

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN
ACUICULTURA



EFFECTO DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL AMONIO Y
NITRITOS EN LARVAS DE *Cryphiops caementarius*, EN
CONDICIONES DE LABORATORIO.

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
BIOLOGO ACUICULTOR**

Autores:

Bach. ELIZABETH DIANA DE LA CRUZ PAZ

Bach. MARIEL PATRICIA MAYO GARCÍA

Asesor:

Dr. Walter Eduardo Reyes Ávalos

Nuevo Chimbote – Perú

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE CIENCIAS

**ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN
ACUICULTURA**

**EFEECTO DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL AMONIO Y
NITRITO EN LARVAS DE *Cryphiops caementarius*, EN
CONDICIONES DE LABORATORIO.**

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
BIOLOGO ACUICULTOR**

Sustentado por:

Bach. ELIZABETH DIANA DE LA CRUZ PAZ

Bach. MARIEL PATRICIA MAYO GARCÍA

Aprobado por el asesor de tesis:

Dr. Walter Eduardo Reyes Ávalos

Nuevo Chimbote – Perú

2014

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
2.1 Material	
2.1.1. Población.....	5
2.1.2. Muestra.....	5
2.1.3. Unidad de análisis.....	5
2.2 Método	
2.2.1 Tipo de estudio.....	5
2.2.2. Diseño de investigación.....	5
2.2.3 Variables y operativización de variables.....	6
2.2.4 Método de recolección de datos.....	6
2.2.5 Transporte de hembras ovigeras.....	7
2.2.6 Identificación y aclimatación de las hembras ovigeras.....	7
2.2.7 Mantenimiento de las hembras ovigeras.....	7
2.2.8 Selección y siembra de las larvas.....	7
2.2.9 Mantenimiento de larvas hasta zoea 6.....	8
2.2.10 Preparación de las soluciones.....	8
2.2.11 Alimento y alimentación de las larvas.....	10

2.2.12 Evaluación de la respuesta subletal.....	11
2.2.13 Evaluación de la respuesta letal.....	11
2.2.14 Calidad física y química del agua.....	11
2.2.15 Análisis estadístico.....	11
III. RESULTADOS	12
3.1 Amonio	12
3.1.1 Primer experimento con Zoea 1 a baja concentración de amonio....	12
3.1.2 Segundo experimento con Zoea 1 a altas concentraciones de amonio.....	13
3.1.3 Tercer experimento con Zoea 6.....	15
3.2 Nitritos	17
3.2.1 Primer experimento con Zoea 1.....	17
3.2.2 Segundo experimento con Zoea 6.....	18
3.3 Calidad de agua.....	20
IV. DISCUSIÓN	21
V. CONCLUSIONES	24
VI. RECOMENDACIONES	24
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXO	30

DEDICATORIA

A mi madre María

A mi hermano Jean Marko

Por todo su amor y apoyo

Durante estos años de vida universitaria.

A Jhon por ser único y especial en mi vida.

Mariel Patricia Mayo García

A la persona más importante de mi vida, mi hija
Diana Alexandra Llanto De La Cruz

A mi padre Clemente

A mi madre Julia

Por su Amor y apoyo incondicional

Durante el transcurso de mi carrera profesional.

Elizabeth Diana de la Cruz paz

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haber estado con nosotras a cada paso que dimos, cuidándonos y dándonos fortaleza para continuar.

A nuestro asesor Dr. Walter Reyes Avalos por brindarnos su tiempo y orientación durante todo el desarrollo de la elaboración de Tesis.

A los docentes de la E.A.P Biología en acuicultura a quienes le debemos gran parte de nuestros conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza.

A la universidad Nacional del Santa la cual nos abrió sus puertas, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

A Yesenia Luna Paz y Jessica Reyes Paz por su apoyo en la ejecución de la tesis.

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto letal y subletal del amonio y nitritos a través de bioensayos de toxicidad aguda de 96 h de *Cryphiops caementarius* en estadios larvales de zoea 1 y zoea 6 provenientes de la eclosión de hembras ovíferas capturadas del río Pativilca. Las concentraciones de amonio fueron (0,38; 0,72; 1,07; 1,37; 1,68 mg NH₃L⁻¹) y nitritos (5, 10, 15, 20 mg NO₂⁻ L⁻¹); para cada prueba de toxicidad la solución fue renovada diariamente. El sistema de crianza de las larvas fue en vasos plásticos de 250 ml con aireación constante; los parámetros físicos químicos se mantuvieron en 20 °C, pH fue mantenido en 8 y la salinidad en 12 ‰. Obteniendo un LC₅₀ para zoea 1 y zoea 6 fue de 1,82 y 0,62 mg NH₃L⁻¹ y para nitritos 17,22 y 14,44 mg NO₂⁻ L⁻¹ a las 96 h, respectivamente.

ABSTRACT

In the present investigation the lethal and sublethal effects of ammonia and nitrite through acute toxicity bioassay 96 h of *Cryphiops caementarius* in larval stages of zoea 1 and zoea hatching from six females captured ovíferas Pativilca River was evaluated. Ammonium concentrations were (0.38, 0.72, 1.07, 1.37, 1.68 mg NH₃L⁻¹) and nitrite (5, 10, 15, 20 mg NO₂⁻ L⁻¹) for each test toxicity solution was renewed daily. The breeding system of the larvae was in plastic cups 250 ml with constant aeration, chemical physical parameters were maintained at 20 °C, pH was maintained at 8 and salinity 12 ‰ Getting A LC₅₀ for zoea 1 and zoea 6. was 1.82 and 0.62 mg NH₃L⁻¹ and 17.22 and 14.44 mg NO₂⁻ L⁻¹ nitrite at 96 h, respectively.

I. INTRODUCCIÓN

El camarón *Cryphiops caementarius* es una especie nativa de los ríos de la cuenca del pacífico sur, abarcando su distribución desde Perú hasta Chile (Wehrmann & Báez, 1997) siendo una especie de gran importancia comercial y para la acuicultura. Es la especie más importante, que habitan en los ríos costeros del centro y sur del Perú siendo la única especie que se explota comercialmente. Los ríos de Arequipa cuentan con apreciables poblaciones de camarón extrayéndose 695 TM en el 2010 (PRODUCE, 2012) pero la extracción indiscriminada de la especie, así como la situación en que se encuentra su medio natural debido al uso de las aguas de los ríos en actividades agrícolas y mineras, ha motivado la realización de estudios sobre la biología y estado de las poblaciones.

La toxicidad aguda está definida como el efecto letal u otro efecto producido en un tiempo relativamente corto, siendo el LC_{50} el valor de la concentración que es letal para el 50 % de los organismos sometidos a la influencia de la sustancia en estudio y en un tiempo dado (APHA-AWWA-WPCF, 1989).

De todos los parámetros de calidad del agua que afectan a los organismos acuáticos, el amonio es muy tóxico cuando está presente en concentraciones altas, y muchas pérdidas de producción sin explicación probablemente han sido causadas por el amonio (Francis *et al.*, 2005). La acumulación de amonio, nitrito y nitrato en el agua de cultivo causa un deterioro en la calidad, provocando efectos agudos y/o subletales sobre los organismos que habitan en las aguas receptoras, siendo el amonio el más tóxico (Frías & Páez, 2000). Conforme aumenta el nivel de amonio en el agua, la excreción de amonio decrece de la mayoría de los animales acuáticos y aumenta el nivel de amonio en la hemolinfa y tejidos; este incremento puede tener serios efectos sobre la fisiología del animal a nivel celular, de órganos y sistemas (Colt & Armstrong, 1981). El mecanismo más directo de toxicidad letal del amonio es el deterioro del metabolismo de la energía cerebral debido al elevado gasto de compuestos de energía en el cerebro (Smart, 1978). En el caso del nitrito, este se combina con la hemocianina en la sangre de los camarones y reduce drásticamente la capacidad de la sangre para transportar oxígeno (Boyd, 2004).

En una solución acuosa el amonio está presente en la forma de ión amonio o amonio ionizado (NH_4^+) y amoniaco o amonio no-ionizado (NH_3), la suma de ambos constituye

el amonio total ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$). La proporción de cada uno en solución acuosa depende del pH y, en menor medida, de la temperatura y la salinidad (Thurston *et al.*, 1981), pero el NH_3 es más tóxico, debido a su capacidad de difundir fácilmente a través de las membranas celulares en crustáceos (Allan *et al.*, 1990).

En larvicultura de *Macrobrachium rosenbergii*, Mallasen & Valenti (2005) recomiendan valores menores de $0,06 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$, en cambio Nandlal & Pickering (2005) indican que el NH_3 no debe exceder de $0,10 \text{ mgL}^{-1}$ en hatchery al igual que Lee & Wickins (1999) y Correia *et al.* (2000). Para postlarvas de la misma especie también $0,10 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ es el máximo nivel de concentración aceptable, niveles superiores causan efectos letales y subletales (Wickins, 1976).

Para cultivos de postlarvas del género *Penaeus* es aceptable concentraciones de $0,10 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ (Wickins, 1976). El nivel seguro de NH_3 para la cría de postlarvas de camarones marinos como *Penaeus paulensis* en estanques es de $0,11 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ (Ostrenky & Wasielesky, 1995). En cambio Alcaráz *et al.* (1999) consideran que para el cultivo de postlarvas de *P. setiferus* las concentraciones de NH_3 debe estar por debajo de $0,40 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$. Por lo tanto los niveles máximos aceptables de NH_3 son similares para el cultivo de larvas y postlarvas de camarones de agua dulce como marinos y son sensibles a muy bajas concentraciones.

Mallasen & Valenti (2005) mencionan que para larvas de *M. rosenbergii* la tolerancia a altas concentraciones de NH_3 decrece después de pasar al estadio zoea 8, es decir concentraciones de $0,85 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ produce 87 % de mortalidad en el desarrollo larval desde zoea 1 hasta zoea 8; esta misma concentración de NH_3 a las 48 h produce 100 % de mortalidad en zoea 8. Ostrensky & Wasielesky (1995), también señalan que en larvas de *P. paulensis* la tolerancia a NH_3 es menor cuando estas se acercan al estadio postlarval denominándola como etapa de transición en términos de sensibilidad al amoniaco.

Armstrong *et al.* (1978) reportan, LC_{50} a las 24 h para larvas de *M. rosenbergii* a concentraciones de $2,10$ y $3,58 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ en un medio con pH $7,60$ y $8,34$, respectivamente, porque según Díaz (1995), un incremento de una unidad de pH eleva la concentración de NH_3 a 10 veces. En larvas del cangrejo de río *Scylla serrata*, Lucke & Colin (2005), encontraron el LC_{50} a las 24 y 48 h de $4,01$ y $3,27 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$, respectivamente; siendo estos organismos más resistentes que los camarones de río.

Comparando con larvas de camarones marinos, Wickins (1976), determinó para siete especies de peneidos (*P. aztecus*, *P. japonicus*, *P. occidentalis*, *P. orientalis*, *P. schmitti*, *P. semisulcatu* y *P. setiferus*), un LC_{50} a las 48 h de $1,29 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$. Chin & Chen (1987) reportaron para *P. monodon* un LC_{50} a las 96 h a una concentración de $0,96 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$. Ostrensky & Wasielesky (1995) reportaron para larvas de *P. paulensis* un LC_{50} a las 96 h a una concentración de $0,85 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$. Por consiguiente en larvas de camarones marinos el LC_{50} a las 96 h es cercano a $1,0 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$.

En postlarvas de *P. setiferus*, Alcaraz *et al.* (1999) obtuvieron el LC_{50} a las 72 h a una concentración de $1,12 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$. Chin & Chen (1987) encontraron que el LC_{50} a las 96 h en *P. monodon* fue de $1,04 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ y Lin *et al.* (1993), también reportaron LC_{50} a las 96 h para *P. japonicus* a una concentración del $1,30 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$. Las postlarvas de peneidos toleran concentraciones de NH_3 más elevados que las larvas.

El nitrito puede estar presente en los sistemas de cultivo a niveles tóxicos, como contaminante puesto que como un producto intermediario durante la nitrificación, puede estar presente a altas concentraciones aún con recambios de frecuentes de agua (Alcaráz *et al.*, 1999). En *M. rosenbergii*, Mallesen & Valenti (2006) demostraron que las larvas toleran hasta $2 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ y que a una concentración de $16 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ hay una mortalidad de 100 %. Armstrong *et al.* (1976) hallaron el LC_{50} a las 24 y 96 h a concentraciones de $27,7$ y $11,5 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ respectivamente. Chen & Lee (1997) encontraron el LC_{50} a concentraciones de $12,5 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ a las 24 h y $12,2 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ a las 96 h.

En cambio para el cultivo de postlarvas de camarones marinos como *P. setiferus* las concentraciones de nitrito debe estar por debajo de $5 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ (Alcaraz *et al.*, 1999). Además, Catedral *et al.* (1977) observaron una sobrevivencia del 60 % al ser sometidas a $15 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$. Chen & Chin (1988) ensayaron con *P. monodon* encontrando un LC_{50} a las 96 h a una concentración de $13,6 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$. Chen & Tu (1990) obtuvieron un LC_{50} para *P. japonicus* a una concentración de $13,0 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ a las 96 h. Ostrensky & Poersch (1992) hallaron el LC_{50} para *P. paulensis* a una concentración de $10,7 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ a las 96 h. En peneidos las postlarvas son más tolerantes al NO_2 que las larvas.

En *C. caementarius*, solo se dispone de escasos trabajos donde se reportan los parámetros de la calidad de agua de crianza de larva. Así, Luna *et al.* (1985) reportan haber criado larvas a niveles máximos de amonio de $1,21 \text{ mgL}^{-1}$. Portugal *et al.* (2003) indican que los niveles de amonio y nitrito no deben exceder de $0,15 \text{ mgL}^{-1}$ y

0,25mgL¹, respectivamente. Sin embargo, en estos trabajos no se relacionan la calidad de agua con la mortalidad de las larvas.

Aunque no existe una relación directa entre los resultados de los bioensayos llevados a cabo bajo condiciones de laboratorio con respecto a las condiciones de campo, esta información es útil para cultivos bajo condiciones controladas.

No se conoce los niveles permisibles de amonio y nitrito en larvas de *C. caementarius*, por ello el conocimiento de los efectos letales y subletales de estos tóxicos permitirá mejorar la supervivencia y producción. Por consiguiente se plantea el siguiente problema de investigación ¿Cuál es el efecto de la toxicidad aguda del amonio y nitrito en larvas de *C. caementarius*, en condiciones de laboratorio?.

Es importante realizar diversos estudios para desarrollar la camaronicultura de esta especie. La presente investigación proporcionara los límites permisibles tanto de amonio como de nitrito que este organismo puede tolerar en un cuerpo de agua ya que con frecuencia son factores de estrés que conducen a la enfermedad, y en otros casos a la muerte siendo los responsables de pérdidas inexplicables en la acuicultura al igual que cualquier otro parámetro de la calidad del agua.

Por consiguiente, de acuerdo a la literatura revisada de la toxicidad de amonio y nitrito en larvas de otras especies de crustáceos, la hipótesis establece que si en condiciones de laboratorio sometemos a toxicidad aguda a larvas de *C. caemantarius* usando diferentes concentraciones de amonio (0,38; 0,72; 1,07; 1,37; 1,68 mg NH₃L⁻¹) y nitrito (5, 10, 15, 20 mg NO₂⁻L⁻¹) entonces se obtendrá un LC 50 a las 96 h a 1,07 mg NH₃L⁻¹ y 15 mg NO₂⁻L⁻¹.

Como objetivo general se propuso evaluar el efecto de la toxicidad aguda del amonio y nitritos en larvas de *C. caementarius*, en condiciones de laboratorio.

Los objetivos específicos fueron:

- Determinar el LC₅₀ a las 96 h del amonio y los nitritos en larvas de *C. caementarius*.
- Determinar el efecto subletal que causa el amonio y los nitritos en larvas de *C. caementarius*.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Material

2.1.1 Población

Las Hembras ovíferas de *C. caementarius* fueron capturados del río Pativilca, ubicado en Pativilca, provincia de Barranca - Región Lima. La población fue de 10 hembras ovíferas con diferentes estadios de desarrollo embrionario.

2.1.2 Muestra

La muestra provino de la eclosión de larvas de una sola hembra, la que fue de aproximadamente 3000 larvas, extrayéndose 510 larvas en estadio zoea 1 para iniciar la experiencia; y el resto avanzaron hasta zoea 6 de las cuales se extrajo 330 larvas.

2.1.3 Unidad de análisis

La unidad de análisis estuvo conformada por el 100 % de larvas sembradas en cada uno de los vasos de los tratamientos.

2.2 Método

2.2.1 Tipo de estudio

Experimental

2.2.2 Diseño de investigación

Se empleó el diseño de estímulo creciente tanto para las pruebas con amonio (6 tratamientos) como de nitrito (5 tratamientos) cuyos tratamientos (T) tuvieron tres repeticiones cada uno, siendo estos los siguientes:

PRUEBAS CON AMONIO

Primer experimento con zoea 1 a bajas concentraciones de amonio

- T1= Sin NH_3 (control)
- T2= Con $0,38 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$
- T3= Con $0,72 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$
- T4= Con $1,07 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$
- T5= Con $1,37 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$
- T6= Con $1,68 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$

Segundo experimento con zoea 1 a altas concentraciones de amonio

- T1= Sin NH_3 (control)
- T2= Con $1,07 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$
- T3= Con $1,37 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$
- T4= Con $1,68 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$
- T5 = Con $2,01 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$
- T6 = Con $2,36 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$

Tercer experimento con Zoea 6 a bajas concentraciones de amonio

T1= Sin NH₃ (control)

T2= Con 0,38 mg NH₃L⁻¹

T3= Con 0,72 mg NH₃L⁻¹

T4= Con 1.07 mg NH₃L⁻¹

T5= Con 1.37 mg NH₃L⁻¹

T6= Con 1,68 mg NH₃L⁻¹

PRUEBAS CON NITRITOS

Primer experimento con zoea 1

T1= Sin NO₂ (control)

T2= Con 5 mg NO₂⁻L⁻¹

T3= Con 10 mg NO₂⁻L⁻¹

T4= Con 15 mg NO₂⁻L⁻¹

T5= Con 20 mg NO₂⁻L⁻¹

Segundo experimento con zoea 6

T1= Sin NO₂ (control)

T2= Con 5 mg NO₂⁻L⁻¹

T3= Con 10 mg NO₂⁻L⁻¹

T4= Con 15 mg NO₂⁻L⁻¹

T5= Con 20 mg NO₂⁻L⁻¹

2.2.3 Variables y operacionalización de variables

Variable independiente: concentraciones de amonio (0,38; 0,72; 1,07; 1,37; 1,68; 2,01; 2,36 mg NH₃L⁻¹) y nitritos (5, 10, 15, 20 mg NO₂⁻L⁻¹)

Variable dependiente: Toxicidad aguda de larvas de camarón de río *C. caementarius*. La toxicidad aguda fue operacionalizado mediante el efecto letal y el efecto subletal producido en 96 h.

2.2.4 Método de recolección de datos

Evaluación del efecto letal: La sobrevivencia fue evaluada cada 24 h obteniendo el porcentaje del total de organismos vivos por cada tratamiento hasta los 96 h.

Evaluación del efecto subletal: Para valorar el desempeño de los efectos subletales en larvas de *C. caementarius* fue evaluado el comportamiento natatorio.

Determinación del LC₅₀: Las concentraciones letales (LC₅₀) fueron obtenidas de los ejemplares muertos en término de número; utilizando el programa de análisis Probit con límites de confianza al 95 %.

2.2.5 Transporte de hembras ovíferas

Las hembras ovíferas fueron transportadas al Laboratorio de Acuarística de la Universidad Nacional del Santa en baldes de plástico de 20 L de capacidad para lo cual cada una de las hembras fueron aisladas dentro de vasos plásticos, para evitar el canibalismo. Durante su traslado fue usado constantemente un aireador a baterías.

2.2.6 Identificación y aclimatación de hembras ovíferas

En el laboratorio las 10 hembras ovíferas de camarones fueron identificados mediante la clave taxonómica propuesta por Méndez (1982). Una muestra de los huevos de cada una de las hembras fueron extraídos para identificar a través de un microscopio binocular el estado de desarrollo embrionario, según Reyes *et al.* (2009).

2.2.7 Mantenimiento y selección de hembras

Los organismos fueron mantenidos en acuarios de vidrio de 60 cm de largo por 30 cm de ancho y 35 cm de altura con una capacidad de 30 L, dentro de los acuarios cada hembra fueron separadas en vasos transparentes de acuerdo al estado del desarrollo embrionario. Cuando los embriones estuvieron en estado 8, las hembras fueron trasladadas a otro acuario y utilizada para la eclosión aquella que presentó mayor estadio de madurez. Se usó agua potable declorada con tiosulfato de sodio (15 %) a una proporción de 1ml: 1L. Los camarones fueron alimentados con pellets comercial una vez al día (18 hrs), con una tasa de alimentación de 2 % de su biomasa total. Cada mañana los acuarios fueron limpiados mediante el sistema de sifón para extraer las sobras de alimento y desechos fecales.

2.2.8 Selección y siembra de larvas

Luego de la eclosión fueron seleccionadas las larvas que mostraron una locomoción y coloración normal, movimientos coordinados. Fueron seleccionados 510 larvas para iniciar la experiencia en estadio zoea 1 y 330 cuando llegaron a estadio 6. La densidad de siembra fue de 40 larvas/L, sembrando 10 larvas por vaso de 300 mL. El sistema de crianza estuvo constituido por 84 vasos plásticos transparentes de 300 mL de capacidad y volumen efectivo de agua de 250 mL cada uno con agua salobre a (12 ‰) y aireación continua.



Fig. 1: Sistema de crianza de larvas de *C. caementarius*

2.2.9 Mantenimiento de larvas hasta zoea 6

Después de la eclosión los organismos fueron mantenidos en una medio con agua salobre a (12 ‰) y aireación continua. Se inició su alimentación al segundo día después de la eclosión con nauplios recién eclosionados de *Artemia* a una densidad de 75-80 nauplios/larva cada 24 h, para ello diariamente fue decapsulado 1,0 g de cistos de *Artemia* para sembrar y cosecharlos a las 48 h. Las larvas fueron muestreadas constantemente para seguir el avance de sus estadios en base a la clave propuesta por hasta llegar al estadio 6 en aproximadamente 15 días.

2.2.10 Preparación de soluciones

Para cada prueba de toxicidad aguda, la solución fue preparada diariamente de acuerdo al método indicado por APHA-AWWA-WPCF (1989), la misma que fue renovada diariamente.

2.2.10.1 Amonio

Fue empleado cloruro de amonio (NH_4Cl) con la cual fue realizado los siguientes cálculos para obtener 1000 mg de amonio puro.

$$\frac{PM_{\text{NH}_4^+}}{PM_{\text{NH}_4\text{Cl}}} = \frac{18,03}{53,49} = 0,336 \#$$

La solución stock fue obtenido de la dilución de 3,36 g de NH_4Cl en 1L de agua con una salinidad de 12‰ a partir de ello fueron realizado diluciones hasta llegar a la concentraciones requeridas (Tabla 1).

Tabla 1: Concentraciones de amonio total ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$)

Concentración prueba (mg/l)	ml de solución stock	ml de H ₂ O
10	10	990
19	19	981
28	28	972
35	35	965
44	44	956
55	55	945
62	62	938

Concentraciones propuestas de amonio total $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ fue constatado con el Test Nutrafin ($\pm 0,1 \text{ mg l}^{-1}$) de determinación de amonio total.

La fracción de amoníaco no ionizado en solución acuosa fue obtenido midiendo los valores de pH y temperatura (Tabla 2) propuesta por Emerson *et al.* (1975). La cantidad de amonio no ionizado (Tabla 3) fue calculado con la siguiente formula: $\text{NH}_3 = \text{NH}_4^+ + \text{NH}_3 (\text{mg l}^{-1}) \times F$. Donde F es factor de la Tabla 2.

Tabla 2: Fracción de amoníaco no ionizado en solución acuosa a diferentes valores de pH y temperatura propuesta por Emerson *et al.* (1975).

pH	Temperature													
	42.0 (°F)	46.4	50.0	53.6	57.2	60.8	64.4	68.0	71.6	75.2	78.8	82.4	86.0	89.6
	6 (°C)	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32
7.0	.0013	.0016	.0018	.0022	.0025	.0029	.0034	.0039	.0046	.0052	.0060	.0069	.0080	.0093
7.2	.0021	.0025	.0029	.0034	.0040	.0046	.0054	.0062	.0072	.0083	.0096	.0110	.0126	.0150
7.4	.0034	.0040	.0046	.0054	.0063	.0073	.0085	.0098	.0114	.0131	.0150	.0173	.0198	.0236
7.6	.0053	.0063	.0073	.0086	.0100	.0116	.0134	.0155	.0179	.0206	.0236	.0271	.0310	.0369
7.8	.0084	.0099	.0116	.0135	.0157	.0182	.0211	.0244	.0281	.0322	.0370	.0423	.0482	.0572
8.0	.0133	.0156	.0182	.0212	.0247	.0286	.0330	.0381	.0438	.0502	.0574	.0654	.0743	.0877
8.2	.0210	.0245	.0286	.0332	.0385	.0445	.0514	.0590	.0676	.0772	.0880	.0998	.1129	.1322
8.4	.0328	.0383	.0445	.0517	.0597	.0688	.0790	.0904	.1031	.1171	.1326	.1495	.1678	.1948
8.6	.0510	.0593	.0688	.0795	.0914	.1048	.1197	.1361	.1541	.1737	.1950	.2178	.2422	.2768
8.8	.0785	.0909	.1048	.1204	.1376	.1566	.1773	.1998	.2241	.2500	.2774	.3062	.3362	.3776
9.0	.1190	.1368	.1565	.1782	.2018	.2273	.2546	.2836	.3140	.3456	.3783	.4116	.4453	.4902
9.2	.1763	.2008	.2273	.2558	.2861	.3180	.3512	.3855	.4204	.4557	.4909	.5258	.5599	.6038
9.4	.2533	.2847	.3180	.3526	.3884	.4249	.4618	.4985	.5348	.5702	.6045	.6373	.6685	.7072
9.6	.3496	.3868	.4249	.4633	.5016	.5394	.5762	.6117	.6456	.6777	.7078	.7358	.7617	.7929
9.8	.4600	.5000	.5394	.5778	.6147	.6499	.6831	.7140	.7428	.7692	.7933	.8153	.8351	.8585
10.0	.5745	.6131	.6498	.6844	.7166	.7463	.7735	.7983	.8207	.8408	.8588	.8749	.8892	.9058
10.2	.6815	.7152	.7463	.7746	.8003	.8234	.8441	.8625	.8788	.8933	.9060	.9173	.9271	.9389

Tabla 3: Concentraciones de amonio total y amonio no ionizado

Concentraciones prueba de $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ (mgL^{-1})	Concentraciones prueba de NH_3 (mgL^{-1})
10	0.38
19	0.72
28	1.07
36	1.37
44	1.68
55	2.10
62	2.36

2.2.9.2 Nitritos

Se empleó nitrito de sodio (NaNO_2) realizando los siguientes cálculos para obtener 1000 mg de nitrito puro.

$$\frac{FM \text{ NaNO}_2}{FM \text{ NO}_2} = \frac{50,52}{33,49} = 1,4$$

Para la prueba de toxicidad de nitrito se preparó una solución stock con 1,4 g de NaNO_2 en 1L de agua a una salinidad de 12 ‰. A partir de ello fue se realizaron diluciones hasta llegar a concentraciones de 5, 10, 15 y 20 mg/L (Tabla 4).

Tabla 4: Concentraciones de nitrito

Concentración prueba (mg/l)	ml de solución stock mgL^{-1}	ml de H_2O
5	5	995
10	10	990
15	15	985
20	20	980

2.2.11 Alimento y alimentación de larvas

Las larvas de *C. caementarius* fueron alimentadas al segundo día después de la eclosión con nauplios recién eclosionados de *Artemia* a una densidad de 3 nauplios/ml cada 24 h, para ello diariamente fue decapsulado 0,5 g de cistos de *Artemia* para sembrar y cosecharlos a las 48 h.

2.2.12 Evaluación de la respuesta subletal

Las características de evaluación de los organismos frente al amonio y nitritos fue evaluado de acuerdo al comportamiento de la actividad natatoria. La evaluación fue realizado cada 0,5 h durante 2 h y luego a intervalos de 4 h hasta 96 h.

Tabla 5: Características de evaluación subletales de *C. caemanterius* frente a sustancias tóxicas.

Hipoactividad natatoria larval (hNL)	(1) Sin reacción, síntomas de aletargamiento, no responden a estímulos mecánicos. (2) Larvas permanecen inmóviles en el fondo del recipiente.
Actividad natatoria larval normal (ANNL)	(3) Desplazamiento normal en toda la columna de agua, reacción rápida a estímulos mecánicos brindados.
Hiperactividad natatoria larval (HNL)	(4) Rápida reacción de escape, saltan fuera del agua.

2.2.13 Evaluación de la supervivencia

La supervivencia fue evaluada cada 24 h. Una larva muerta fue considerada aquella que no respondió a un estímulo con una varilla de plástico flexible. Las larvas muertas fueron retiradas de inmediato obteniendo el porcentaje del total de organismos muertos por cada tratamiento.

2.2.14 Calidad física y química del agua

La temperatura fue registrado dos veces al día con un termómetro de mercurio ($\pm 1^\circ$ C). El pH fue mantenido en 8 midiendo cada 6 h con pHmetro Pocket pH-Meter Can BNC (± 0.1 unidades). La salinidad fue mantenida a 12 ‰ y fue monitoreada con un refractómetro de (0,1 ‰).

2.2.15 Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado con ANVA (análisis de varianza) y la prueba de Tukey a un nivel de significancia de ($p < 0.05$), todos los resultados fueron analizados utilizando el el Software SPSS versión 18 y Probit Analysis Program para desarrollar las curvas dosis-respuesta para cada tratamiento.

III. RESULTADOS

3.1 AMONIO

3.1.1 Primer experimento con zoea 1 a baja concentración de amonio

Efecto letal: Durante las primeras 48 h, no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) en la supervivencia de las zoeas 1 de *C. caementarius*. El grupo control las larvas mantuvieron 100 % de supervivencia. En 0,38; 0,72 y 1,07 mg NH_3L^{-1} la sobrevivencia fue de 90 % a las 96 h, mientras que en 1,37 mg NH_3L^{-1} fue de 75 % a las 96 h, y en 1,68 mg NH_3L^{-1} hubo menor sobrevivencia de larvas con 55 % a las 96 h (Anexo 1; Fig. 2). El LC_{50} a las 96 h fue de 1,82 mg NH_3L^{-1} (Fig. 3).

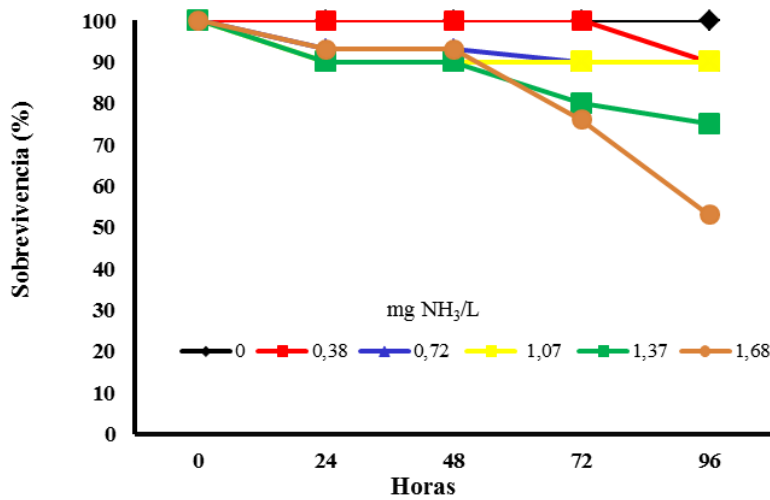


Fig. 2: Sobrevivencia de zoea 1 de *C. caementarius* expuestos a bajas concentraciones de amonio durante 96 h.

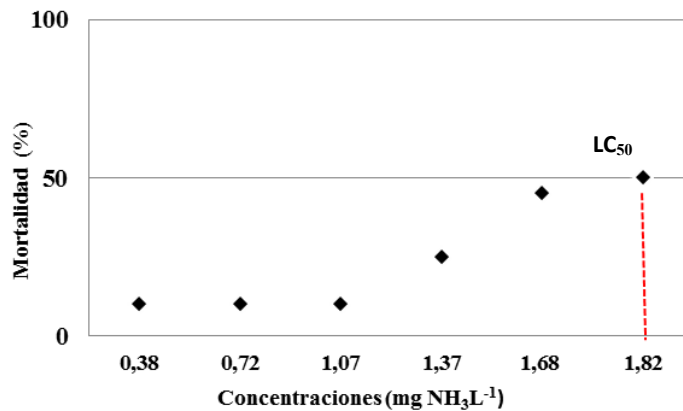


Fig.3: LC_{50} para zoea 1 de *C. caementarius* expuesto a bajas concentraciones de amonio durante 96 h.

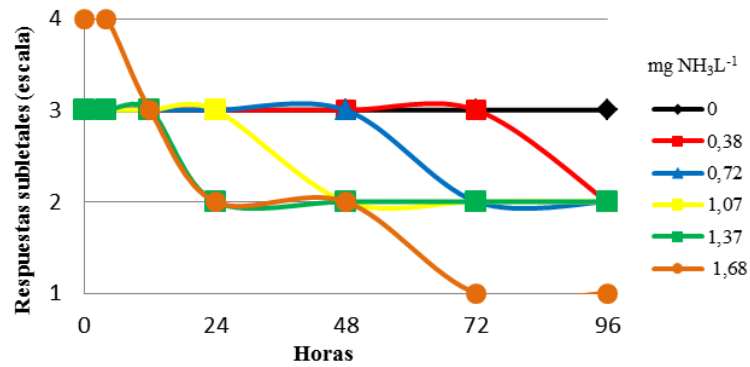


Fig. 4: Respuestas subletales de larvas en zoea 1 de *C. caementarius* expuestas a bajas concentraciones de amonio durante 96 h.

Efecto subletal: En el grupo control las zoea 1 mostraron signos normales de actividad natatoria larval, desplazamiento en toda la columna de agua, reacción rápida a estímulos mecánicos brindados durante el tiempo del experimento. En 0,38; 0,72; 1,07 y 1,37 mg NH₃L⁻¹ y a las 96 h las larvas permanecieron inmóviles en el fondo del recipiente, mientras que en 1,68 mg NH₃L⁻¹ y a las 96 h las larvas no mostraron reacción al no responder al estímulo mecánico (Fig. 4).

3.1.2 Segundo experimento con zoea 1 a altas concentraciones de amonio

Efecto letal: En el grupo control hubo 100 % de supervivencia de las zoea 1. En 1,07; 1,37 y 1,68 mg NH₃L⁻¹ la supervivencia fue de 86,66; 76,66 y 55 % respectivamente a las 96 h, mientras que en 2,01 mg NH₃L⁻¹ la supervivencia fue de 45 % a las 96 h; y en 2,36 mg NH₃L⁻¹ la supervivencia fue de 35 % a las 96 h. Diferencias significativas ($p > 0,05$) en supervivencia fue obtenido a partir de las 24 h de iniciada la experiencia con 1,07 y 1,68 mg NH₃L⁻¹ (Anexo 2; Fig. 5). El LC₅₀ a las 96 h fue de 1,85 mg NH₃L⁻¹ (Fig. 6).

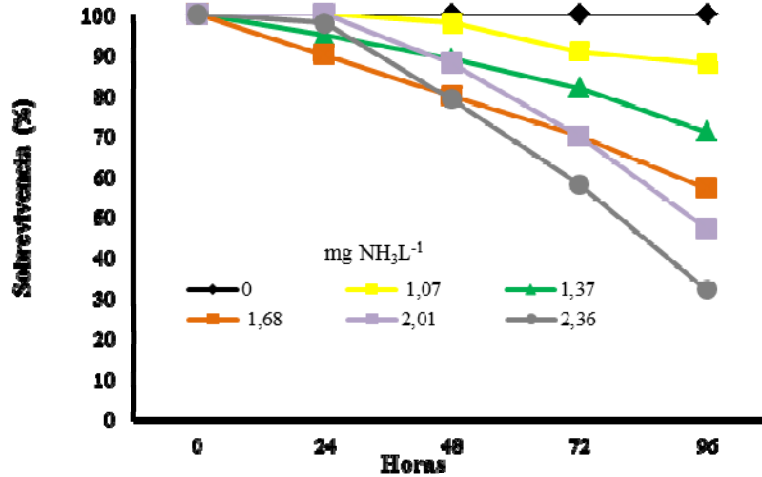


Fig.5 Sobrevivencia de zoea 1 de *C. caementarius* expuestos a altas concentraciones de amonio durante 96 h.

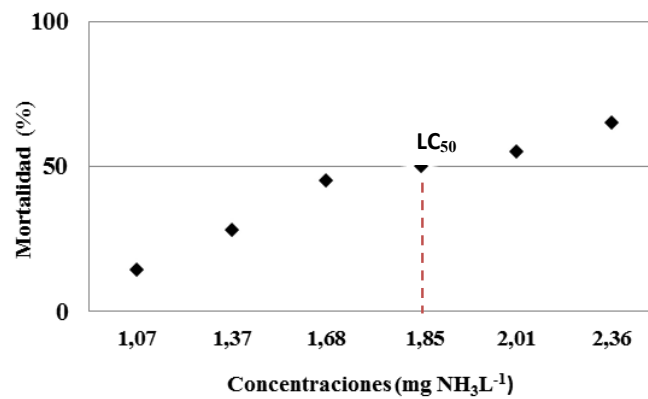


Fig.6: LC₅₀ para zoea 1 de *C. caementarius* expuesto a altas concentraciones de amonio durante 96 h.

Efecto Subletal: El grupo control las zoea 1 mantuvieron signos normales de desplazamiento en toda la columna de agua y reacción rápida a estímulos mecánicos brindados durante el tiempo del experimento. En 1,07 y 1,37 mg NH₃L⁻¹ y a las 96 h las zoea 1 permanecieron inmóviles en el fondo de los recipientes, mientras que en 1,68; 2,01 y 2,36 mg NH₃L⁻¹ y a las 24 h estas mostraron hiperactividad natatoria, pero a las 96 h ya no mostraron reacción natatoria (Fig. 7).

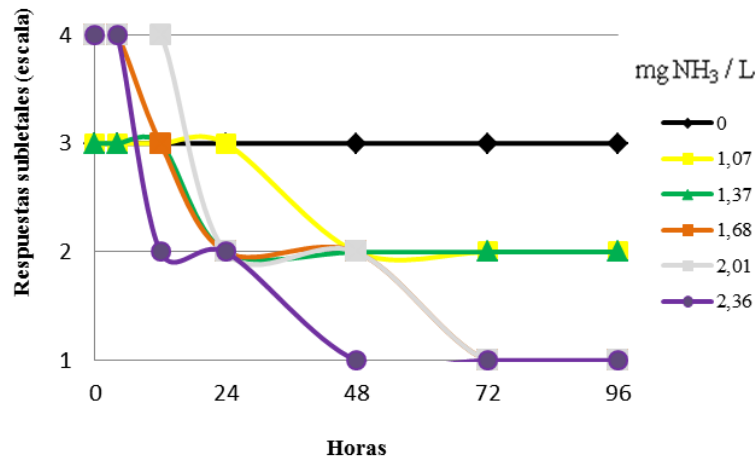


Fig. 7: Respuestas subletales de zoea 1 de *C. caementarius* expuesta a altas concentraciones de amonio.

3.1.3 Tercer experimento con zoea 6 a baja concentración de amonio

Efecto letal: En el grupo control las zoea 6 mantuvieron 100 % de supervivencia. En 0,38 mg NH₃L⁻¹ la sobrevivencia fue de 25 % a las 96 h; mientras que 0,72 mg NH₃L⁻¹ la sobrevivencia fue de 10 % a las 96 h; en cambio a 1,07; 1,37; y 1,68 mg NH₃L⁻¹ las zoeas 6 murieron a los 96 h. A partir de las 24 h hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) en supervivencia en 0,38 y 1,68 mg NH₃L⁻¹ (Anexo 3; Fig. 8).

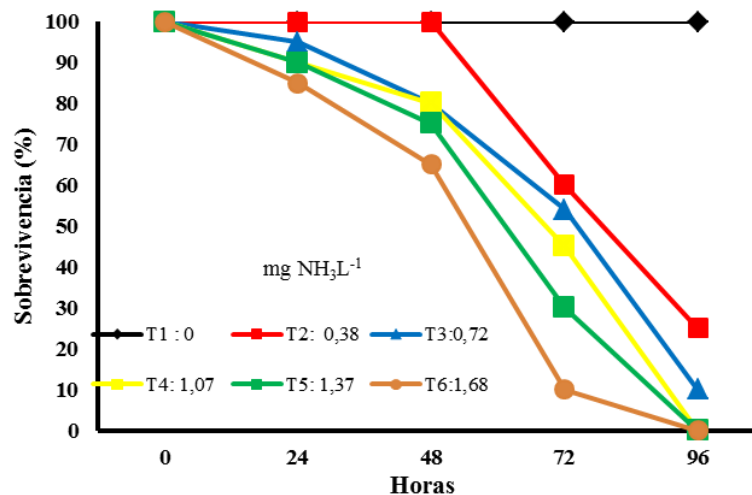


Fig. 8: Sobrevivencia de zoea 6 de *C. caementarius* expuestos a bajas concentraciones de amonio durante 96 h.

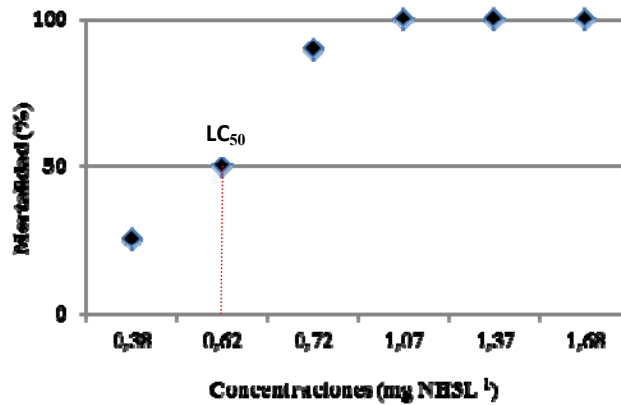


Fig.9: LC₅₀ para zoea 6 de *C. caementarius* expuesto a bajas concentraciones de amonio durante 96 h.

Efecto subletal: Las zoea 6 del grupo control se mantuvieron con signos de actividad natatoria larval normal durante el tiempo del experimento. A las 96 h y en 0,38 mg NH₃L⁻¹ las zoea 6 permanecieron inmóviles en el fondo de los recipientes, mientras que a 0,72 mg NH₃L⁻¹ las larvas no mostraron reacción; en cambio a 1,07; 1,37; y 1,68 mg NH₃L⁻¹ las zoea 6 murieron y a las primeras horas de iniciada la experiencia después de mostrar signos de hiperactividad natatoria con rápida reacción de escape (Fig. 11).

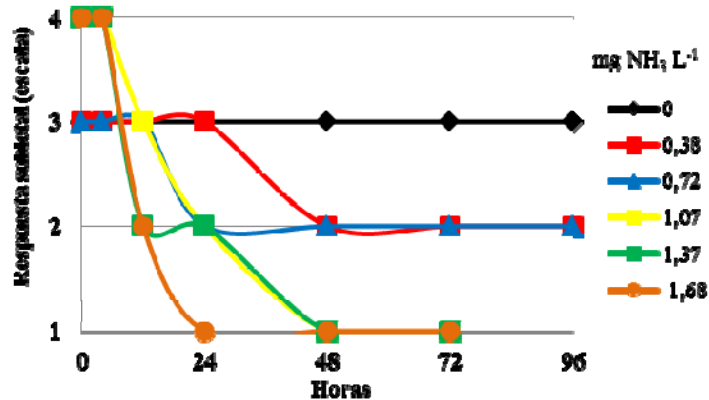


Fig. 10: Respuestas subletales de zoea 6 de *C. caementarius* expuestas a bajas concentraciones de amonio.

3.2 Nitritos

3.2.1 Primer experimento con zoea 1

Efecto letal: Durante las primeras 48 h no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) en la supervivencia de las zoea 1; en cambio a partir de las 72 h hubo diferencia significativa en 5 y 15 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$. La zoea 1 del grupo control mantuvo 100 % de supervivencia. En 5 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ la supervivencia de zoea 1 fue de 96 % a las 96 h; mientras que la supervivencia a 10 y 15 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ fueron de 88 y 63 %, respectivamente, a las 96 h, y a 20 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ la supervivencia fue de 33 % a las 96 h (Anexo 4; Fig. 11). El LC_{50} a las 96 h fue de 17,22 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ (Fig.15).

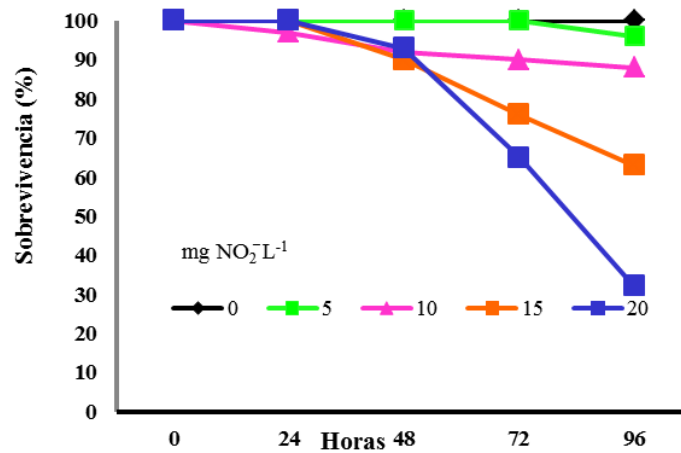


Fig. 11: Supervivencia de zoea 1 de *C. caementarius* expuestos a diferentes concentraciones de nitritos durante 96 h.

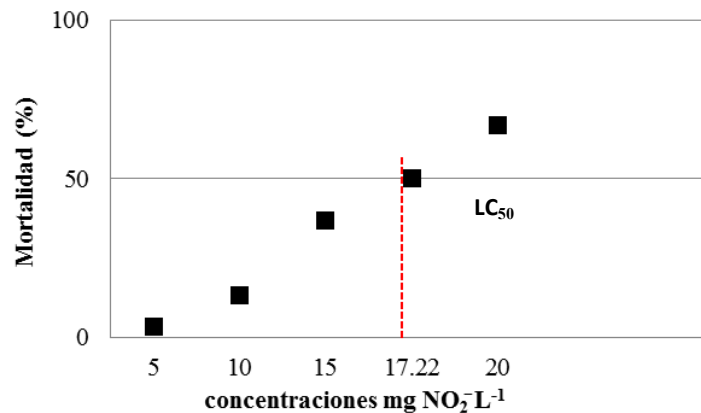


Fig.12: LC_{50} para zoea 1 de *C. caementarius* expuesto a bajas concentraciones de nitritos durante 96 h.

Efecto subletal: El grupo control las zoea 1 mantuvieron 100 % de supervivencia y mostraron signos de actividad natatoria. A las 96 h y en 5, 10 y 15 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ las zoeas 1 permanecieron inmóviles en el fondo del recipiente y 20 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ estas no mostraron reacción a estímulos mecánicos (Fig. 12).

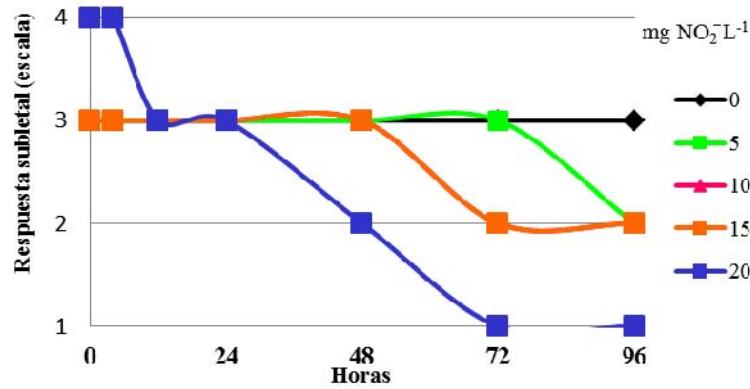


Fig. 13: Respuestas subletales de zoea 1 de *C. caementarius* expuestas a diferentes concentraciones de nitritos.

3.2.2 Segundo experimento con zoea 6

a) Efecto letal: En el grupo control las zoea 6 mantuvieron 100 % de supervivencia. En 5 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ la supervivencia fue de 55 %, en 10 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ la supervivencia fue de 38% y en las de 15 y 20 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ fue de 30 y 13,33 % a las 96 h respectivamente. Diferencias significativas ($p > 0,05$) en supervivencia fue obtenido a las 48 h de iniciada la experiencia en 5 y 10 mg $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$ (Anexo 5; Fig. 13). El LC_{50} a las 96 h fue de 14,44 mg NH_3/L (Fig.15).

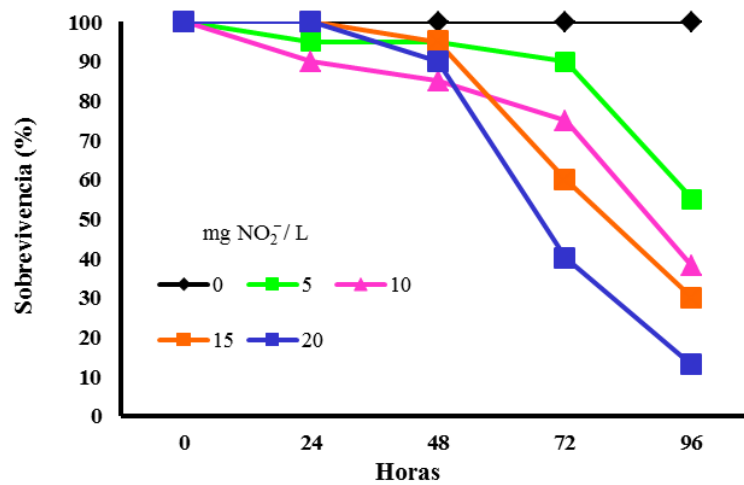


Fig. 14: Supervivencia de zoea 6 de *C. caementarius* expuestas a diferentes concentraciones de nitritos durante 96 h.

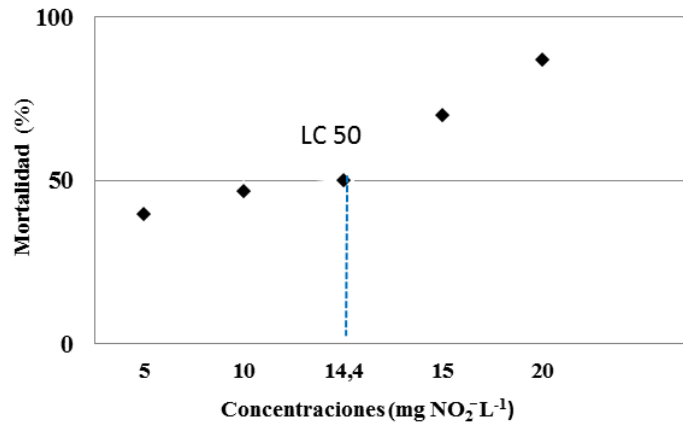


Fig. 15: LC50 para zoea 6 de *C. caementarius* expuestos a diferentes concentraciones de nitritos durante 96 h.

Efecto subletal: El grupo control las zoeas 6 mantuvieron signos de actividad natatoria larval normal. En 5 y 10 mg NO₂⁻ L⁻¹ y a las 96 h las zoeas 6 permanecieron inmóviles en el fondo del recipiente. En 15 mg NO₂⁻ L⁻¹ las zoeas 6 mostraron una rápida reacción al escape a las primeras horas de exposición, pero a las 72 h las zoeas 6 permanecieron inmóviles en el fondo del recipiente, quedando sin reacción a 96 h. En 20 mg NO₂⁻ L⁻¹ las zoeas 6 mantuvieron signos rápida reacción natatoria durante las primeras horas de exposición pero quedaron sin reaccionar a las 96 h (Fig. 16)

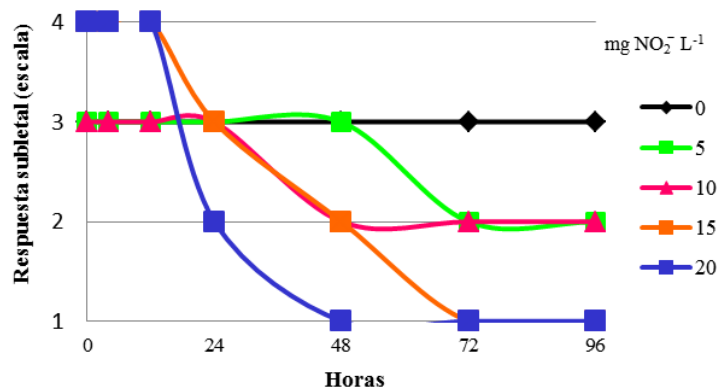


Fig. 16 Respuestas subletales de zoea de *C. caementarius* expuestos a diferentes concentraciones de nitritos.

3.4 Calidad del agua

En el bioensayo con amonio para los dos experimentos con zoea 1 y zoea 6; la temperatura del agua se mantuvo en 19,95 y 20,30 °C; el pH se mantuvo en 7,99 y 8,01 unidades; y la salinidad se mantuvo en 12 ‰.

Tabla 5: Parámetros físico y químicos (Media ± desviación estándar) del agua de los vasos de los bioensayos de larvas de *C. caementarius*, según las diferentes concentraciones de amonio, durante 96 h.

Parámetros	Concentraciones (mgNH ₃ /L)					
	T ₁ : 0	T ₂ : 0,38	T ₃ : 0,72	T ₄ :1,07	T ₅ : 1,37	T ₆ :1,68
Zoea 1						
Temperatura	20,07 ± 0,09 ^a	20,22 ± 0,17 ^a	20,05 ± 0,24 ^a	20,05 ± 0,13 ^a	20,02 ± 0,17 ^a	20,10 ± 0,14 ^a
Salinidad	12,20 ± 0,20 ^a	12,10 ± 0,12 ^a	12,07 ± 0,11 ^a	12,10 ± 0,11 ^a	12,00 ± 0,0 ^a	12,20 ± 0,20 ^a
pH	7,99 ± 0,01 ^a	7,99 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,02 ^a	8,00 ± 0,02 ^a	8,00 ± 0,01 ^a
Zoea 6						
Temperatura	20,30 ± 0,14 ^a	20,20 ± 0,14 ^a	20,15 ± 0,24 ^a	20,07 ± 0,29 ^a	19,95 ± 0,13 ^a	20,10 ± 0,20 ^a
Salinidad	12,07 ± 0,11 ^a	12,00 ± 0,0 ^a	12,10 ± 0,11 ^a	12,20 ± 0,20 ^a	12,20 ± 0,20 ^a	12,07 ± 0,11 ^a
pH	8,00 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,02 ^a	8,01 ± 0,01 ^a	8,01 ± 0,02 ^a	8,01 ± 0,01 ^a

Datos con letras iguales en superíndices en una fila indica que no hay diferencia estadística altamente significativa (p>0,05).

Para el bioensayo con nitritos en los dos experimentos con zoea 1 y zoea 6, la temperatura del agua se mantuvo entre 20,0° y 20,10 °C; el pH en 7,99 y 8,02 unidades y la salinidad se mantuvo en 12 ‰.

Tabla 6: Parámetros físico y químicos (Media ± desviación estándar) del agua de los vasos de los bioensayos de larvas de *C. caementarius*, según las diferentes concentraciones de nitritos, durante 96 h.

Parámetros	Concentraciones (mg NO ₂ L ⁻¹)				
	T ₁ : 0	T ₂ : 5	T ₃ : 10	T ₄ :15	T ₅ : 20
Zoea 1					
Temperatura	20,10 ± 0,09 ^a	19,95 ± 0,13 ^a	20,05 ± 0,13 ^a	20,07 ± 0,09 ^a	20,10 ± 0,22 ^a
Salinidad	12,0 ± 0,00 ^a	12,20 ± 0,20 ^a	12,10 ± 0,12 ^a	12,07 ± 0,11 ^a	12,20 ± 0,20 ^a
pH	8,00 ± 0,01 ^a	7,99 ± 0,01 ^a	8,01 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,02 ^a	8,01 ± 0,01 ^a
Zoea 6					
Temperatura	20,10 ± 0,24 ^a	20,12 ± 0,22 ^a	20,12 ± 0,15 ^a	20,00 ± 0,22 ^a	20,12 ± 0,15 ^a
Salinidad	12,20 ± 0,20 ^a	12,0 ± 0,00 ^a	12,07 ± 0,11	12,10 ± 0,12 ^a	12,20 ± 0,20 ^a
pH	8,01 ± 0,01 ^a	7,99 ± 0,01 ^a	8,02 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,12 ^a	8,01 ± 0,13 ^a

Datos con letras iguales en superíndices en una fila indica que no hay diferencia estadística altamente significativa (p>0,05).

IV. DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que la supervivencia de zoea 1 de *C. caementarius* es afectada por elevadas concentraciones de NH_3 . Así, se obtuvo 90% de supervivencia hasta con $1,07 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ a 96 h, en cambio sobre ésta concentración se alcanzan supervivencias menores del 75 %. En larvas de *M. tenellun* de 5 días de edad la sobrevivencia fue de 10 y 0% con $0,823$ y $1,540 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$, respectivamente, a las 72 h (Figuroa *et al.*, 2012).

Larvas de zoea 1 de *C. caementarius* en fueron sensibles al amonio provocando efectos subletales e influyendo directamente en la actividad natatoria. A $0,38 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ y hasta las 72 h de exposición mantuvieron actividad natatoria larval normal llegando a hipoactividad natatoria normal a las 96 h. En cambio a $1,68 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ desde las primeras 24 h de exposición se mantuvieron en hipoactividad natatoria normal, lo que indica una relación inversa entre la concentración de amonio y los efectos subletales, es decir afectan el estado fisiológico de las larvas. En organismos acuáticos, Colt & Armstrong (1981), concideran que las altas concentraciones de amonio no permiten la liberación de la enzima glutamato deshidrogenasa, retirando el cetoglutarato del ciclo de Krebs, decreciendo la cantidad de NADH disponible para la oxidación; por lo tanto el aumento en la concentración de glutamato podría servir para disminuir la concentración celular del ATP debido al incremento en la conversión de glutamato a glutamina ya que este aminoácido según Tamaso (1994) necesita 4 mol de ATP para eliminar 1mol de NH_3 y por ello disminuye la cantidad de energía utilizada para los procesos mecánicos o fisiológico.

En zoea 1 de *C. caementarius* el LC_{50} a las 96 h fue de $1,85 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$, siendo alto en relación con larvas y postlarvas de otras especies de crustáceos. Así, el LC_{50} a las 96 h en zoea 2 de *M. rosenbergii* fue de $1,40 \text{ mg NH}_3/\text{L}$ (Armstrong *et al.*, 1978), en larvas de siete especies de peneidos fue de $0,93 \text{ mg NH}_3/\text{L}$ (Wickins, 1976), en larvas de *P. monodon* de $0,96 \text{ mg NH}_3/\text{L}$ (Chin & Chen, 1987), en larvas de *P. paulensis* fue de $0,85 \text{ mg NH}_3/\text{L}$ (Ostrensky & Wasielesky, 1995). En postlarvas (PL1) de *P. monodon* el LC_{50} a las 96 h fue de $1,04 \text{ mg NH}_3/\text{L}$ (Chin & Chen, 1987), para postlarvas (PL6) de *P. japonicus* fue de $1,30 \text{ mg NH}_3/\text{L}$ (Lin *et al.*, 1993). Nuestros resultados indican que la zoea 1 de *C. caementarius* es más tolerable al amonio que *M. rosenbergii* y todavía aún más tolerable que larvas y postlarvas de camarones peneidos. Sin embargo, la disminución de la supervivencia de las larvas ya se hace evidente a partir de la

concentración de $1,07 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$, por lo que se debe tener en cuenta ésta concentración durante la crianza de larvas.

La zoea 6 de *C. caementarius* es más sensible al amonio pues con $0,38 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ mostraron signos de hipoactividad natatoria larval a partir de las 48 h mientras que a $1,68 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$ a partir de las 24 h de exposición las larvas mostraron signos de hiperactividad natatoria. Estos problemas de actividad natatoria, comportamiento y mortalidad están relacionados a la relación que existe entre la concentración y el tiempo de exposición.

En zoea 6 de *C. caementarius*, el LC50 a las 96 h fue de $0,62 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$, similar a lo reportado por Mallasen & Valenti (2005) para zoea 8 de *M. rosenbergii* que fue de $0,55 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$. Ostrensky & Wasielesky (1995), en zoea de *Penaeus paulensis*, obtuvieron un LC50 a las 96 h de $0,73 \text{ mg NH}_3\text{L}^{-1}$. Por consiguiente, las larvas zoea 6 de *C. caementarius*, fueron más tolerantes al amonio aunque fue menor que la zoea 1, lo cual indicaría que conforme avanza el desarrollo larval estas son más sensibles a la toxicidad del amonio, esto está de acuerdo con lo indicado por Ostrensky & Wasielesky (1995) quienes determinaron que en larvas de *P. paulensis* la tolerancia al amonio es menor cuando estas se acercan al estadio postlarval denominándola como etapa de transición en términos de sensibilidad al amonio.

En relación a los nitritos la zoea 1 de *C. caementarius* toleraron hasta $5 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ con sobrevivencias de 96% y a $20 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ la sobrevivencia fue de 33% a las 96 h mostrando signos de hipoactividad natatoria larval. Estos resultados son mejores a los registrados por Mallesen & Valenti (2006) en larvas de *M. rosenbergii* que puede tolerar exposiciones crónicas a concentraciones tan altas como $2 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ ya que a dicha concentración la sobrevivencia es 89 % pero a $16 \text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ la sobrevivencia es 0 % para el estadio zoea 2 a las 96 h.

La mortalidad de las larvas a causa del nitrito podría ser atribuido al efecto que ejerce este tóxico sobre la hemocianina ya que en camarones cambia a metahemocianina en presencia del nitrito y provoca hipoxia y cianosis (Wickins, 1976). En *M. rosenbergii*, la exposición a concentraciones externas de nitritos produce una reducción en la cantidad de oxihemocianina, lo cual indica un decremento en la habilidad de la hemocianina para transportar oxígeno (Chen & Lee, 1997). Este proceso podría haber ocasionado los signos de hipoactividad natatoria en zoea 1 a las 96 h cuando son

mantenidas a concentraciones de hasta 15 mg NO₂⁻L⁻¹, y de zoea 6 a 20 mg NO₂⁻L⁻¹ a consecuencia de la falta de oxígeno provocando la hipoxia.

La zoea 6 fueron más sensibles al nitrito a concentraciones de 5 mg NO₂⁻L⁻¹ en donde la sobrevivencia fue de 60,33% y a 20 mg NO₂⁻L⁻¹ la sobrevivencia fue de 13,33% a las 96 h. Mallesen & Valenti (2006) también reportan esta menor sensibilidad al nitrito en larvas de *M. rosenbergii* en estadio zoea 8, a concentraciones de 2 mg NO₂⁻L⁻¹ la sobrevivencia fue de 63% a las 96 h.

En zoea 6 el LC₅₀ a las 96 h fue de 14,44 mg NO₂⁻L⁻¹, siendo alta en relación a lo reportado en larvas de *M. rosenbergii* de 10 días de edad cuyo LC₅₀ a las 96 h fueron de 11,5 mg NO₂⁻L⁻¹ (Armstrong *et al.*, 1976) y 12,2 mg NO₂⁻L⁻¹ (Chen & Lee, 1997).

Por consiguiente nuestros resultados indican que la zoea 1 de *C. caementarius* es más tolerante a concentraciones altas de amonio y nitritos que zoea 6 y que esta menor sensibilidad en el estadio zoea 6 podría ser atribuida al estado fisiológico de las larvas ya que este estadio coincide con los cambios en la actividad enzimática digestiva y hábitos alimenticios. Según Salleh (1994) la actividad de la tripsina en *M. rosenbergii* se mantiene a niveles bajos luego bruscamente aumentó a un máximo en la etapa zoea 6. Este aumento coincidió con el agotamiento de las reservas nutritivas y un aumento en el volumen de la hepatopáncreas. En larvas de *Penaeus* la actividad de tripsina y la quimotripsina es baja durante nauplios y zoea pero alcanza su punto máximo en mysis (Shing & Bon, 1992; Pérez *et al.*, 2006). Otro factor que podría ser atribuido es la muda, porque según Morales & Meruane (2012) en zoea 7 de *C. caementarius* el proceso de muda es asincrónico evidenciándose intestinos vacíos, escaso desarrollo branquial sin gotas oleosas, nado errático y circular situación que; pudiera ser reflejo de cambios a nivel fisiológicos digestivo.

V. CONCLUSIONES

- El LC₅₀ para zoea 1 y zoea 6 de *C. caementarius* fue de 1,82 y 0,62 mg NH₃L⁻¹ a las 96 h, respectivamente.
- El LC₅₀ para zoea 1 y zoea 6 de *C. caementarius* fue de 17,22 y 14,44 mg NO₂⁻L⁻¹ a las 96 h, respectivamente.
- El efecto subletal más prominente tanto para toxicidades con amonio y nitritos fue la reducción de la actividad natatoria en zoeas 1 y 6 de *C. caementarius*.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar recambios totales de agua en estadios larvales avanzados como zoea 6 ya que este estadio es muy crítico en cuanto a la tolerancia de los compuestos nitrogenados.
- Realizar bioensayos de toxicidad de amonio y nitritos para las demás etapas de desarrollo como: postlarval, juvenil, adulto para evitar mortalidades por mal manejo de la calidad del agua.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcaráz, G., X. Chiappa & V. Venegas. 1999. Acute toxicity of ammonia and nitrite to white shrimp *Penaeus setiferus* postlarvae. *World Aquaculture Society*, 30(1): 90-97.
- Allan, G., G. Maguire & S. Hopkins. 1990. Acute and chronic toxicity of ammoniato juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of lo dissolved oxygen levels. *Aquaculture*, (91): 263-280.
- APHA-AWWA-WPCF. 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th ed. American Public Health Association, Washington D.C. p. var.
- Armstrong, D., D Chippendale., A. Knight & J. Colt. 1978. Interaction of ionized and unionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol. Bull*, 154: 15-31.
- Armstrong, D., J. Stephenson & A. Knight. 1976. Acute toxicity of nitrite of the giant Malasyan prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 9: 39-46.
- Boyd, C. 2004. Métodos para mejorar la camaronicultura en Centroamérica: consideraciones sobre la calidad del agua y del suelo en cultivos de camarón. 1:1-30.
- Catedral, F., D. Gerochi, A. Quibuyen & C. Casilmir. 1977. Effect of nitrite, ammonia, and temperature on *P. monodon* larvae. Quartely research report aquaculture department Southeast Asian fisheries development Center, 1: 9-12.
- Chen, J. & S. Cheng. 1995. Changes of oxyhemocyanin and protein levels in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient nitrite. *Aquatic Toxicology*, 33: 215- 226.
- Chen, J. & T. Chin. 1988. Acute toxicity of nitrite to tiger prawn *Penaeus monodon* larvae. *Aquaculture*, 69: 253-262.

- Chen, J. & Y. Lee. 1997. Effects of nitrite on mortality, ion regulation and acid-base balance of *Macrobrachium rosenbergii* at different external chloride concentration. *Aquatic Toxicology*, 39: 291-305.
- Chen, J. & C. Tu. 1990. Acute toxicity of nitrite to larval *Penaeus japonicus*. *Journal of Fisheries Society of Taiwan*.17: 227-237.
- Chin, T. & J. Chen. 1987. Acute toxicity of ammonia to larvae of the tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 66: 247-253.
- Colt, J. & D. Armstrong. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and mollusks. Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for Fish Culture. Fish Culture Section of the American Fisheries Society. 1: 34-47.
- Correia, E., S. Suwannatous & M. New. 2000. Flow-through hatchery systems and management. 52-68. in M. B. New and W. C. Valenti. Eds. Freshwater prawn culture: the farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Díaz, M. 1995. Efecto del pH sobre postlarvas de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879). Trabajo de habilitación. Universidad Nacional de Trujillo, Perú.43p.
- Emerson, K., R Russo, R. Lund & R. Thurston. 1975. Aqueous Ammonia Equilibrium Calculations: Effects of pH and Temperature. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 32: 2379-2383.
- Figuroa, K., M Lucero, R. Hernández & M. Gutierrez. 2012. Acute toxicity of ammonia on *Macrobrachium tenellum* (Smith) larvae. *Int. Contam. Ambie*, 28(2): 145-150.
- Francis, R., W. Craig, P. Denise & B. Deborah. 2005. Ammonia in Aquatic Systems. FA-16, one of a series from the Department of Fisheries and Aquatic Sciences. 1-5.
- Frías, M. & F. Páez. 2000. Camaronicultura y medio ambiente: toxicidad de los compuestos del nitrógeno en camarones, 12: 253-270.
- Lee, D. & F. Wickins. 1992. Crustacean farming. Blackwell Science, Oxford, UK.

- Lin, H., P. Thuet, J. Trilles, R. Mounet & G. Charmantier. 1993. Effects of ammonia on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* *Marine Biology*, 117: 591-598.
- Luna, T., M. Hurtado & P. Heussler. 1985. Efecto de las algas y del alimento artificial en la supervivencia de larvas de *Cryphiops caementarius* (Palaemoniade) en laboratorio. *Anales Científicos UNALAM XXII*: 127-138.
- Luke, N., F. Ravi & C. Shelley. 2005. Effects of acute and chronic toxicity of unionized ammonia on mud crab, *Scylla serrata* (Forsska, 1755) larvae. *Aquaculture*, 36: 927-932.
- Mallasen, M. & W. Valenti. 2005. Larval development of the giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii* at different ammonia concentrations and pH Values. *World aquaculture Society*, 36(1): 32-41.
- Mallasen, M. & W. Valenti. 2006. Effect of nitrite on larval development of giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 261: 1292-1298.
- Mendoza, R. 2009. Toxicidad aguda del sulfato de cobre en postlarvas de camarón *Cryphiops caementarius*. *Rev. Zootec*, 58(221): 103-110.
- Ministerio de producción – Produce 2012. Pesca. Anuario de estadísticas ambientales. (www.inei.gov.pe/biblioineipub/bancopub/Est/Lib1037/ca09.pd) 9: 409-428.
- Morales, M. & J. Meruane. 2012. Indicadores de condición larvaria aplicados al camarón de río del norte *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782), en condiciones de cultivo controlado. *Lat. Am. J. Aquat. Res*, 40(3): 730-742.
- Nandlal, S. & T. Pickering. 2005 Freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming in pacific island countries. Hatchery operation. Noumea, New Caledonia: Secretariat of Pacific Community. 1: 38 p.
- Neil, L., R. Fotedar & C. Shelley. 2005. Effects of acute and chronic toxicity of unionized ammonia on mud crab, *Scylla serrate* larvae. *Aquaculture Research*, 36: 927-932.

- Ostrensky, A. & W. Wasielesky. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Sao Paulo shrimp, *Penaeus paulensis*. *Aquaculture*, 132: 339-347.
- Ostrensky, A. & L. Poersh. 1992. Toxicidade aguda do nitrito na larviculturado camarosa *Penaeus paulensis*. *Nerítica Curitiba*, 7: 101-107.
- Pelafox, P., J. Gonzáles, R. Raúl, O. Febrero, I. Arredondo, J. Esparza, H. García. & G. Manuel. 2005. Enfermedades del camarón de agua dulce *Macrobrachium tenellum* y *M. rosenbergii* durante el cultivo comercial en estanques rústicos, en empresas rurales. *Electrónica de Veterinaria*, 6(12): 1-12.
- Pérez, I., A. Puello, D. Abramo. & G. Vega. 2006. Evaluación de la actividad enzimática y contenido de proteína en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas. *Electrónica de Veterinaria*, 7 (4): 1-13.
- Portugal, S., J. Vargas & E. Vega. 2003. Utilización del rotífero *Brachionus plicatilis* en los primeros estadios del cultivo larval del camarón de río *Cryphiops caementarius*. II congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. CIVA 2003. (<http://www.civa2003.org>): 837-850.
- Reyes, W. E., H. Lujan, L. Moreno & M. Pesantes. 2009. Caracterización de estadios embrionarios de *Cryphiops caementarius* (Crustacea, Palaemonidae). *SCIENDO*, 12 (1): 55-67.
- Salleh, M., D. Jones, L. Le. & A. Zainal. 1994. Ontogenetic change in digestive enzyme activity during larval development of *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 123: 323-333.
- Shaw, J. 1960. The absorption of sodium ions by the crayfish *Astacus pallipes* Lereboullet. III. The effect of other cations in the external solution. *J. Exp. Biol.*, 37, 548-556.
- Shing, L. & N. Bon. 1992. Ontogenic change of digestive enzymes in *Penaeus monodon*. *Comp. Biochem. Physiol.* 103 (4):1033-1037.

- Smart, G. 1978. Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish-gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdnerii*) exposed to acutely lethal concentrations. *Journal of Fish Biology*, 12: 93-104.
- Thurston, R., R Russo. & G. Vinogrado.1981. Ammonia toxicity to fishes, effect of ph on the toxicity of the un-ionized ammonia species. *Environmental Science & Technolog*,15: 837-840.
- Tomasso, J. 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Fisherie Science*, 2 (4): 291-314.
- Viacava, M., R Aitken. & J. Llanos. 1978. Estudio del camarón en el Perú. *Bol. Inst. Mar del Perú*. 3(5):165-232.
- Wehrtmann, I. & P. Báez. 1997. Larvae and early development stages of decapod crustaceans from Chile: published descriptions. *Invest. Mar. Valparaiso*, 25: 263-276.
- Wickins, F. 1976. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture*, 9:19-37.

ANEXO

ANEXO 1: Supervivencia de zoea 1 de *C. caementarius* expuestos en pruebas a bajas concentraciones de amonio durante 96 h (Media \pm desviación estándar).

Tiempo (h)	Concentraciones (mgNH ₃ L ⁻¹)					
	T ₁ : 0	T ₂ : 0,38	T ₃ : 0,72	T ₄ : 1,07	T ₅ : 1,37	T ₆ : 1,68
0	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a
24	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	93,33 \pm 0,00 ^a	90,00 \pm 0,00 ^a	90,00 \pm 0,00 ^a	93,33 \pm 0,00 ^a
48	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	93,33 \pm 0,00 ^a	90,00 \pm 0,00 ^a	90,00 \pm 0,00 ^a	93,33 \pm 0,00 ^a
72	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^b	90,00 \pm 0,00 ^{ab}	90,00 \pm 0,00 ^{ab}	80,00 \pm 0,00 ^{ab}	76,00 \pm 0,00 ^b
96	100,00 \pm 0,00 ^a	90,00 \pm 0,00 ^b	90,00 \pm 0,00 ^{ab}	90,00 \pm 0,00 ^{ab}	75,00 \pm 0,00 ^{bc}	55,00 \pm 0,00 ^c

Datos con letras iguales en superíndices en una fila indica que no hay diferencia estadística altamente significativa ($p > 0,05$)

ANEXO 2: Supervivencia de zoea 1 de camarón *C. caementarius* expuestos en pruebas a altas concentraciones de amonio durante 96 h (Media \pm desviación estándar).

Tiempo (h)	Concentraciones (mgNH ₃ L ⁻¹)					
	T ₁ : 0	T ₄ : 1,07	T ₅ : 1,37	T ₆ : 1,68	T ₇ : 2,01	T ₈ : 2,36
0	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a
24	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	95,00 \pm 5,00 ^{ab}	90,00 \pm 5,00 ^b	100,00 \pm 0,00 ^a	98,33 \pm 2,89 ^{ab}
48	100,00 \pm 0,00 ^a	96,66 \pm 5,77 ^a	90,00 \pm 5,00 ^{ab}	78,33 \pm 2,89 ^{bc}	88,33 \pm 5,77 ^{abc}	76,66 \pm 5,77 ^c
72	100,00 \pm 0,00 ^a	90,00 \pm 0,00 ^a	83,33 \pm 7,64 ^{ab}	68,33 \pm 2,89 ^{bc}	70,00 \pm 13,23 ^{bc}	58,33 \pm 2,89 ^c
96	100,00 \pm 0,00 ^a	86,66 \pm 5,77 ^b	71,66 \pm 7,64 ^c	55,00 \pm 0,00 ^d	45,00 \pm 5,00 ^{de}	35,00 \pm 5,00 ^e

Datos con letras iguales en superíndices en una fila indica que no hay diferencia estadística altamente significativa ($p > 0,05$).

ANEXO 3: Supervivencia de zoea 6 de *C. caementarius* expuestos en pruebas a bajas concentraciones de amonio durante 96 h. (Media \pm desviación estándar).

Tiempo (h)	Concentraciones (mgNH ₃ L ⁻¹)					
	T ₁ : 0	T ₂ : 0,38	T ₃ : 0,72	T ₄ : 1,07	T ₅ : 1,37	T ₆ : 1,68
0	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a
24	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	93,33 \pm 5,77 ^{ab}	90,00 \pm 0,00 ^{ab}	90,00 \pm 10,00 ^{ab}	80,00 \pm 10,00 ^b
48	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	80,00 \pm 10,00 ^{ab}	80,00 \pm 10,00 ^{ab}	70,00 \pm 10,00 ^b	60,00 \pm 10,00 ^b
72	100,00 \pm 0,00 ^a	70,00 \pm 10,00 ^b	53,33 \pm 5,77 ^b	43,33 \pm 5,77 ^{bc}	30,00 \pm 10,00 ^{cd}	10,00 \pm 10,00 ^d
96	100,00 \pm 0,00 ^a	65,00 \pm 10,00 ^b	10,00 \pm 10,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^c

Datos con letras iguales en superíndices en una fila indica que no hay diferencia estadística altamente significativa ($p > 0,05$)

ANEXO 4: Supervivencia de zoea 1 de *C. caementarius* expuestos en pruebas a diferentes concentraciones de nitritos durante 96 h. (Media \pm desviación estándar).

Tiempo (h)	Concentraciones (mg NO ₂ ⁻ L ⁻¹)				
	T ₁ : 0	T ₂ : 5	T ₃ : 10	T ₄ : 15	T ₅ : 20
0	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a
24	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	96,66 \pm 5,77 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a
48	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	90,00 \pm 0,00 ^a	90,00 \pm 10,00 ^a	93,33 \pm 7,07 ^a
72	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	90,00 \pm 0,00 ^a	73,33 \pm 11,55 ^b	63,33 \pm 0,00 ^b
96	100,00 \pm 0,00 ^a	96,66 \pm 5,77 ^a	86,66 \pm 5,77 ^a	63,33 \pm 5,77 ^b	33,33 \pm 7,07 ^c

Datos con letras iguales en superíndices en una fila indica que no hay diferencia estadística altamente significativa ($p > 0,05$).

ANEXO 5: Supervivencia de zoea 6 de *C. caementarius* expuestas en pruebas a diferentes concentraciones de nitritos durante 96 h. (Media \pm desviación estándar).

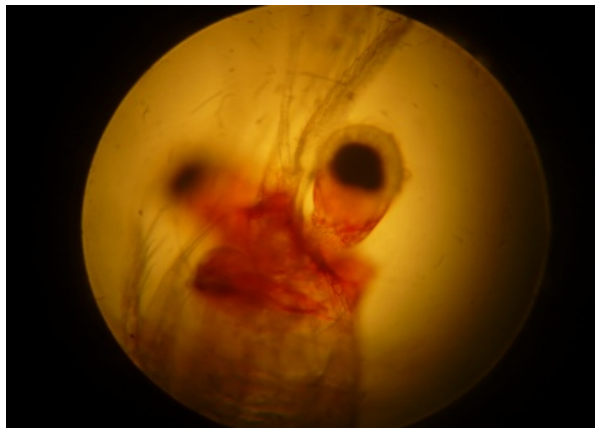
Tiempo (h)	Concentraciones (mg NO ₂ -L ⁻¹)				
	T ₁ : 0	T ₂ : 5	T ₃ : 10	T ₄ :15	T ₅ :20
0	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a
24	100,00 \pm 0,00 ^a	93,33 \pm 5,77 ^a	90,00 \pm 10,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a	100,00 \pm 0,00 ^a
48	100,00 \pm 0,00 ^a	93,33 \pm 5,77 ^a	83,33 \pm 5,77 ^b	90,00 \pm 0,00 ^{ab}	90,00 \pm 10,00 ^{ab}
72	100,00 \pm 0,00 ^a	90,33 \pm 0,00 ^{ab}	73,33 \pm 5,77 ^{bc}	60,00 \pm 10,00 ^c	40,00 \pm 10,00 ^d
96	100,00 \pm 0,00 ^a	60,33 \pm 5,77 ^b	53,33 \pm 5,77 ^b	30,00 \pm 10,00 ^{cd}	13,33 \pm 5,77 ^d

Datos con letras iguales en superíndices en una fila indica que no hay diferencia estadística altamente significativa ($p > 0,05$)

ANEXO 6: Mantenimiento de las hembras ovigeras de *C. caementarius*.



ANEXO 7: Larvas de *C. caementarius* en estadio zoea 1 muertas por toxicidad con amonio.



ANEXO 8: Análisis estadístico: Datos SPSS versión 18 – Prueba de tukey

Zoea 1(A)

T2_Z1_A			
			Subconjunto para alfa = 0.05
	Tratamientos_NH ₃	N	1
HSD de Tukey ^a	4	3	90,0000
	5	3	90,0000
	3	3	93,3333
	6	3	93,3333
	1	3	100,0000
	2	3	100,0000
	Sig.	,480	

T3_Z1_A			
			Subconjunto para alfa = 0.05
	TRATAMIENTOS_NH ₃	N	1
HSD de Tukey ^a	4	3	90,0000
	5	3	90,0000
	3	3	93,3333
	6	3	93,3333
	1	3	100,0000
	2	3	100,0000
	Sig.	,480	

T4_Z1_A				
			Subconjunto para alfa = 0.05	
	TRATAMIENTOS_NH ₃	N	1	2
HSD de Tukey ^a	6	3	75,0000	
	5	3	80,0000	80,0000
	3	3	90,0000	90,0000
	4	3	90,0000	90,0000
	1	3		100,0000
	2	3		100,0000
	Sig.	,312	,105	

T5_Z1_A				
TRATAMIENTOS_NH ₃	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
6	3	55,0000		
5	3	75,0000	75,0000	
2	3		90,0000	90,0000
3	3		90,0000	90,0000
4	3		90,0000	90,0000
1	3			100,0000
Sig.	,091	,285	,671	

Zoca 1(B)

T2_Z1_B			
TRATAMIENTOS_NH ₃	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
4	3	90,0000	
3	3	95,0000	95,0000
6	3	98,3333	98,3333
1	3		100,0000
2	3		100,0000
5	3		100,0000
Sig.	,058	,413	

T3_Z1_B				
TRATAMIENTOS_NH ₃	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
6	3	76,6667		
4	3	78,3333	78,3333	
5	3	88,3333	88,3333	88,3333
3	3		90,0000	90,0000
2	3			96,6667
1	3			100,0000
Sig.	,086	,086	,086	

T4_Z1B					
	TRATAMIENTOS_NH3	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD de Tukey ^a	6	3	58,3333		
	4	3	68,3333	68,3333	
	5	3	70,0000	70,0000	
	3	3		83,3333	83,3333
	2	3			90,0000
	1	3			100,0000
Sig.		,299	,116	,069	

Zoea 6

T2_Z6_NH ₃				
	TRATAMIENTOS_NH3	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD de Tukey ^a	6	3	80,0000	
	4	3	90,0000	90,0000
	5	3	90,0000	90,0000
	3	3	93,3333	93,3333
	1	3		100,0000
	2	3		100,0000
	Sig.		,166	,413

T3_Z6_NH3					
	TRATAMIENTOS_NH3	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD de Tukey ^a	6	3	60,0000		
	5	3	70,0000		
	3	3	80,0000	80,0000	
	4	3	80,0000	80,0000	
	1	3		100,0000	
	2	3		100,0000	
	Sig.		,091	,091	

T4_Z6_NH3							
			Subconjunto para alfa = 0.05				
	TRATAMIENTOS_NH3	N	1	2	3	4	5
HSD de Tukey ^a	6	3	10,0000				
	5	3	30,0000	30,0000			
	4	3		43,3333	43,3333		
	3	3			53,3333		
	2	3			60,0000		
	1	3				100,0000	
	Sig.	,073	,353	,168	1,000		

Zoca 1

T2_Z1_NO ₂			
			Subconjunto para alfa = 0.05
	TRATAMIENTOS_NO2	N	1
HSD de Tukey ^a	3	3	96,6667
	1	3	100,0000
	2	3	100,0000
	4	3	100,0000
	5	3	100,0000
	Sig.	,539	

T3_Z1_NO ₂			
			Subconjunto para alfa = 0.05
	TRATAMIENTOS_NO2	N	1
HSD de Tukey ^a	3	3	90,0000
	4	3	90,0000
	5	3	93,3333
	1	3	100,0000
	2	3	100,0000
	Sig.	,200	

T4_Z1_NO2				
	TRATAMIENTOS_N O2	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD de Tukey y ^a	5	3	63,3333	
	4	3	73,3333	
	3	3		90,0000
	1	3		100,0000
	2	3		100,0000
	Sig.		,283	,283

T5_Z1_NO2						
	TRATAMIENTOS_NO2	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
HSD de Tukey ^a	5	3	33,3333			
	4	3		63,3333		
	3	3			86,6667	
	2	3			96,6667	
	1	3			100,0000	
	Sig.		1,000	1,000	,061	

Zoea 6

T2_Z6_NO2		
TRATAMIENTOS_NO2	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
3	3	90,0000
2	3	93,3333
1	3	100,0000
4	3	100,0000
5	3	100,0000
Sig.	,200	

T3_Z6_NO2				
	TRATAMIENTOS_NO2	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD de Tukey ^a	3	3	83,3333	
	4	3	90,0000	90,0000
	5	3	90,0000	90,0000
	2	3	93,3333	93,3333
	1	3		100,0000
	Sig.		,283	,283

T4 Z6 NO ₂						
	TRATAMIENTOS_N O2	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
HSD de Tukey ^a	5	3	40,00 00			
	4	3		60,00 00		
	3	3		73,33 33	73,33 33	
	2	3			90,00 00	90, 00 00
	1	3				10 0,0 00 0
	Sig.		1,0 00	,195	,080	,427

T5 Z6 NO ₂						
	TRATAMIENTOS_NO2	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
HSD de Tukey ^a	5	3	13,3333			
	4	3	30,0000	30,0000		
	3	3		36,6667	36,6667	
	2	3			53,3333	
	1	3				100,0000
	Sig.		,055	,702	,055	1,000