

Centro de Investigacion Cientifica y de
Educacion Superior de Ensenada

EFFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE EL METABOLISMO
RESPIRATORIO, EXCRECION NITROGENADA Y
OSMORREGULACION EN *Macrobrachium tenellum*
DE MULEGE BAJA CALIFORNIA SUR, MEXICO

TESIS

MAESTRIA EN CIENCIAS

MARISELA AGUILAR JUAREZ

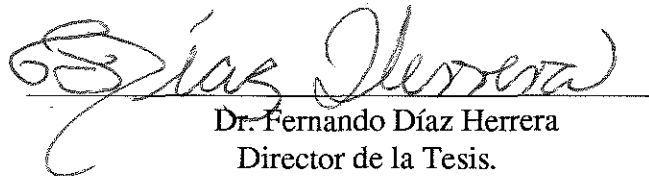
ENSENADA, B. C., MEXICO. DIC. DE 1995.



RESUMEN de la Tesis de Marisela Aguilar Juárez presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en ECOLOGÍA MARINA. Ensenada, Baja California, México. Diciembre de 1995.

EFFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE EL METABOLISMO RESPIRATORIO,
EXCRECIÓN NITROGENADA Y OSMORREGULACIÓN EN *Macrobrachium tenellum*
DE MULEGÉ, BAJA CALIFORNIA SUR.

Resumen aprobado por:



Dr. Fernando Díaz Herrera
Director de la Tesis.

Se examinó el efecto de las salinidades 0, 3, 6, 9, 12, 17, 22 y 27 ‰ en el consumo de oxígeno, excreción nitrogenada, relación atómica O:N y osmorregulación de *Macrobrachium tenellum* de Mulegé, Baja California Sur. Se utilizaron organismos en fase de intermuda con un peso húmedo de 1.08 a 3.16 g. La tasa de consumo de oxígeno en *M. tenellum*, tuvo un incremento de 2.43 mgO₂h⁻¹g⁻¹P.S. (P<0.05) en los organismos expuestos de 0 a 3 ‰, que disminuyó hasta 1.73 mgO₂h⁻¹g⁻¹P.S. en 12 y 17 ‰, se incrementó hasta llegar a 4.14 mgO₂h⁻¹g⁻¹P.S. en 27 ‰ (P<0.05). Este comportamiento correspondió al tipo de respuesta II propuesto por Kinne (1971). La tasa de excreción de amonio no se alteró y permaneció constante en un intervalo de 0.11 a 0.15 mgN-NH₄⁺h⁻¹g⁻¹P.S. Lo que reflejó una independencia de la excreción de amonio de los langostinos ante las variaciones de salinidad. La relación atómica O:N calculada para *M. tenellum* en los medios diluidos tuvo un valor de 16.89 a 27.56, el principal sustrato energético utilizado fue una mezcla de lípidos-carbohidratos, el catabolismo de proteínas se incrementó considerablemente en las salinidades de 12 y 17 ‰, donde se obtuvo un valor de 7.8, pero en los organismos expuestos a 22 y 27 ‰ la relación O:N fue de 18.14 a 20.42, lo que significó que se catabolizó una mezcla de lípidos y carbohidratos. En consecuencia, los langostinos fueron afectados de manera significativa (P< 0.05) por el estrés osmótico al que fueron sometidos. En las salinidades bajas (0 a 12 ‰), *M. tenellum* tuvo un patrón de regulación hiperosmótico, con un punto isosmótico en 17 ‰, y en las salinidades de 22 a 27 ‰ los organismos se mantuvieron hiposmóticos.

EFFECT OF THE SALINITY ON THE RESPIRATORY METABOLISM, NITROGEN EXCRETION AND OSMOREGULATION IN *Macrobrachium tenellum*. OF MULEGE, SOUTHERN BAJA CALIFORNIA, MEXICO.

ABSTRACT

The effect of salinities 0, 3, 6, 9, 12, 17, 22 and 27 ‰ were investigated on the oxygen consumption, nitrogen excretion, atomic ratio O:N and osmoregulation of *Macrobrachium tenellum* in Mulege, South Baja California. The organisms were in intermoult stage with a wet weight of 1.08 to 3.16 g. The rate of oxygen consumption increased by 2.43 mgO₂h⁻¹g⁻¹P.S. (P<0.05) in organism at 0 to 3 ‰ decrease to 1.73 mgO₂h⁻¹g⁻¹P.S. from 12 to 17 ‰, and increased to 4.14 mgO₂h⁻¹g⁻¹P.S. in 27 ‰ (P< 0.05). This behavior corresponds a type II response by Kinne (1971). The ammonium excretion rate was not altered and remained constant between of 0.11 to 0.15 mgN-NH₄⁺h⁻¹g⁻¹P.S. exhibiting independence between ammonium excretion by the prawns, from variations salinity. The atomic ratio O:N calculated for *M. tenellum*, in the diluted salinities had a value of 16.89 to 27.56 the principal energetic substrate used was a mixture of lipid-carbohydrate, protein catabolism increased considerably in 12 ‰ and 17 ‰ where was obtained a value of 7.8, but in the organisms exposed from 22 to 27 ‰ the O:N ratio was of 18.14 to 20.42 reflecting catabolism of lipid-carbohydrate. Consequently the prawns were affected significantly (P< 0.05) by the osmotic stress. *M. tenellum* were hyperosmotic at low salinities (0 to 12 ‰), become isosmotic in 17 ‰ and hypoosmotic in salinities from 22 to 27 ‰.

TESIS DEFENDIDA POR
MARISELA AGUILAR JUAREZ

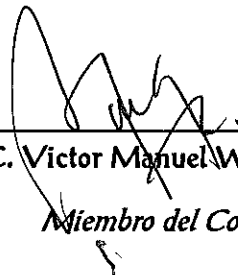
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITE


Dr. Fernando Díaz Herrera

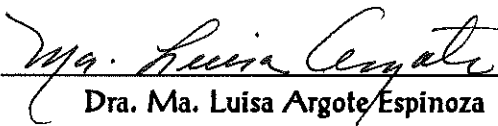
Director del Comité


Dr. Luis Fernando Bückle Ramírez
Miembro del Comité

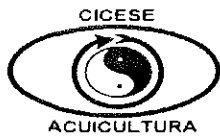

M.C. Benjamín Barón Sevilla
Miembro del Comité


M.C. Victor Manuel Wong Ortega
Miembro del Comité

Jefe del Departamento de Ecología


Dra. Ma. Luisa Argote Espinoza
Director de Estudios de Posgrado

7 de Diciembre de 1995



CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y
DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA

DIVISIÓN DE OCEANOLOGÍA.
DEPARTAMENTO DE ACUÍCULTURA

EFFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE EL METABOLISMO RESPIRATORIO,
EXCRECIÓN NITROGENADA Y OSMORREGULACIÓN EN *Macrobrachium tenellum*
DE MULEGÉ, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO.

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios
para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS presenta:

Biól. MARISELA AGUILAR JUÁREZ.

Ensenada, Baja California, Diciembre de 1995.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Díaz Herrera, por la dirección tan acertada de este trabajo, así como por la confianza, amistad y apoyo recibidos durante mi desarrollo en esta área.

Agradezco sinceramente al Dr. Fernando Bückle Ramírez, al M. en C. Benjamín Barón Sevilla, y al M. en C. Víctor Wong Ortega por haber formado parte de mi Comité de Tesis y sobre todo por los acertados comentarios y correcciones al trabajo.

Al Técnico en Acuicultura Francisco Valenzuela por el apoyo presentado durante las salidas al campo, así como al Biól. Cesar Flores y Eduardo Morales por los programas estadísticos proporcionados, así como al Dr. Horacio de la Cueva y a Erick Melink.

Al Doctor Saúl Alvarez por sus consejos y sugerencias.

Al M. en C. Alf Meling por las sugerencias hechas al trabajo y sobre todo por el apoyo.

A mis queridos amigos; Arturo, Sandra, Fibi, Claudia, Ernesto, Efraín, Araceli, Panchito, Andrés, Yolanda, Ángeles, Eduardo C., Chabelita y Mauricia.

A la M. en C. Monica H. por el apoyo sobre material bibliográfico durante la trayectoria de la tesis así como por su gran amistad.

A mis amigos Victor, Conchita, Luis, Pablo, Rigo, Veneranda, Alejandro, Manuel, Nestor, Salome, Elia, Lety, Gabriel, Lety Monroy, Miguel M, Miguel D., Rodolfo, Paty, Lulu, Rebeca, Elizabeth, Alfredo, Elisa, Tere Win, Emmanuela y a todos mis compañeros de generación por compartir una etapa inolvidable de compañerismo.

A Karla y Ma. Elena por el apoyo administrativo y por su gran amistad.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada.

Y a todos aquellos que de alguna manera contribuyeron en la realización de este trabajo gracias.

CONTENIDO

| | <u>Página</u> |
|----------------------------|---------------|
| I INTRODUCCIÓN | 1 |
| II OBJETIVOS | 5 |
| III MATERIALES Y METODOS | 6 |
| III.1 Análisis estadístico | 8 |
| IV RESULTADOS | 15 |
| V DISCUSIÓN | 16 |
| VI CONCLUSIONES | 30 |
| LITERATURA CITADA | 32 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | | <u>Página</u> |
|--------|---|---------------|
| 1 | Estaciones de muestreo. Mulegé, Baja California Sur, México (26° 54' 19' Latitud N y 112° Longitud O). a) La Presa b) El Puente. | 11 |
| 2 | Recolecta de <i>Macrobrachium tenellum</i> con atarraya. | 13 |
| 3 | Jaulas colocadas a lo largo de las estaciones de muestreo para la captura de <i>M. tenellum</i> . | 13 |
| 4 | Transporte de los langostinos en bolsas de plástico con agua del medio y oxígeno a saturación. | 14 |
| 5 | Estanques para el mantenimiento de los langostinos recolectados en Mulegé, Baja California Sur. | 14 |
| 6 | Acuarios para la aclimatación de <i>Macrobrachium tenellum</i> a las diferentes salinidades utilizadas (0, 3, 6, 9, 12, 17, 22 y 27 ‰), asegurados con una rejilla de protección para evitar que los organismos saltaran fuera de los acuarios. | 15 |
| 7 | Respirómetro semi-abierto, compuesto de a) 21 cámaras respirométricas, b) oxímetro YSI-50B provisto de un sensor polarográfico, c) electrodo de amonio conectado a un analizador de iones (ORION 940). | 15 |
| 8 | Tasa de consumo de oxígeno de <i>Macrobrachium tenellum</i> expuesto a diferentes salinidades. La zona sombreada representa el intervalo de confianza de la mediana al 95 %. | 18 |
| 9 | Excreción nitrogenada de <i>M. tenellum</i> en diferentes salinidades. La zona sombreada representa el intervalo de confianza de la mediana al 95 %. | 19 |
| 10 | Relación atómica O:N de <i>M. tenellum</i> expuesto a diferentes salinidades. La zona sombreada representa el intervalo de confianza de la mediana al 95%. | 20 |
| 11 | Patrón de osmorregulación de <i>M. tenellum</i> . La diagonal de 45° es la línea de igualdad del medio interno y externo. La zona sombreada representa el intervalo de confianza de la mediana al 95 %. | 21 |

LISTA DE TABLAS

| Tabla | | <u>Página</u> |
|-------|---|---------------|
| I | Análisis proximal del alimento proporcionado a <i>Macrobrachium tenellum</i> , con base en un 35% de proteínas. | 11 |
| II | Puntos isosmóticos de algunas especies del género <i>Macrobrachium</i> . | |

**EFFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE EL METABOLISMO
RESPIRATORIO, EXCRECIÓN NITROGENADA Y OSMORREGULACIÓN EN
Macrobrachium tenellum DE MULEGÉ, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO.**

I INTRODUCCIÓN.

Muchas especies de *Macrobrachium* dependen del agua salobre para completar su desarrollo larvario y están sujetas a un amplio intervalo de variación de la salinidad durante su ciclo de vida (Guest y Durocher 1979; McNamara *et al.*, 1983; McNamara *et al.*, 1986; McNamara y Moreira, 1987).

Macrobrachium tenellum, se distribuye desde Mulegé, Baja California Sur (27° N) y Yavaros, Sonora en México (26° 45' N) hasta el río Chira, al norte de Perú (5° S) (Holthuis, 1952). Es un langostino que migra desde los ríos, donde generalmente habita, hasta llegar a las aguas salobres para reproducirse. Cuando las larvas se metamorfosean en postlarvas, vuelven a migrar de los sistemas lagunares-estuarinos a regiones de agua dulce donde completan su desarrollo hasta el estadio adulto (Roman, 1979).

La salinidad es un factor ambiental que puede modificar numerosas respuestas funcionales, tales como la tasa metabólica (Hagerman, 1970; Shumway, 1978; Vanegas, 1992; Souza y Moreira, 1987), el crecimiento y la reproducción (Kinne, 1971; Vanegas, 1992), para lo cual se desencadenan en los organismos acuáticos mecanismos de regulación.

Estudios sobre el consumo de oxígeno en diferentes estadios del ciclo de vida de *Macrobrachium* han demostrado que la tasa metabólica de los langostinos puede

incrementarse, descender o mantenerse constante en medios de salinidad fluctuante (McNamara *et al.*, 1983; Stern *et al.*, 1984; McNamara *et al.*, 1986).

Sin embargo, Gasca *et al.* (1991) mencionan que el consumo de oxígeno *in vitro* puede verse alterado por el estado de alimentación del animal, por lo que Clifford y Brick (1983) y Díaz (1988) sugieren que los experimentos con organismos mantenidos en inanición son los más adecuados para realizar estudios respirométricos, ya que la presencia del alimento en el tracto digestivo, así como su calidad, alteran de forma considerable el metabolismo energético (Díaz 1988).

La excreción de amonio en los crustáceos eurihalinos también es afectada por las variaciones de la salinidad (Needham, 1957; Regnault, 1987; Armstrong *et al.*, 1981, Stern *et al.*, 1984). Haberfield *et al.*, (1975) y Spaargaren *et al.*, (1982) observaron en *Carcinus maenas* y *Penaeus japonicus* un incremento en la tasa de excreción nitrogenada al disminuir la salinidad debido a un aumento del catabolismo de los aminoácidos involucrados en la regulación osmótica. Esto ha permitido postular una relación entre la magnitud de la producción de amonio y la actividad de intercambio de la bomba $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$, que en respuesta al estrés osmótico balancea la concentración osmótica de la hemolinfa de los organismos (Regnault, 1987; Stern *et al.*, 1984).

La relación atómica O:N relacionada con los dos parámetros anteriores es un índice cualitativo que permite identificar el tipo de sustrato metabólico utilizado por los organismos acuáticos proporcionando la información referente a los cambios del sustrato energético que

utilizan los animales ante variaciones de la salinidad y la temperatura (Barber y Blake 1985; Mayzaud y Conover, 1988).

En la fisiología de los organismos acuáticos, la salinidad desempeña un papel importante, porque determina su distribución y sobrevivencia. La manera en que estos organismos responden a estas variaciones es adaptándose al ambiente, desarrollando mecanismos de osmorregulación que les permita regular su medio interno; éste proceso se realiza en el tejido branquial y el tracto digestivo principalmente (Stern *et al.*, 1984; Eckert *et al.*, 1990)

Muchas de las especies de *Macrobrachium* exhiben una capacidad osmorregulatoria similar a las reportadas para otros decápodos de agua dulce, donde la hemolinfa es mantenida hiperosmótica en un medio de bajas salinidades e hipoconformando en salinidades arriba del punto isosmótico (Singh, 1980; Castille y Lawrence, 1981; Moreira *et al.*, 1981,1983).

Evidentemente, el desarrollo de una capacidad osmorregulatoria eficiente en los langostinos es de fundamental importancia para la colonización de los hábitat dulceacuícolas, ya que deben mantener altas concentraciones iónicas en sus fluidos corporales frente a un gradiente osmótico, lo que implica un gasto considerable de energía (Moreira *et. al.*, 1983). McNamara y Moreira (1987), afirman que este gasto parece ser compensado con la explotación de un nuevo biotopo.

Los langostinos aparentemente se encuentran en proceso de invadir el ambiente dulceacuícola. La amplia diferencia de los patrones de osmorregulación de los juveniles y

adultos de las distintas especies de *Macrobrachium*, además de la diferenciación en las respuestas osmorreguladoras de las larvas a las variaciones de la salinidad, parecen confirmar esta teoría (Ortmann, 1902; Read, 1984; Sandifer *et al.*, 1975; Castille y Lawrence, 1981; Moreira *et al.*, 1983; McNamara *et al.*, 1983)

Las especies de langostinos con amplia tolerancia a las variaciones de la temperatura y la salinidad pueden tener un gran potencial para su cultivo en un extenso intervalo de condiciones ambientales (Gasca *et al.*, 1991). El desarrollo de los sistemas acuiculturales en condiciones tropicales está incrementando su foco de atención en especies como *M. tenellum*, pues se conoce que soporta intervalos amplios de parámetros ambientales. Sin embargo, no se han determinado los óptimos, ya que las investigaciones realizadas en torno a esta especie son escasas, entre ellas podemos destacar a Roman (1979), que contribuye al conocimiento de la biología de *M. tenellum*; Cabrera, *et al.* (1979) que se refiere a la fecundidad y el cultivo de esta especie; Martínez *et al.* (1980) y Ponce *et al.* (1986) consideran los avances sobre el semicultivo, Guzmán (1987) detalla los aspectos ecológicos y pesqueros de esta especie y Hernández *et al.* (1995) obtienen la temperatura preferida.

Moreira *et al.* (1983), mencionan que el éxito económico de los cultivos intensivos y extensivos de los palemonidos requieren de una profunda investigación concerniente a la fisiología de los organismos, para comprender los mecanismos adaptativos que permiten a los langostinos sobrevivir y crecer en un ambiente particular, a fin de establecer condiciones óptimas, desde un punto de vista práctico, para el cultivo de las especies de *Macrobrachium* de importancia comercial (Hernández, 1992).

II OBJETIVOS.

- a) Medir en *Macrobrachium tenellum* de Mulegé, Baja California Sur, México, el efecto de la salinidad sobre el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada.

- b) Estimar mediante la relación atómica O:N el tipo de sustrato metabólico que utiliza *M. tenellum* cuando es sometido a un estrés hiperosmótico.

- c) Conocer el patrón de osmorregulación de *M. tenellum*.

III MATERIALES Y MÉTODOS.

La recolección de *Macrobrachium tenellum* se llevó a cabo en Mulegé, B. C. S. (26°54'19" Latitud N y 112° Longitud O), en dos estaciones a) la Presa y b) el Puente (figura 1).

La captura de los langostinos se realizó con una atarraya de 2 m de largo con abertura de malla de 2 cm (figura 2) y con jaulas colocadas a lo largo de las dos estaciones de muestreo (figura 3). Los organismos capturados se transportaron en bolsas de plástico con agua del medio y oxígeno a saturación (figura 4).

En el laboratorio, los langostinos se distribuyeron en cuatro estanques de 500 litros (figura 5), con aireación constante y una temperatura a 28 °C. Para evitar el canibalismo, a los estanques se les agregaron refugios hechos con tubos de PVC de 2.54 cm de ancho y 20 a 25 cm de longitud; los organismos se alimentaron cada tercer día con una dieta comercial (tabla I).

Se seleccionaron 360 animales de ambos sexos con un intervalo de peso húmedo entre 1.08 y 3.16 g, que se distribuyeron al azar en ocho estanques que contenían tres acuarios de 40 l en las salinidades de 0, 3, 6, 9, 12, 17, 22 y 27 ‰. El cambio de salinidad fue gradual, para lo cual se incrementó en 3 ‰ por día. La aclimatación fue de ocho días y para cada condición experimental se realizaron tres repeticiones (figura 6).

En cada estanque se colocó un calentador de 1000 W y aireación constante para mantener la temperatura del agua a 28 °C ($\pm 0.5^{\circ}\text{C}$), la cual prefirieron al colocarse en un

gradiente térmico horizontal (Hernández *et al.*, 1995). El fotoperíodo se mantuvo en 12 horas luz y 12 horas oscuridad con un período de transición de 30 minutos entre ambos.

Los organismos fueron alimentados diariamente con una ración equivalente al 5 % de su peso húmedo por dos horas; después se retiró el alimento remanente por medio de un sifón y cada tercer día se recambió un tercio del agua de los acuarios.

Transcurridos los ocho días de aclimatación se registró la actividad metabólica de rutina, para lo cual los langostinos de cada salinidad experimental fueron mantenidos sin alimentar por 24 horas (Díaz, 1988; Clifford y Brick 1983), de cada salinidad se tomaron 20 organismos en fase de intermuda y se colocaron en 20 cámaras de 250 ml en un respirómetro semi-abierto (figura 7), como el descrito por Barón (1993) a una temperatura de 28 °C; la cámara 21 se usó como control para medir el consumo de oxígeno y la producción de amonio de los microorganismos. Todos los animales que murieron durante el experimento fueron eliminados.

El flujo de agua de las cámaras en el respirómetro se dejó abierto durante dos horas a fin de disminuir el estrés en los organismos producido por la manipulación; antes de cerrar las cámaras se midió la concentración inicial de oxígeno y éstas permanecieron cerradas durante una hora con el fin de evitar que el oxígeno disminuyera más del 25 al 30 % y constituyera un factor de estrés (Stern *et al.*, 1984). Para la medición inicial y final se utilizó, un oxímetro YSI-50B provisto de un sensor polarográfico y los resultados fueron expresados en $\text{mgO}_2\text{h}^{-1}\text{g}^{-1}\text{P.S.}$ Simultáneamente se midió la excreción nitrogenada de los

langostinos con un electrodo de amonio conectado a un analizador de iones (ORION 940) y los resultados se expresaron en $\text{mgN-NH}_4^+\text{h}^{-1}\text{g}^{-1}\text{P.S.}$

Con base en los principios de la termoquímica respiratoria y de la calorimetría indirecta (Brody, 1945 y Brett y Groves, 1979), se calculó la relación atómica O:N para obtener el tipo de sustrato metabólico utilizado por los organismos en las diferentes salinidades experimentales (Clifford, 1979; Clifford y Brick, 1979). Un intervalo de 20 a 25 indica que se catabolizan lípidos y carbohidratos; valores más bajos implican que las proteínas son oxidadas y estimaciones más altas indican que se están usando los carbohidratos (Mayzaud y Conover, 1988).

Para medir la presión osmótica en *Macrobrachium tenellum*, a los organismos provenientes de cada salinidad se les hizo una punción en la membrana toraco-abdominal (previamente secada con papel absorbente) por medio de una pipeta automática y se les extrajeron 10 μl de hemolinfa. Las muestras se colocaron en un osmómetro de vapor Wescor 5500 a fin de evaluar la presión osmótica y los datos se expresaron en mmol/Kg .

Finalmente, los organismos se etiquetaron y se introdujeron en una estufa BLUE-M a 60 °C hasta obtener su peso seco.

III.1 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de consumo de oxígeno, excreción nitrogenada, relación atómica O:N y osmorregulación, se procesaron utilizando una hoja de cálculo "EXCEL" (versión 5.0).

A los parámetros fisiológicos analizados se les aplicó un análisis exploratorio de datos, en donde los valores de consumo de oxígeno, excreción de amonio, relación atómica O:N y osmorregulación se representaron en diagramas de cajas en paralelo (Tukey, 1977).

Los valores de las respuestas fisiológicas medidos en cada condición experimental de salinidad se ordenaron en forma creciente para identificar la mediana (M) como medida de tendencia central, para lo cual se utilizó al paquete de computo "STATGRAPHIC" (versión 5.0). Los intervalos de confianza ($P < 0.05$) de la mediana, se calcularon mediante la expresión:

$$Ic = M \pm 1.58(\Delta H/\sqrt{n}) \quad 1$$

Donde 1.58 es una constante, ΔH es la diferencia entre la H_i (cuartil inferior) y H_s (cuartil superior) y \sqrt{n} es la raíz cuadrada del numero de observaciones en cada tratamiento.

Para poder observar si existían diferencias entre las respuestas de los parámetros fisiológicos a las variaciones de salinidad, se procedió a utilizar una análisis de varianza, para lo cual a los valores obtenidos en cada salinidad se les probó la normalidad (Kolmogorov-Smirnov), con el paquete estadístico SIGMASTAT (versión 1.01 Jandel) y al no cumplir

con el requisito de homogeneidad en sus varianzas, se procedió a utilizar análisis de varianza no-parámtrico de Kruskal-Wallis. Para determinar cuál salinidad tuvo mayor efecto sobre el consumo de oxígeno, excreción nitrogenada y la relación atómica O:N en *M. tenellum* se analizaron con una prueba de Dunn's.

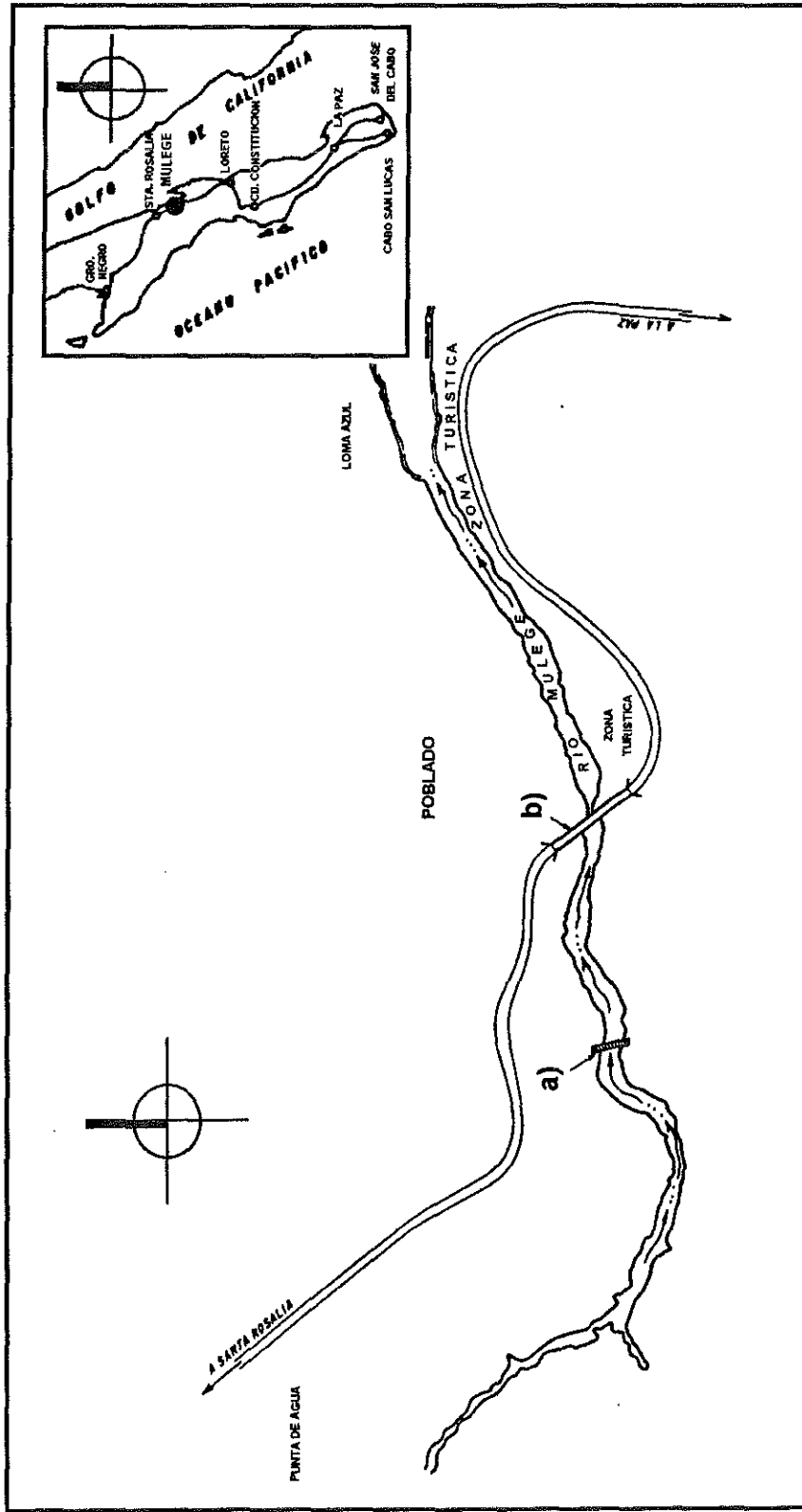


Figura 1. Estaciones de muestreo. Mulegé, Baja California Sur, México ($26^{\circ} 54' 19''$ Latitud N y 112° Longitud O).
 a) La Presa b) El Puente.

Tabla I Análisis proximal del alimento proporcionado a *Macrobrachium tenellum*, con base en un 35 % de proteínas.

| | |
|--|--------|
| PROTEÍNA DE ORIGEN ANIMAL ($\pm 2\%$) | 17.5 % |
| PROTEÍNA DE ORIGEN VEGETAL ($\pm 2\%$) | 17.5 % |
| LÍPIDOS ($\pm 1\%$) | 8.0 % |
| CARBOHIDRATOS ($\pm 1\%$) | 32.0 % |
| CENIZAS | 4.48 % |
| FIBRA CRUDA | 7.78 % |
| HUMEDAD ($\pm 4\%$) | 7.21 % |
| Kcal/g | 4.23 |

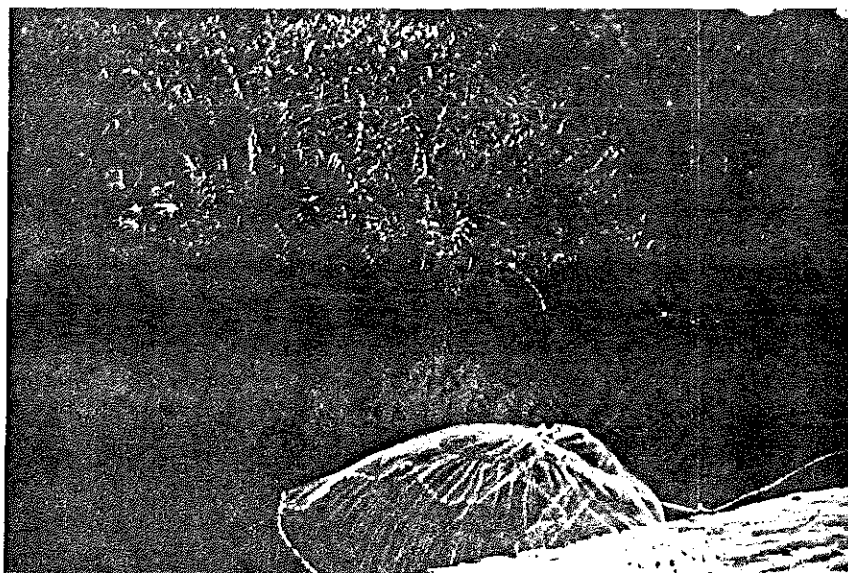


Figura 2. Recolecta de *Macrobrachium tenellum* con atarraya.

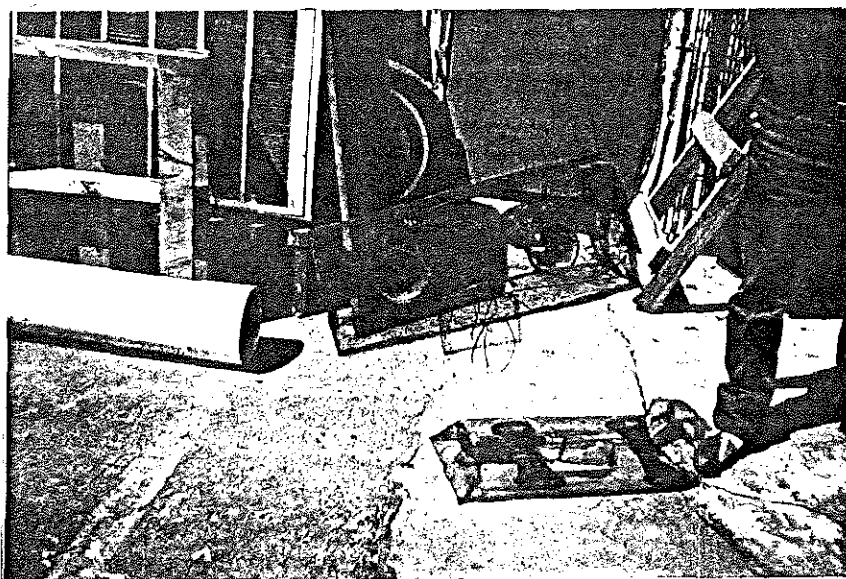


Figura 3. Jaulas colocadas a lo largo de las estaciones de muestreo para la captura de *M. tenellum*.

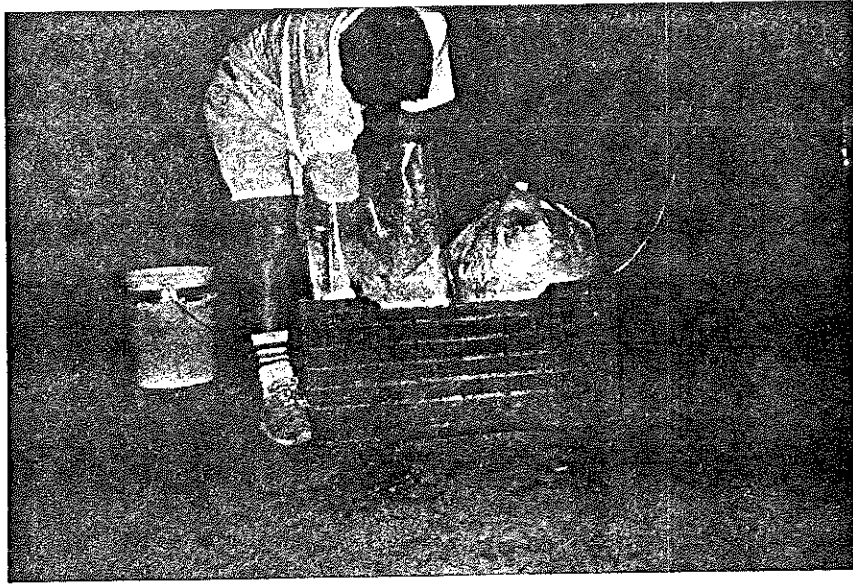


Figura 4. Transporte de los langostinos en bolsas de plástico con agua del medio y oxígeno a saturación.

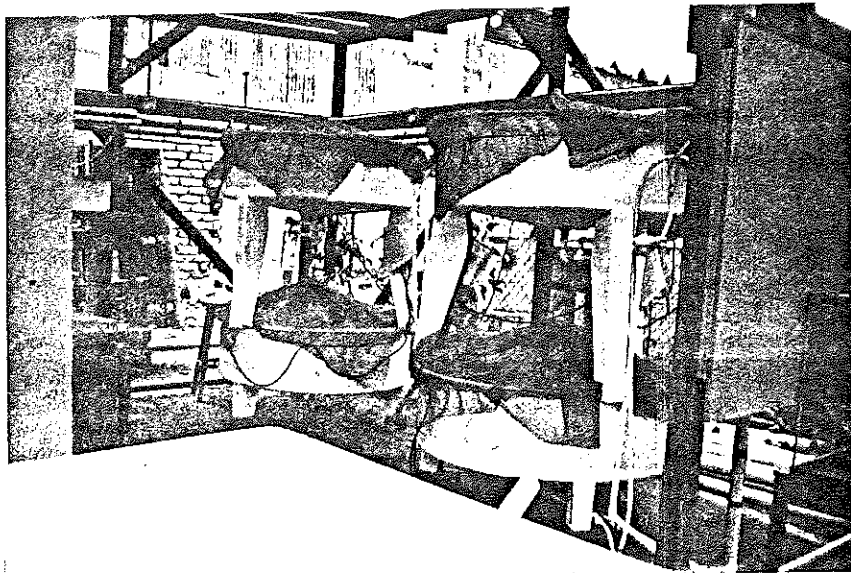


Figura 5. Estanques para el mantenimiento de los langostinos recolectados en Mulegé, Baja California Sur.

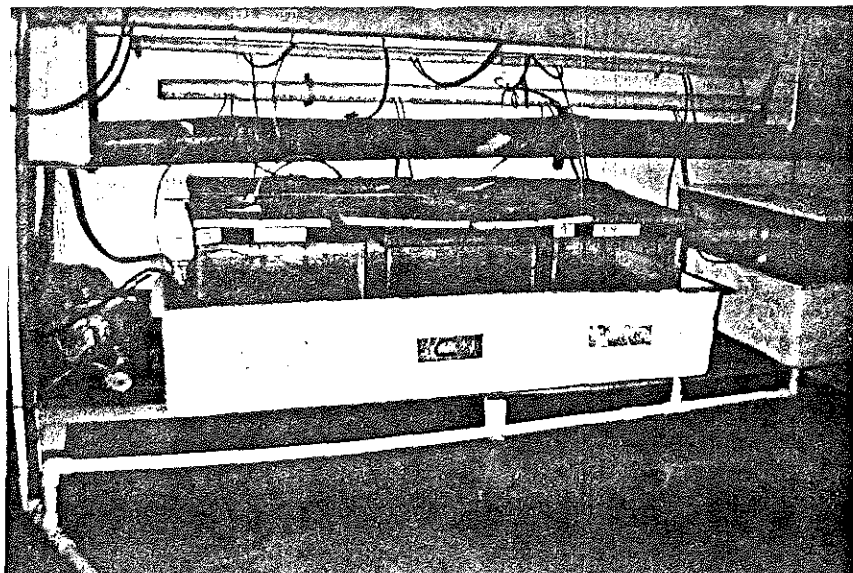


Figura 6. Acuarios para la aclimatación de *Macrobrachium tenellum* a las diferentes salinidades utilizadas (0, 3, 6, 9, 12, 17, 22 y 27 ‰), asegurados con una rejilla de protección para evitar que los organismos salieran fuera de los acuarios.

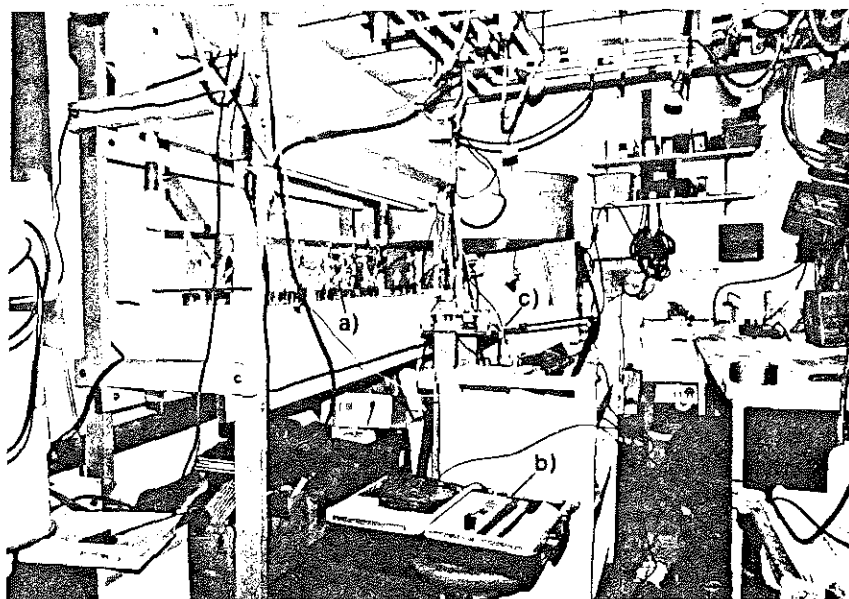


Figura 7. Respirómetro semi-abierto, compuesto de a) 21 cámaras respirométricas, b) oxímetro YSI-50B provisto de un sensor polarográfico, y c) un electrodo de amonio conectado a un analizador de iones (ORION 940).

IV RESULTADOS

El consumo de oxígeno de *Macrobrachium tenellum*, registró $3.33 \text{ mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ P.S.}$ en 0 ‰, tuvo un incremento significativo de $2.43 \text{ mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ P.S.}$ ($P < 0.05$) en 3 ‰, disminuyó hasta $1.73 \text{ mgO}_2 \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1} \text{ P.S.}$ en 12 ‰, permaneció constante en 17 ‰ y se incrementó de nuevo ($P < 0.05$) hasta llegar a $4.14 \text{ mgO}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ P.S.}$ en 27 ‰ (figura 8). Con base en la prueba de Dunn's se determinó que los animales expuestos a las salinidades de 12 y 17 ‰ fueron afectados significativamente ($P < 0.05$) en el consumo de oxígeno por que se registró la tasa mínima en los animales expuestos a estas salinidades.

La tasa de excreción nitrogenada de *M. tenellum* en las diferentes salinidades no tuvo diferencias significativas ($P < 0.05$), permaneciendo constante en un intervalo de 0.11 a 0.15 $\text{mgN-NH}_4^+ \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ P.S.}$ (figura 9)

La relación atómica O:N obtenida para *M. tenellum* a las diferentes salinidades tuvo un intervalo de 7.78 a 27.56 (figura 10). Se obtuvo un valor de la relación de 20.03 a 27.56 en los organismos expuestos a 0 y 3 ‰ respectivamente, disminuyendo significativamente ($P < 0.05$) hasta 12 ‰ donde se registró el valor mínimo de 7.78, se mantuvo constante hasta 17 ‰ y se incrementó hasta 20.42 en 27 ‰ ($P < 0.05$). La prueba de Dunn's indicó que las salinidades de 12 y 17 ‰ generaron un mayor efecto en los organismos debido a que bajo estas condiciones, la relación atómica O:N disminuyó drásticamente.

En la concentración osmótica de la hemolinfa en *M. tenellum* se observó el siguiente patrón de regulación: los organismos mantuvieron una concentración osmótica de la

hemolinfa de 485 a 512 mmol/Kg en salinidades de 0 a 12 ‰ (= 63 a 390 mmol/Kg) manteniéndose hiperosmóticos en este intervalo; la presión osmótica de la hemolinfa de los organismos se igualó a la del medio externo en la salinidad de 17 ‰ (= 533 mmol/Kg), obteniéndose el punto isosmótico para la especie. Finalmente, la concentración de la hemolinfa de *M. tenellum* tuvo un intervalo de 562 a 565 mmol/Kg en las salinidades de 22 y 27 ‰ (= 659 a 850 mmol/Kg respectivamente) comportándose hiposmótico bajo estas condiciones (figura 11).

V DISCUSIÓN

El género *Macrobrachium* está considerado como colonizador reciente de biotopos dulceacuícolas (Ortmann, 1902; Hedgpeth, 1957). Muchas especies de langostinos son dependientes de las aguas salinas para completar su desarrollo larval y otras exhiben una amplia diferenciación respecto a la tolerancia de la salinidad, capacidad osmorregulatoria y patrones de consumo de oxígeno (Read, 1984; McNamara, 1987).

En este estudio, al exponer a *Macrobrachium tenellum* a las diferentes salinidades, la tasa de consumo de oxígeno puede considerarse una respuesta del tipo II propuesto por Kinne (1971); en la que el metabolismo respiratorio se incrementó en salinidades bajas, disminuyendo hasta mantenerse constante en salinidades intermedias (12 y 17 ‰) donde se registraron los valores mínimos y se incrementó en salinidades altas.

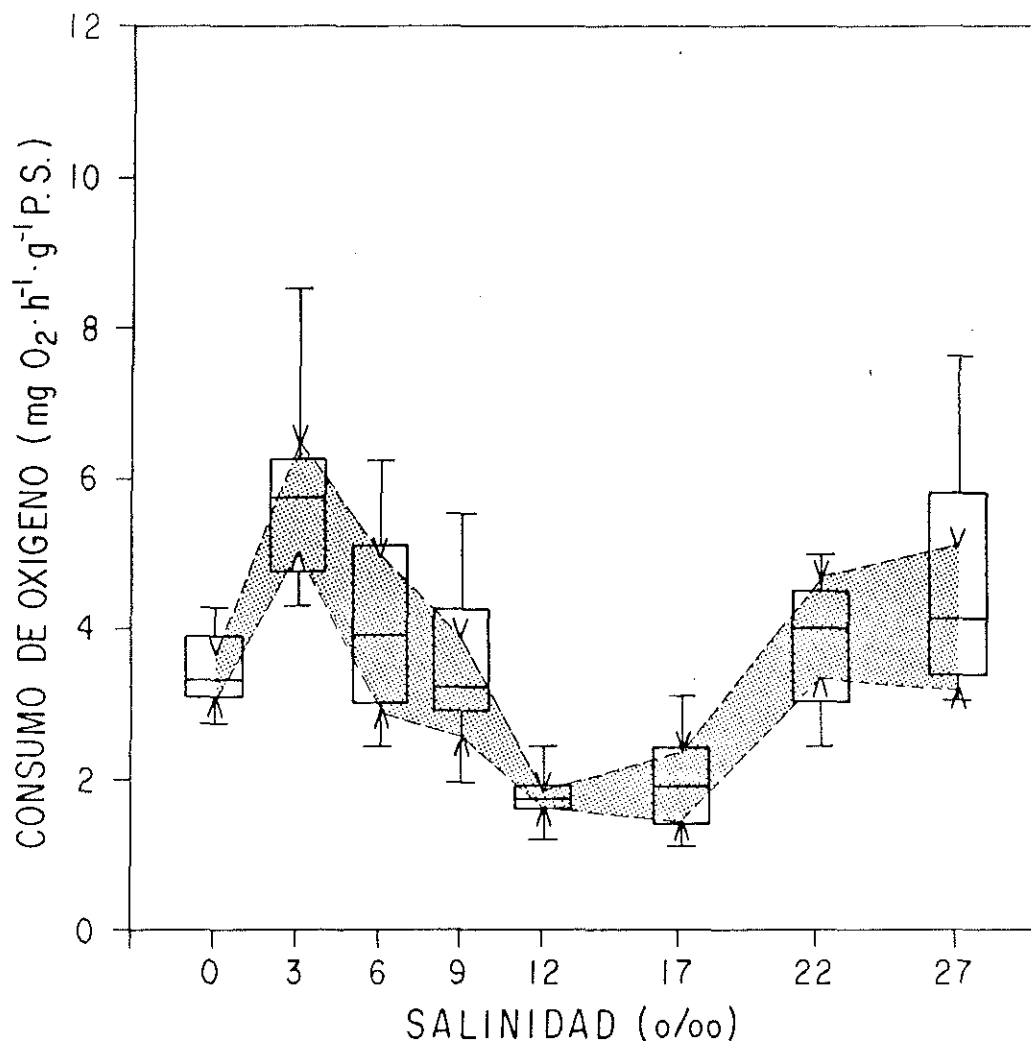


Figura 8. Tasa de consumo de oxígeno de *Macrobrachium tenellum* expuesto a diferentes salinidades. La zona sombreada representa el intervalo de confianza de la mediana al 95 %.

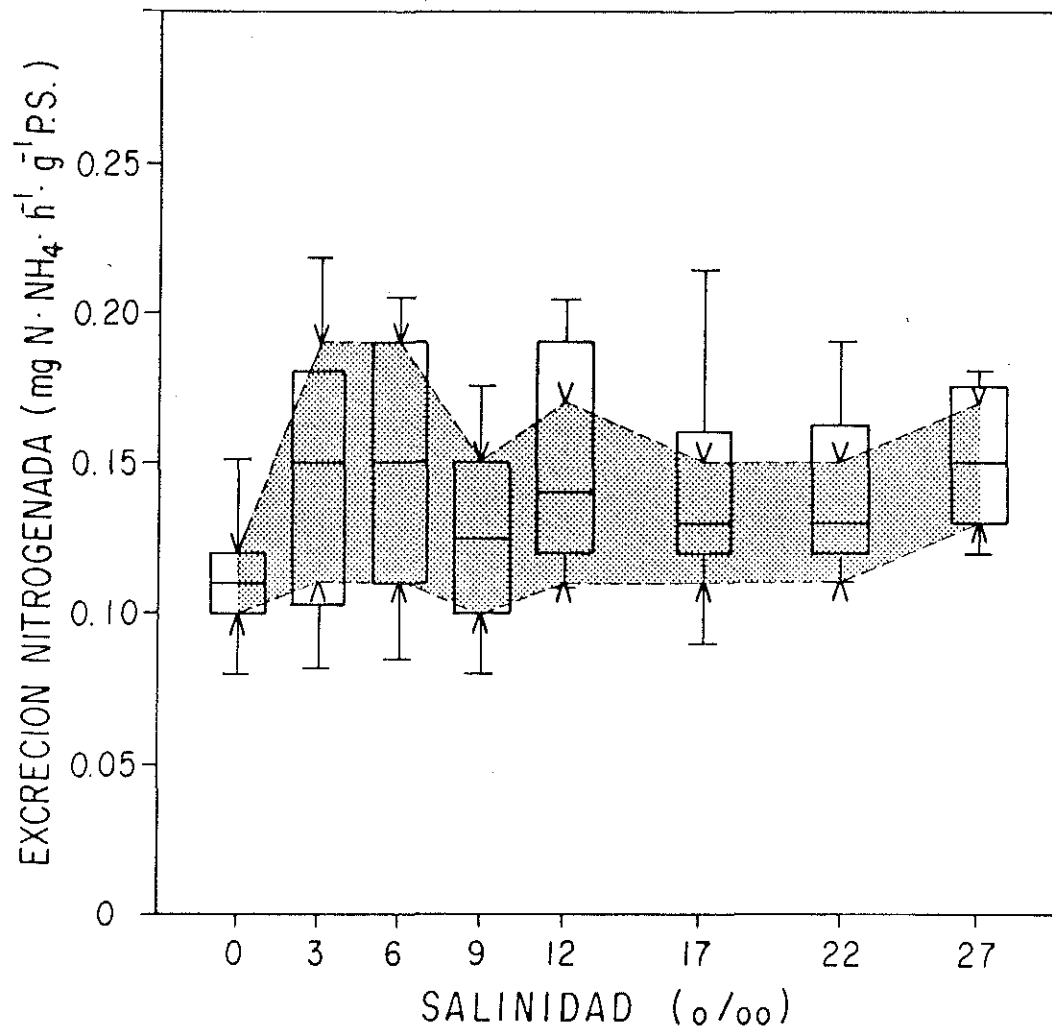


Figura 9. Excreción nitrogenada de *M. tenellum* en diferentes salinidades. La zona sombreada representa el intervalo de confianza de la mediana al 95 %.

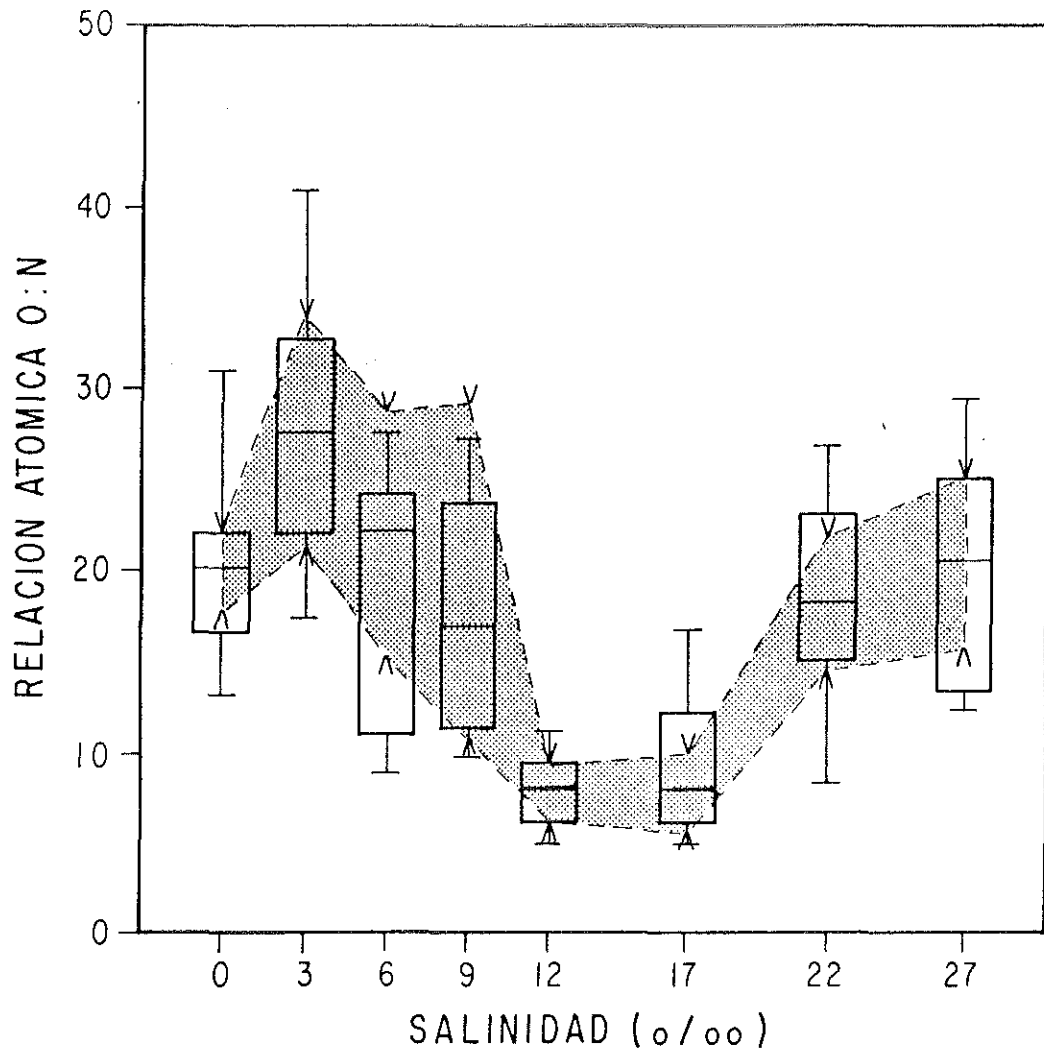


Figura 10. Relación atómica O:N de *M. tenellum* expuesto a diferentes salinidades. La zona sombreada representa el intervalo de confianza de la mediana al 95 %.

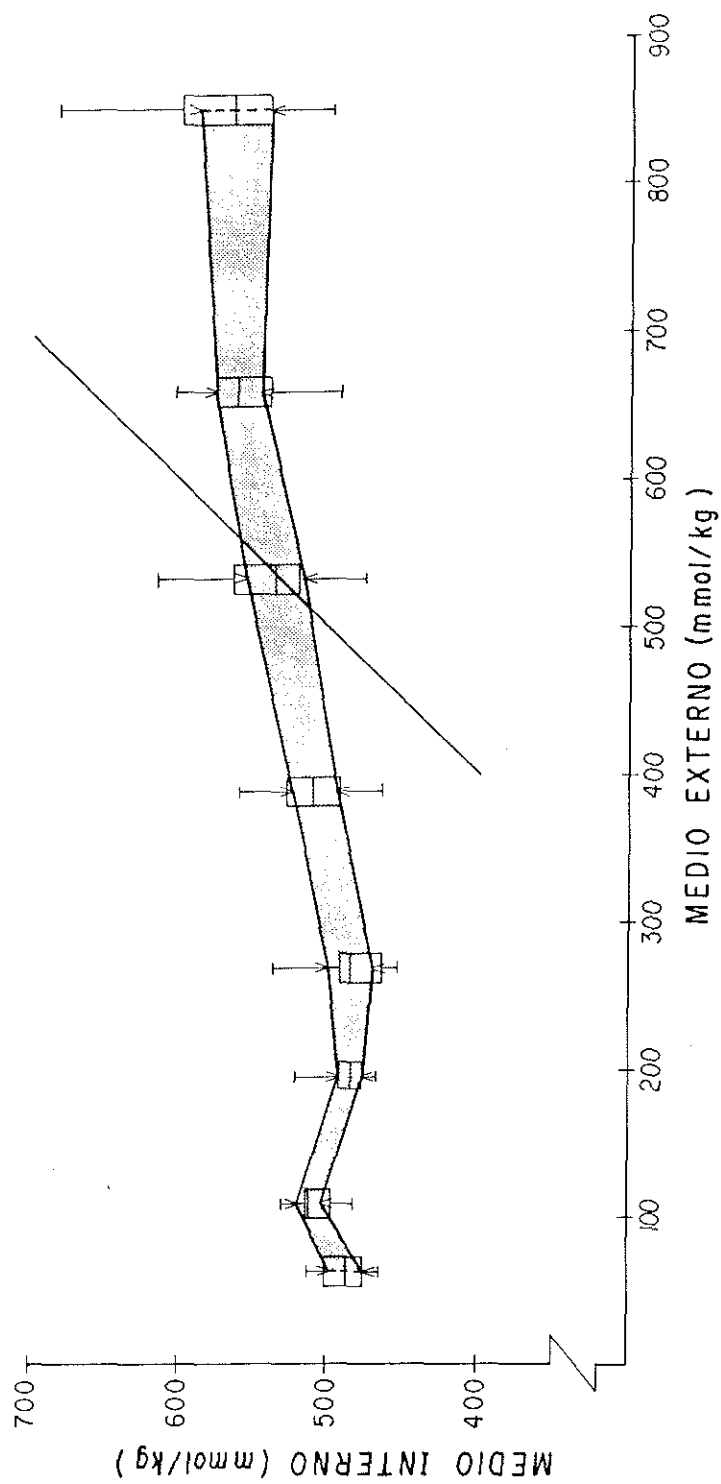


Figura 11. Patrón de osmorregulación de *M. tenellum*. La diagonal de 45° es la línea de igualdad del medio interno y externo. La zona sombreada representa el intervalo de confianza de la mediana al 95 %.

Este tipo de respuesta está asociado con un incremento en el trabajo osmótico, principalmente en aquellas salinidades donde se requirió un gasto mayor de energía para mantener el acentuado gradiente osmótico entre el medio interno del organismo y el externo (Flemister & Flemister, 1951; Dehnel, 1960; Lance, 1965 y Kutty *et al.*, 1971).

Resultados similares se han encontrado en crustáceos como *Ocypode albicans* (Flemister & Flemister, 1951), *Palaemonetes varians* (Lofts, 1956), *Metapenaeus monoceros* (Rao, 1958), *Penaeus indicus* (Kutty *et al.*, 1971), en postlarvas de *Macrobrachium rosenbergii* (Díaz *et al.*, 1993), en las zoeas de *M. amazonicum* (McNamara *et al.*, 1983) y en los adultos de *M. potiuna* (Moreira *et al.*, 1983).

La variación de la tasa metabólica en relación con la salinidad podría estar destacando la capacidad de *M. tenellum* para penetrar y desarrollar una existencia completa en el agua dulce; lo que han hecho algunas otras especies del género como *M. borelli*, *M. potiuna* y *M. iheringi* las cuales para su reproducción ya se independizaron del agua salobre (Lee & Fielder, 1982).

Las investigaciones en relación con el efecto de la salinidad sobre la excreción de amonio en los crustáceos son escasas; actualmente se sabe que ésta puede incrementarse o disminuir en respuesta a las variaciones de la salinidad (Regnault, 1987), como se ha observado en *Carcinus maenas* (Needham, 1957), *Penaeus japonicus* (Spaargaren *et al.*, 1982) y *Macrobrachium rosenbergii* (Díaz *et al.*, 1993); esto ha permitido postular una relación entre la magnitud de la producción de amonio y la actividad de la bomba de

intercambio $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ debido a un aumento en el metabolismo de los aminoácidos en respuesta al estrés osmótico (Armstrong *et al* 1981; Spaargaren *et al.*, 1982).

Los resultados del presente estudio, no apoyan esta hipótesis, ya que en *Macrobrachium tenellum* la tasa de excreción nitrogenada se mantuvo constante, lo cual sugiere una independencia de la salinidad cuando los organismos fueron hiperosmóticos e hiposmóticos.

La aparente ausencia en *M. tenellum* de un mecanismo de intercambio $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ para balancear la concentración osmótica de la hemolinfa en esos medios, puede deberse a lo mencionado por Kormanik y Cameron (1981), que la excreción de amonio ocurrió por difusión pasiva, lo que sugiere que si esta especie tuviere una bomba $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ de intercambio activo, en el intervalo de salinidades estudiadas podría ser desventajoso desde el punto de vista energético.

La relación atómica O:N indica el tipo de sustrato metabólico que es oxidado por los organismos en diferentes salinidades. Se observó que *Macrobrachium tenellum* fue afectado de manera significativa ($P < 0.05$) por el estrés osmótico; en el agua dulce y salinidades bajas (0-9 ‰), catabolizaron como principal sustrato energético una mezcla de lípidos y carbohidratos; sin embargo, en la medida que se incrementó la salinidad, el catabolismo de las proteínas también aumentó con respecto al de carbohidratos y lípidos, hasta llegar a ser el principal sustrato energético en las salinidades intermedias de 12 y 17 ‰, donde la relación O:N tuvo valores de 7.78 y 7.79, respectivamente. Posteriormente, los organismos

en salinidades de 22 y 27 ‰ incrementaron la relación O:N hasta 20.42, usando nuevamente una mezcla de lípidos y carbohidratos como principal sustrato energético.

Snow y Williams (1971), observaron que durante la temporada de invierno *Palaemonetes varians* catabolizó proteínas y, en el verano, la relación O:N se incrementó a 34.2, utilizando carbohidratos y/o lípidos. Dall y Smith (1986), trabajando con *Penaeus esculentus* mantenidos en inanición, obtuvieron una relación atómica O:N de 7, con lo que demostraron que el catabolismo energético se basó exclusivamente en las proteínas.

Regnault (1981) reportó que *Crangon crangon*, en condiciones normales, tiene una relación O:N de 27, lo que reflejó un catabolismo de lípidos y carbohidratos; sin embargo, al someterlo a un estrés continuo, la relación O:N disminuyó hasta 10, indicando que sólo se catabolizaron proteínas. En *Macrobrachium rosenbergii* (Stern *et al.*, 1984) sometido a diferentes medios salinos e iónicos, la relación O:N fue de 22.6 en medios diluidos empleando lípidos-carbohidratos como sustrato energético principal, en tanto que en salinidades altas, la relación O:N disminuyó hasta 12.2, por lo que se incrementó el catabolismo de proteínas. En postlarvas y juveniles de la misma especie, Díaz *et al.* (1993) indican que la relación atómica O:N cambió de acuerdo al estrés osmótico, utilizando lípidos-carbohidratos en los medios diluidos y proteínas en las salinidades altas.

Muchas investigaciones han sugerido que el trabajo osmótico de un organismo podría ser mínimo cuando el medio externo y los fluidos corporales del organismo están en equilibrio (Canagaratnam, 1959; Ryther y Bardach, 1968, Panikkar, 1969), especulando que bajo estas condiciones isosmóticas los requerimientos de oxígeno podrían ser bajos, así

como la mortalidad natural de los organismos se reduciría y, en estas circunstancias, se podría cultivar en un volumen de agua el máximo número de organismos.

Sin embargo, en *M. tenellum* se encontró que bajo condiciones isosmóticas (figura 11), cataboliza como principal sustrato energético a las proteínas, demostrando que en esas condiciones, el estrés del animal fue mayor que el de los organismos mantenidos en agua dulce y ligeramente salobre (0 a 9 ‰) y el incremento de los valores de la relación O:N observado en salinidades altas (22-27 ‰), en donde *M. tenellum* vuelve a utilizar una mezcla de carbohidratos y lípidos, balancea nuevamente el gasto energético.

En su ambiente natural, los estadios juveniles y adultos de *M. tenellum* normalmente viven en agua dulce o aguas de baja salinidad y como pasan la mayor parte de su vida en estos medios, un incremento en la salinidad conlleva a un requerimiento de mayor energía para contrarrestar los cambios y mantener acentuado su flujo osmótico. En esta especie, el catabolismo de las proteínas se incrementa en las salinidades cercanas al punto isosmótico, lo que ocasiona que éstas sean utilizadas para contrarrestar los cambios de salinidad.

La salinidad es considerada como un factor crítico en aquellas especies que en alguna etapa de su vida todavía requieren agua salobre para su sobrevivencia y desarrollo, como es el caso de *M. tenellum* que al enfrentarse a esta situación el factor puede modificar de manera importante numerosas respuestas funcionales que a la vez desencadenan mecanismos de regulación (Kinne, 1971; Vernberg y Vernberg, 1972).

Macrobrachium tenellum tuvo un patrón de regulación hiperosmótico en salinidades bajas; el punto isosmótico se registró en las salinidades de 17 ‰ y después reguló hiposmóticamente (figura 11).

Vernberg y Vernberg (1972) presentan un esquema comparativo general de las respuestas osmorregulatorias en organismos marinos estuarinos y dulceacuícolas e identifican cuatro tipos: 1.) Perfecto osmorregulador, 2). Perfecto osmoconformador, 3). Hiperosmorregulador en medios diluidos y 4) Hiper-Hiporegulador. De los resultados de osmorregulación y acorde a estos patrones comparativos *M. tenellum* pertenece al tipo 4 de respuesta osmorregulatoria. Lo que sugiere una gran capacidad osmorreguladora similar a la reportada para otras especies catadromicas del género *Macrobrachium*, como *M. rosenbergii* (Singh 1980; Díaz *et al* 1993); *M. ohione* (Castille & Lawrence 1981); *M. carcinus* (Moreira *et al.*, 1981) y *M. acanthurus*, *M. heterochirus* (Moreira *et al.*, 1983) las cuales mantienen una concentración de la hemolinfa hiperosmótica en salinidades bajas e hipoconforman en salinidades por arriba del punto isosmótico. Esta capacidad osmorregulatoria es semejante a lo que se ha reportado en crustáceos enteramente dulceacuícolas (Shaw, 1959 y Lockwood 1962).

Para colonizar los medios dulceacuícolas, las especies anteriormente citadas han desarrollado mecanismos adaptativos, como permeabilidad reducida de la superficie corporal a sales y/o agua, producción de orina hiposmótica y una captación activa de iones, los que pueden reducir los costos energéticos a menos del 10 % en el mantenimiento del balance de agua y sales y posiblemente el 1% de la energía se usaría para propósitos de osmorregulación (Potts, 1954; Vernberg y Vernberg 1972). McNamara *et al.* (1990), añade que tales mecanismos de regulación osmótica e iónica, aparentemente están bajo un control neuroendocrino.

Por otra parte Read (1984,1986) dividió a las especies de langostinos en tres grupos, los cuales reflejan la extensión de sus adaptaciones al agua dulce, de acuerdo a los diferentes patrones de osmorregulación que poseen. *M. olfersii* forma el grupo de organismos menos adaptados al agua dulce; *M. acanthurus*, *M. heterochirus*, *M. potiuna* y *M. petersi* constituyen el segundo grupo en el que los langostinos poseen adaptaciones intermedias y el tercer grupo lo constituyen *M. rosenbergii*, *M. ohione* y *M. australiense*, que están mejor adaptados al agua dulce, porque mantienen una concentración de la hemolinfa hiperosmótica en medios diluidos.

M. tenellum puede ser colocado en el segundo y tercer grupo, ya que su patrón de osmorregulación hiper-hiposmótico lo capacita para estar en una situación intermedia. Su punto isosmótico registrado en este trabajo es cercano al reportado en algunas de las especies incluidas en ambos grupos (tabla 2).

Tabla II. Puntos isosmóticos de algunas especies del género *Macrobrachium*.

| ESPECIE | PUNTO ISOSMÓTICO (‰) | AUTOR |
|------------------------|-------------------------|------------------------------|
| <i>M. rosenbergii</i> | 18 | Stephenson y Knight (1980). |
| <i>M. potiuna</i> | 19.3 | Moreira <i>et al.</i> (1983) |
| <i>M. acanthurus</i> | 22.4 | Moreira <i>et al.</i> (1983) |
| <i>M. heterochirus</i> | 22.6 | Moreira <i>et al.</i> (1983) |
| <i>M. tenellum</i> | 17 | Este trabajo |

Con base en lo anterior, se sugiere que *Macrobrachium tenellum* se encuentra en proceso de invadir el ambiente dulceacuícola.

Los resultados en *M. tenellum* expuesto a la variación de la salinidad, indican que el consumo de oxígeno mínimo se obtuvo en salinidades intermedias (17‰), en las cuales también se reporta el punto isosmótico de la especie donde la relación O:N describe un incremento del catabolismo de las proteínas. Todo esto sugiere que la hipótesis de Panikkar (1969), de que en condiciones de isosmoticidad, la energía que se utilizaría en osmorregulación sería canalizada a crecimiento, no es aplicable para *M. tenellum* y es similar a lo propuesto para *M. rosenbergii* por Singh (1980).

Las altas salinidades no son adecuadas para cultivar a *M. tenellum* lo que se puede explicar por lo mencionado por Singh (1980), que la mayoría de las especies pertenecientes al género *Macrobrachium* llevan a cabo gran parte de su ciclo de vida en hábitat dulceacuícolas o ligeramente salobres, ya que en su crecimiento, ocurrido a través de la muda requiere de una gran captación de agua cuando su cutícula es blanda, para posteriormente endurecerla y el espacio ocupado por el agua subsecuentemente reemplazado por tejido (Mantel y Farmer, 1983). Lo anterior genera un gradiente osmótico, en el cual los organismos mantenidos en agua dulce absorben más cantidad de agua, fundamental para el proceso de muda, que los organismos situados en salinidades altas, los cuales presentan una desventaja osmótica importante para el proceso de crecimiento, disminuyendo así la probabilidad de alcanzar un tamaño similar a los organismos mantenidos en agua dulce o ligeramente diluida.

La información obtenida en este trabajo sobre el consumo de oxígeno, excreción nitrogenada, relación atómica O:N y osmorregulación de *M. tenellum* a diferentes salinidades es de gran utilidad para determinar las limitaciones y/o capacidades fisiológicas de esta especie, ya que su conocimiento es un requisito esencial para el manejo de los recursos renovables (Clifford y Brick, 1979). Sin embargo, es necesario continuar con los estudios ecofisiológicos del balance energético en *M. tenellum* a fin de establecer modelos que permitan optimizar y establecer las condiciones adecuadas para racionalizar las prácticas de cultivo en condiciones intensivas. Por lo anterior se sugiere que esta especie se puede cultivar en aguas con salinidades de 0 a 9 ‰, ya que en este intervalo las proteínas contenidas en el alimento pueden ser utilizadas para crecimiento, lo que es el objetivo de las prácticas acuiculturales.

VI CONCLUSIONES

- La tasa de consumo de oxígeno en *M. tenellum*, expuesto a las diferentes salinidades (0, 3, 6, 9, 12, 17, 22 y 27 ‰) tuvo una respuesta tipo II (Kinne, 1971), en la que el metabolismo respiratorio se incrementó en salinidades bajas, disminuyendo hasta mantenerse constante en salinidades intermedias (donde se registraron los valores mínimos) y se incrementó en salinidades altas. Dicho comportamiento respiratorio destaca la adaptación de esta especie para penetrar y desarrollar una completa existencia en el agua dulce.
- La tasa de excreción nitrogenada se mantuvo constante en respuesta a las variaciones de la salinidad, tanto en organismos bajo condiciones hiperosmóticas como hiposmóticas. Al parecer la excreción de amonio en *M. tenellum* ocurrió por difusión pasiva y no por la presencia de una bomba de intercambio activo $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$, la que, en el intervalo de salinidades estudiadas, podría ser desventajosa desde el punto de vista energético.
- *M. tenellum* fue afectado de manera significativa ($P < 0.05$) por el estrés osmótico al que fue sometido, catabolizando una mezcla de lípidos y carbohidratos en presencia de agua dulce y en medios ligeramente salinos; sin embargo, coincidente con el incremento de la salinidad hasta llegar a 12 y 17 ‰, el principal sustrato energético fueron las proteínas. Posteriormente, en salinidades de 22 y 27 ‰, los organismos volvieron a usar una mezcla de lípidos y carbohidratos.

- *M. tenellum* tuvo un patrón de regulación hiperosmótico en salinidades bajas, se registró un punto isosmótico en la salinidad de 17 ‰ para después regular hiposmóticamente por arriba de éste, lo cual corresponde al comportamiento de un organismo eurihalino.

- Finalmente, se puede sugerir que el cultivo de esta especie puede llevarse a cabo en aguas con salinidades de 0 a 9 ‰, ya que en este intervalo las proteínas contenidas en el alimento pueden ser utilizadas en otros procesos fisiológicos, como el crecimiento, que es el objetivo principal en las prácticas acuiculturales.

LITERATURA CITADA

- Armstrong, D. A., K. Strange, J. Crowe, A. Knight y M. Simmons. 1981. High salinity acclimation by the prawn *Macrobrachium rosenbergii*: Uptake of exogenous ammonia and changes in endogenous nitrogen compounds. Biol. Bull. 160: 349-365.
- Barber, B.J. and N.J. Blake. 1985. Substrate catabolism related to reproduction in the bay Scallop *Argopecten irradians* as determined by O/N and RQ physiological indexes Mar. Biol. 87: 13-18
- Barón, S. B. 1993. Bioenergetica de *Procambarus clarkii* (Girard) (Decapoda: Cambaridae). Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. (C.I.C.E.S.E.). 46 pp.
- Brett, J.R. y T. D. Groves. 1979. Physiological energetics. In: Fish physiology: bionergetics and growth. Vol. III (W.S. Hoar., J. J. Randall and J. R. Brett eds). Academic Press, New York. 307-313.
- Brody, S. P. 1945. Bionergetics and growth. Reinhold Publishing Corporation. New York U.S.A. 307-313.
- Cabrera, J., C. Chávez y C. Martínez 1979. Fecundidad y Cultivo de *Macrobrachium tenellum* (Smith 1871) en el laboratorio. An. Inst. Biól. Univ. Nal. Aut. de Méx. UNAM., 1: 127-152.
- Canagaratnam, P. 1959. Growth of fishes in different salinities. J. Fish. Res. Board Can., 16: 121-130.

- Castille, F.L. y A.L. Lawrence. 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of the freshwater shrimps, *Macrobrachium ohione* Smith and *Macrobrachium rosenbergii* de Man. *Comp. Biochem. Physiol.* 70A:47-52.
- Clifford, H. C. 1979. Protein metabolism and energetics in the freshwater shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. Masters Thesis, Texas A&M University, College Station, Texas.
- Clifford, H. C. y R. W. Brick. 1979. A physiological approach to the study of growth and bioenergetic in the fresh water shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*. *Proc. World. Mar. Soc.* 10: 701-719.
- Clifford, H. C. y R. W. Brick. 1983. Nutritional physiology of the freshwater shrimp *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) -I. Substrate metabolism in fasting juvenile shrimp. *Comp. Biochem. Physiol.* 74A(3):561-568.
- Dall, W. and D. M. Smith. 1986. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns *Penaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture* 55: 23-33.
- Dehnel, P. A. 1960. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of two intertidal crabs. *Biol. Bull.*, 118: 215-249.
- Díaz, I.E. 1988. Aspectos de la fisiología de animales acuáticos. Edit. Pueblo y producción 103 pp. La Habana Cuba.

- Díaz, H. F., R. F. Bückle y S. A. Reichelt. 1993. Osmorregulación y campo de crecimiento de *Macrobrachium rosenbergii* (Crustácea: Palaemonidae). Rev. Biol. Trop., 41(3): 585-590.
- Eckert, R. D., Randall y G. Augustine. 1990. Fisiología animal. Mecanismos y adaptaciones. Capítulo 12. Osmorregulación y excreción. p 387-429. Interamericana. McGraw-Hill. 3era edic. Los Angeles California.
- Flemister, L. J. & S. C. Flemister. 1951. Chloride ion regulation and oxygen consumption in the crab *Ocypode albicans* (BOSC). Biol. Bull. 101: 259-273.
- Gasca, L., J. C. Martínez and L. Ross 1991. The Respiratory requirements of *Macrobrachium acanthurus* (Weigman) at different temperatures and salinities. Aquaculture. 93 : 191-197
- Guest, W. C. y P. P. Durocher. 1979. Palaemonid shrimp, *Macrobrachium amazonicum*: Effects of salinity and temperature on survival. Prog. Fish-Cult. 41:(1)14-18.
- Guzmán, A. M. 1987. Biología, ecología y pesca del langostino *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871), en lagunas costeras del estado de Guerrero, México. Tesis de doctorado en Ciencias del Mar. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Colegio de Ciencias y Humanidades. U.N.A.M. 306 p.
- Haberfield, E. C., L. Hass y C. S. Hamman. 1975. Early ammonia release by a polychaete *Nereis virens* and a crab *Carcinus maenas* in diluted seawater. Comp. Biochem. Physiol. 52A: 501-503.

- Hagerman, L. 1970. The oxygen consumption of *Crangon vulgaris* (Fabricus) (Crustacea, Natantia) in relation to salinity. *Ophelia* 7: 283-292.
- Hedgpeth, J. W. 1957. Estuaries and lagoons. II. Biological aspects. In, *Treatise on marine ecology and palaeology*, by (J. W. Hedgpeth, ed.) Geol. Soc. Am. Mem. 67 (1): 693-729.
- Hernández, R. M. 1992. Interacción de la salinidad y la temperatura sobre el metabolismo respiratorio, excreción nitrogenada y osmorregulación del camarón café *Penaeus aztecus* (Crustacea: Penaeidae) de la Laguna de Tamiahua, Veracruz. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 32 pp.
- Hernández, R. M., R. L. F., Bückle y H. F. Díaz. 1995. Preferred temperature of *Macrobrachium tenellum* (Crustacea, Palaemonidae). *Rivista Italiana Acquacultura* 30:93-96.
- Holthuis, L.B. 1952. A. general revision of the Palaemonidae (Crustacea: Decapoda: Natantia) of the America. II The subfamily Palaemonidae. Allan Hancock Found, Publ., Dec. Pap., 12: 11-132.
- Kinne, O. 1971. Salinity: Animal Invertebrates. In (O. Kinne ed.): *Marine Ecology* 1(2): 821-995. John Wiley & Sons., London.
- Kormanik, G. A. and J. N. Cameron. 1981. Ammonia excretion in the sea water blue crab *Callinectes sapidus* occurs by diffusion and not $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ exchange. *J. Comp. Physiol.*, 141: 457-462.

- Kutty, M. N., G. Murugapoopath & T. S. Krishnan. 1971. Influence of salinity and temperature on the oxygen consumption in young juveniles of the Indian prawn *Penaeus indicus*. Mar. Biol. 11: 125-131.
- Lance, J. 1965. Respiration and osmotic behaviour of the copepod *Acartia tonsa* in diluted sea water. Comp. Biochem. Physiol. 14: 155-165.
- Lee, C. L. & D. R. Fielder. 1982. The effect of salinity and temperature on the larval development of the freshwater prawn, *Macrobrachium australiense* Holthuis. 1950 from south eastern Queensland, Australia. Aquaculture 26: 167-172.
- Lockwood, A. P. M. 1962. The osmoregulation of Crustacea. Biol. Rev. (37): 257-305.
- Lofts, B., 1956. The effects of salinity changes on the respiratory rate of the prawn *Palaemonetes varians* (Leach). J. Exp. Biol., 33: 730-736.
- Mantel, L.H., L.L. Farmer. 1983. Osmotic and ionic regulation. In (L. H. Mantel ed.): The biology of crustacea. Academic Press. Vol. (5): 54-161.
- Martínez, P. C., C. Chávez y G. Palomo. 1980. Avances sobre el semicultivo del langostino *Macrobrachium tenellum* (Smith 1871). 643-662. Memorias del segundo simposio Latinoamericano de Acuicultura, Departamento de Pesca, México.
- Mayzaud, P. y R. J. Conover. 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. Mar. Ecol. Prog. Ser., 45: 289-302.
- Mc Namara, J.C., G. Soares Moreira & P. S. Moreira. 1983. The effects of salinity on the metabolism, survival and moulting in the first zoea of *Macrobrachium amazonicum* (Heller) (Crustacea, Palaemonidae). Hydrobiologia. 101: 239-242.

- McNamara, J. C., G. S. Moreira & S. C. Souza. 1986. The effect of salinity on respiratory metabolism in selected ontogenetic stages of the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Decapoda, Palaemonidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 83A: 359-364.
- McNamara, J.C. 1987. The time course of osmotic regulation in the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersi* (Wiegmann) (Decapoda, Palaemonidae) *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 107: 245-251.
- Mc Namara, J.C. y G.S. Moreira. 1987. O₂ consumption and acute salinity exposure in the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann) (Crustacea: Decapoda): whole animal and tissue respiration. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 113: 221-230.
- McNamara, J. C., L. C. Salomão & E. R. Ribeiro. 1990. The effect of eyestalk ablation on haemolymph osmotic and ionic concentrations during acute salinity exposure in the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersi* (Wiegmann) (Crustacea, Decapoda) *Hydrobiologia.* 199 : 193-199.
- Moreira, G. S., J. C. McNamara, P. S. Moreira and S. E. Shumway. 1981. Osmorregulação em *Macrobrachium acanthurus* e *Macrobrachium carcinus* (Decapoda: Palaemonidae). *Cienc. Cult. suppl.*, São Paulo, Brazil. 33:626.
- Moreira, G. S., J. C. McNamara, S. E. Shumway y P. S. Moreira, 1983. Osmoregulation and respiratory metabolism in Brazilian *Macrobrachium* (Decapoda, Palemonidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 74 (1): 57-62.
- Needham, A. E. 1957. Factors affecting nitrogen excretion in *Carcinus maenas* (Pennant). *Physiol. Comp. Oecol.* 4: 209-239.

- Ortmann, A. E. 1902. The geographical distribution of freshwater decapods and its bearing upon ancient geography. *Proc. Am. Phil. Soc.* 41: 267-400
- Panikkar, N. K. 1969. Osmotic behaviour of shrimps and prawns in relation to their biology and culture. *F.A.O. Fish. Rep.* 57: 527-538.
- Ponce, P.J., E. Navarrete y O. Salazar. 1986. Análisis del crecimiento del langostino *Macrobrachium tenellum* en la unidad de producción Acuícola "El Higuerón", Mor. En: I. Simposio de la Asociación Mexicana de Acuicultura, A.C. Palacio de Minería, México.
- Potts, W. T. W. 1954. The energetics of osmotic regulation in brackish and freshwater animals. *J. Exp. Biol.* 31: 618-630.
- Rao, K. P. 1958. Oxygen consumption as a function of size and salinity in *Metapenaeus monoceros* Fab. from marine and brackish water environments. *J. Exp. Biol.* 35: 307-313.
- Read, G.H. L. 1984. Intraspecific variation in the osmoregulatory capacity of larval, post larval, juvenile and adult *Macrobrachium petersi* (Hilgendorf). *Comp. Biochem. Physiol.* 78A (3): 501-506.
- Read, G. H. L. 1986. A surface response analysis of the role of salinity in the development of larval and postlarval *Macrobrachium petersii*. *Comp. Biochem. Physiol.* 84A: 159-168.
- Regnault, M. 1981. Respiration and ammonia excretion of the shrimp *Crangon crangon*. Metabolic response to prolonged starvation. *J. Comp. Physiol* 141: 549-555

- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. *Biol. Rev.* 62: 1-24.
- Roman, C. R. 1979. Contribución al conocimiento de la biología y ecología de *Macrobrachium tenellum* (Smith) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *An. Centro Ciencias del Mar y Limnología Univ. Nal. Aut. de Méx.*, 6 (2) : 137-160.
- Ryther, J. H. and J. E. Bardach. 1968. The status and potential of aquaculture, particularly invertebrate and algae culture. Vol. I, Parts 1 and 2. U.S. Dept. Commerce; Nat. Bur. Standards, Inst. Appl. Technol., Rep. No. PB 177, 767, 261 pp.
- Sandifer, P. A. , J. S. Hopkins y T. I. J. Smith. 1975. Observations on salinity tolerance and osmoregulation in laboratory reared *Macrobrachium rosenbergii* post larvae (Crustacea: Caridea). *Aquaculture*. 6: 103-114.
- Shaw, J. W. 1959. Salt and water balance in the east African freshwater crab, *Potamon niloticus* (M. Edw.). *J. Exp. Biol.* 36: 157-176.
- Shumway, S. E. 1978. Osmotic balance and respiration in the hermit crab, *Pagurus bernhardus*, exposed to fluctuating salinities. *J. Mar Biol. Ass. U. K.* 58: 869-876
- Singh, T. 1980. The isosmotic concept in relation to aquaculture of the giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 20: 251-256.
- Snow, N. B. and P. B. Williams. 1971. A simple method to determine the ratio O: N of small marine animals. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 51: 105-109.

- Souza, R. C. S. y G. S. Moreira. 1987. Salinity effects on the neuroendocrine control of respiratory metabolism in *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann) (Crustacea, Palaemonidae) Comp. Biochem. Physiol. 87A (2): 399-403.
- 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 (4): 673-678.
- Stephenson, J. M. y A. W. Knight. 1980. The effect of temperature and salinity on oxygen consumption of post-larvae of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Crustacea: Palaemonidae). Comp. Biochem. Physiol. (67A): 699-703.
- Stern, S., A. Borut y 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 (2): 271-274.
- Tuckey, J. W. 1977. Exploratory data analysis. Addison-Wesley. Pub. Co. Massachusetts. 688 p.
- Vanegas, P.R.C. 1992. Efecto de la Salinidad y de la Temperatura sobre el Balance Energético de Juveniles del Camarón café *Penaeus aztecus* Ives (Crustacea Decapoda). Tesis de maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 85 pp.
- Vernberg, W. B., F. J. Vernberg. 1972. Environmental Physiology of Marine Animals Edit. Springer-Verlag. New York. 346 pp.

