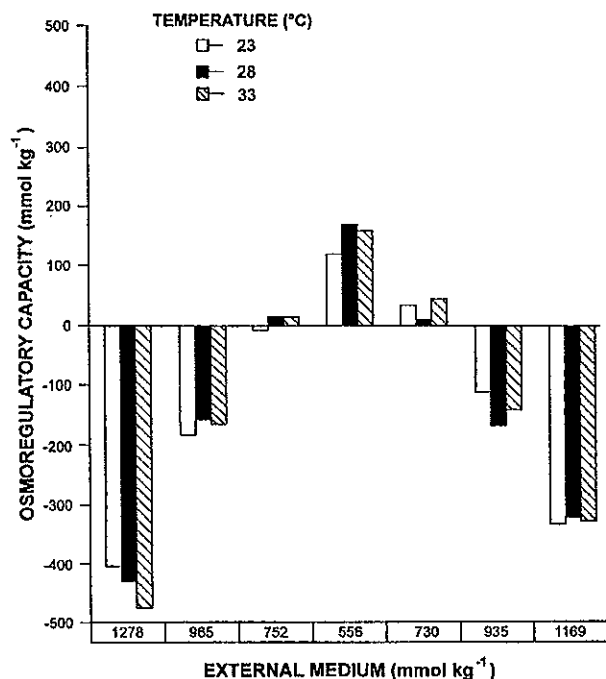


Figure 4. Osmoregulatory capacity of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* acclimated at 23, 28 y 33°C and exposed to fluctuating salinities.

those obtained for other penaeids maintained in constant salinities, which had an interval of 0.11–0.73 (Díaz et al. 2001). A deviation of the slope of the isosmotic line reflects the degree of the regulation capacity (slope = 0 osmoregulator; slope = 1 osmoconformer). The values of the slopes of the juveniles acclimated to 23°C, 28°C, and 33°C and exposed to decreasing salinity were 0.26‰, 0.17‰, and 0.11‰ and for ascending salinities 0.26‰, 0.19‰, and 0.18‰ respectively. The organisms with higher slopes as those maintained in 23°C had a weak regulation and their osmoregulatory capacity was poor. According to Vernberg and Silverthorn, (1979) the temperature affect osmoregulatory capacity in crustacean by influencing water movement across cell membrane and in the uptake and loss of ions. The lower values of the slopes for the organisms maintained in 28°C and 33°C reflected that in these conditions the shrimps had a hyperosmoregulatory capacity in higher salinities and hyperosmoregulatory in lower salinity. Therefore, they can be characterized as strong regulators, because they adapt rapidly to the new salinities by increasing and decreasing the hemolymph osmotic concentration. For *L. stylirostris* subadults, Lemaire et al. (2002) obtained that reducing the temperature from 26°C to 15°C, there was a significant decrease of the osmoregulatory capacity in organisms maintained in con-

stant salinities. This different response can be considered from the adaptive point of view because the lower sensibility in the osmoregulatory capacity shown by the juveniles permits living in the lagoon-estuarine environment in which there are significant variations of temperature.

To optimize the culture of the blue shrimp in controlled conditions it is recommended that temperatures of approximately 28°C be used. Because the best salinity has not been determined experimentally, we propose that 25‰ be considered as the optima for this species, because it corresponds with the isosmotic point determined for the blue shrimp. According to Pannikar (1968), in this condition the shrimps expend less energy for the maintenance of the osmotic gradient and therefore the growth increases when the organisms are cultivated in a stress-free environment.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Laboratory El Camarón Dorado located in Huatabampo, Sonora, for the donation of the specimens used in this investigation. SIMAC-CONACYT gave the economical support to the projects 98011110606 and 200017509. We also appreciate the graphical material; elaborated by Jose M. Dominguez and Francisco J. Ponce from the Drawing Department of CICESE.

LITERATURE CITED

- Altinok, I. & J. M. Grizzle. 2003. Effect of low salinities on oxygen consumption of selected euryhaline and stenohaline freshwater fish. *J. World Aquac. Soc.* 34:113–117.
- Aragón, N. E. A. 2000. Ecología del reclutamiento del camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1871) en el alto Golfo de California. Tesis Doctoral Ecología Marina. CICESE, Ensenada, B.C. 117 pp.
- Bishop, J. M., J. G. Gosselink & J. H. Stone. 1980. Oxygen consumption and hemolymph osmolality of brown shrimp *Penaeus aztecus*. *Fish. Bull.* 78:741–757.
- Brito, R., M. E. Chimal & C. Rosas. 2000. Effect of salinity in survival, growth and osmotic capacity in early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Decapoda: Penaeidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 244:252–263.
- Brown, A. C. & N. B. Terwilliger. 1999. Developmental changes in oxygen uptake in *Cancer magister* (Dana) in response to changes in salinity and temperature. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 241:179–192.
- Castille, F. L., Jr. & A. L. Lawrence. 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 68A:75–80.
- Cawthorne, D. F., T. Beard, J. Davenport & J. F. Wickins. 1983. Responses of juvenile *Penaeus monodon* Fabricius to natural and artificial seawaters of low salinity. *Aquaculture* 32:165–174.
- Clark, J. V. 1992. Physiological responses of adult *Penaeus semisulcatus* (De Hann) to change in salinity. *Comp. Biochem. Physiol.* 101A:117–119.
- Claybrook, D. L. 1983. Nitrogen metabolism. In: L. H. Mantel, editor. The biology of crustacea: internal anatomy and physiology regulation, vol. 5. New York: Academic Press. pp. 163–213.
- Charmantier, G., M. Charmantier-Daures, N. Bouaricha, P. Thuét, D. E. Aiken & J. P. Trilles. 1988. Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two crustaceans: *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. *Biol. Bull.* 175:102–110.
- Charmantier-Daures, M., P. Thuét, G. Charmantier & J. P. Trilles. 1989. Tolerancia a la salinidad y osmorregulación chez les post-larves de *Penaeus japonicus* et *Penaeus chinensis*. Effet de la température. *Aquat. Living Resour.* 1:267–276.
- Charmantier, G., N. Bouaricha, M. Charmantier-Daures, P. Thuét & J. P. Trilles. 1989. Salinity tolerance and osmoregulatory capacity as indicator of the physiological state of penaeid shrimps. *Eur. Aquacult. Soc. Spec. Publ.* 10:65–66.
- Charmantier, G., C. Soyez & Aquacop. 1994. Effect of molt stage and hypoxia on osmoregulatory capacity of the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 178:233–246.
- Chen, J. C. & C. Y. Lin. 1992. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* juveniles exposed to ambient ammonia at different salinity levels. *Comp. Biochem. Physiol.* 102C:287–291.
- Chen, J. C. & S. H. Lai. 1993. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 165:161–170.
- Chen, J. C., C. T. Chen & S. Y. Cheng. 1994. Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid level in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed at different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 110:85–94.
- Chen, J. C. & C. Y. Lin. 1994. Responses of osmotic and chloride concentrations of *Penaeus chinensis* Osbeck subadults acclimated to different salinity and temperature levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 179:267–278.
- Chen, J. C. & F. H. Nan. 1995. Comparisons of oxygen consumption and ammonia-N excretion of five penaeids. *J. Crustacean Biol.* 14:289–294.
- Chen, J. C. & C. Y. Lin. 1995. Responses of oxygen consumption, ammonia-N excretion and urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels. *Aquaculture* 136:243–255.
- Chen, J. C., M. N. Lin, Y. Y. Ting & J. N. Lin. 1995. Survival haemolymph osmolality and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles acclimated to different salinity and temperature levels. *Comp. Biochem. Physiol.* 110A:253–258.
- Chen, J. C. & C. Y. Lin. 1998. Osmotic concentration and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles reared at different salinity and temperature levels. *Aquaculture* 164:173–181.
- Chen, H. Y. 1998. Nutritional requirements of the black tiger shrimp: *Penaeus monodon*. *Rev. Fish. Sci.* 6:79–80.
- Dall, W. 1981. Osmoregulatory ability and juvenile habitat preference in some penaeid prawns. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 54:55–64.
- Dalla-Via, G. J. 1986. Salinity responses of the juvenile penaeid shrimp

- Penaeus japonicus*. I. Oxygen consumption and estimations of productivity. *Aquaculture* 55:297-306.
- Díaz, F., S. Espina, C. Rosas, A. Sánchez, C. Vanegas & E. Díaz Iglesias. 1989. Ritmo respiratorio y amplitud metabólica del camarón café *Penaeus aztecus* con ablación de los pedúnculos oculares. *Rev. Inv. Mar.* X:27-39.
- Díaz Herrera, F. & L. F. Buckle Ramirez. 1993. Efecto de la salinidad sobre el consumo de oxígeno y la excreción de amonio de *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea: Palaemonidae). *Rev. Biol. Trop* 41: 239-243.
- Díaz-Herrera, F., E. Peréz-Cruz, J. Luna-Figueroa, A. Tapia-Gamas & C. Rosas-Vázquez. 1992. Oxygen consumption, ammonia excretion and osmoregulation of *Callinectes similis* juveniles (Crustacea:Portunidae) exposed to fluctuating salinities. *Ciencias Marinas* 18:93-104.
- Díaz, F., C. Farfan, E. Sierra & A. D. Re. 2001. Effects of temperature and salinity fluctuation on the ammonium excretion and osmoregulation of juveniles of *Penaeus vannamei*. *Boone. Mar. Fresh. Behav. Physiol.* 34:93-104.
- Ferraris, R. P., F. E. Parado-Estapa, J. M. Ladjá & E. G. De Jesús. 1986. Effect of salinity on the osmotic, chloride total protein and calcium concentrations in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). *Comp. Biochem. Physiol.* 83A:701-708.
- Gaudy, R. & L. Sloane. 1981. Effect of salinity on oxygen consumption in postlarvae of the penaeid shrimps *Penaeus monodon* and *P. stylirostris* without and with acclimation. *Mar. Biol.* 65:297-301.
- Gerhardt, H. V. 1980. Nitrogen excretion by juvenile prawn *Penaeus indicus* Milne Edwards at various temperatures. *S. Afr. J. Sci.* 76:39-40.
- Hartenstein, R. 1970. Nitrogen metabolism in non-insect arthropods. In: J. W. Campbell, editor. Comparative biochemistry of nitrogen metabolism, vol. 1. The invertebrates. London: Academic Press. pp. 299-385.
- Hernández, R. M. & H. F. Díaz. 1995. Interacción de la temperatura y la salinidad sobre la excreción de amonio y osmorregulación en *Penaeus aztecus* (Crustacea, Penaeidea). *Car. J. Sci.* 31:284-288.
- Howe, N. R., W. D. Quast & L. M. Cooper. 1982. Lethal and sublethal effects of a simulated salt brine effluent on adults and subadults of the shrimps *Penaeus setiferus* and *P. aztecus*. *Mar. Biol.* 68:37-47.
- Huner, J. V. & L. B. Colvin. 1979. Observations on the molt cycles of two species of juvenile shrimp *Penaeus californiensis* and *Penaeus stylirostris* (Decapoda:Crustacea). *Proc. Nat. Shell. Assoc.* 69:77-84.
- Jiang, D. H., A. L. Lawrence, W. H. Neill & H. Gong. 2000. Effects of temperature and salinity on nitrogen excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 253:193-209.
- Kinne, O. 1967. Physiology of estuarine organisms with special reference to salinity and temperature. In: G. H. Lauff, editor. Estuaries. Washington, DC: AAAS Publ. No 53. pp. 525-540.
- Kinne, O. 1970. Temperature: animals, invertebrates. In: O. Kinne, editor. Marine Ecology, vol. 1, part II. New York: Wiley-Interscience. pp. 407-616.
- Kinne, O. 1977. Cultivation of marine organisms: Water quality management and technology. In: O. Kinne, editor. Marine ecology, vol. 1, part III. New York: John Wiley & Sons. pp. 742-883.
- Kumaly, K., A. Yule & D. A. Jones. 1989. Effects body size and temperatures on the metabolic rate of *Penaeus monodon*. *Mar. Biol.* 103: 25-30.
- Kutty, M. N., G. Murugapopathy & T. S. Krishnan. 1971. Influence of salinity and temperature on oxygen consumption in young juveniles of the Indian prawn *Penaeus indicus*. *Mar. Biol.* 11:125-131.
- Lange, R. 1972. Some recent work on osmotic, ionic and volume regulation in marine animals. A review. *Oceanograph. Mar. Biol.* 10:97-136.
- Lemaire, P., E. Bernard, J. A. Martínez-Paz & L. Chinn. 2002. Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 209:307-317.
- Lemos, D., V. N. Phan & G. Alvarez. 2001. Growth, oxygen consumption, ammonia-N excretion, biochemical composition and energy content of *Farfantepenaeus paulensis* Perez-Farfante (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) early postlarvae in different salinities. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 261:55-74.
- Lignot, J. H., J. C. Cochrad, C. Soyey, P. Lemaire & G. Charmantier. 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 170:79-92.
- Lignot, J. H., C. Spaniengs-Pierrot & G. Charmantier. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191:209-245.
- Mangum, C. P., S. V. Silverthorn, J. L. Harris, D. W. Towle & A. R. Krall. 1976. The relationship between blood pH, ammonia excretion and adaptation to low salinity in the blue crab *Callinectes sapidus*. *J. Exp. Zool.* 195:129-136.
- Mantel, L. H. & L. L. Farmer. 1983. Osmotic and ionic regulation. In: L. H. Mantel & L. L. Farmer, editors. The biology of crustacea, vol. 5. New York: Academic Press. pp. 53-161.
- Martínez-Palacios, C. A., G. L. Ross & V. L. Jiménez. 1996. The effect of temperature and body weight on the oxygen consumption of *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *J. Aqua. Trop.* 11:59-65.
- Nelson, S. G., A. W. Knight & H. W. Li. 1977. The metabolic cost of food utilization and ammonia production by the juvenile *Macrobrachium rosenbergii*. *Comp. Biochem. Physiol.* 57A:67-72.
- Newell, R. C. 1976. Adaptation to Environment: Essays on the physiology of marine animals. London: Butterworths. 539 pp.
- Pannikar, N. K. 1968. Osmotic behaviour of shrimps and prawns in relation to their biology and culture. *F.A.O. Fish. Rep.* 57:527-538.
- Parado-Estapa, F. D., R. P. Ferraris, J. M. Ladjá & E. G. De Jesus. 1987. Responses of intermolt *Penaeus indicus* to large fluctuations in environmental salinity. *Aquaculture* 64:175-184.
- Pressley, T. A., J. S. Graves & A. R. Krall. 1981. Amiloride sensitive ammonium and sodium ion transport in the blue crab. *Amer. J. Physiol.* 241:370-378.
- Re, A. D., F. Díaz, E. Sierra, M. Aguilar & A. Granados. 2000. Efecto de la salinidad sobre la temperatura preferida y la tolerancia térmica de *Litopenaeus stylirostris*. Stimpson. 5to Congreso de Ciencias del Mar, Marcuba 2000. Res. 36 pp.
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and freshwater crustacea. *Biol. Rev* 62:1-24.
- Rodier, J. 1981. Análisis de las aguas: aguas naturales, aguas residuales y agua de mar. Barcelona: Omega. pp.134-138.
- Rodríguez, G. A. 1981. Osmoregulation and total serum proteins of two species of penaeidean shrimps from the pacific coast of México. *J. Crustacean Biol* 1:392-400.
- Rosas, C., N. López, P. Mercado & E. Martínez. 2001. Effect of salinity acclimation on oxygen consumption of juvenile of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. Crustacean Biol.* 21:912-922.
- Salvato, B., V. Cuomo, P. Di Muro & M. Beltramini. 2001. Effects of environmental parameters on the oxygen consumption of four marine invertebrates: a comparative factorial study. *Mar. Biol.* 138:659-668.
- Spaargaren, D. H., P. Richard & H. J. Ceccaldi. 1982. Excretion of nitrogenous products by *Penaeus japonicus* in relation to environmental osmotic conditions. *Comp. Biochem. Physiol.* 72A:673-678.
- Stern, S., A. Borut & D. Cohen. 1984. The effect of salinity and ion composition on oxygen consumption and nitrogen excretion of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Comp. Biochem. Physiol.* 79A:271-274.
- Tukey, J. W. 1977. Exploratory data análisis, Massachusetts: Addison-Wesley. 688 pp.
- Vanegas, C., G. Perez, E. Merino, F. Díaz & C. Rosas. 1988. Efecto de las fluctuaciones de la salinidad sobre el consumo de oxígeno de *Callinectes similis* Williams. *Rev. Inv. Mar.* IX:67-78.
- Venkataramiah, A., G. J. Lakshmi & G. Gunter. 1974. Studies on the effects of salinity and temperature on the commercial shrimp, *Penaeus aztecus* Ives, with special regard to survival limits growth, oxygen consumption and ionic regulation. Gulf Coast Research Laboratory, Ocean Springs, Mississippi. 134 pp.

- Vernberg, B. W. & F. J. Vernberg. 1972. Environmental physiology of marine animals. New York: Springer-Verlag. 346 pp.
- Vernberg, F. J. & S. U. Silverthorn. 1979. Temperature and osmoregulation in aquatic species In: R. Gilles, editor. Mechanisms of osmoregulation in animals. New York: Wiley. pp. 537-562.
- Villarreal, H. & L. Ocampo. 1993. Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis* (Holmes, 1900). *Comp. Biochem. Physiol.* 106A:97-101.
- Villarreal, H. & J. A. Rivera. 1993. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 106A:103-107.
- Villarreal, H., P. Hinojosa & J. Naranjo. 1994. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 108A:331-336.
- Williams, A. B. 1960. The influence of temperature on osmotic regulation in two species of estuarine shrimps (*Penaeus*). *Biol. Bull.* 119:560-571.