



**Escuela Superior
Politécnica del Litoral**

BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

FACULTAD DE INGENIERIA MARITIMA Y CIENCIAS DEL MAR

**“Estudios Preliminares sobre la Concentración Iónica
de la Hemolinfa en el Camarón Marino
Penaeus vannamei”**

TESIS DE GRADO

Previa a la Obtención del Título de

ACUICULTOR

Presentada por:

Natalia Roggiero Avilés de Barbieri

Guayaquil-Ecuador

1 9 8 9

AGRADECIMIENTO



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Al DR. NICOLAS CAMPAÑA G.
Director de Tesis, por su
colaboración para la
realización de este trabajo.

Al ING. HECTOR AYON J.,
Director del C.I.C.Y.T., por
su ayuda con el financia-
miento que hizo posible la
elaboración de esta Tesis.

Al DR. JULIO PLAZA V.,
Médico Laboratorista, por la
realización de los análisis
necesarios para el presente
estudio.

Enrique Sanchez C.

.....
Msc. ENRIQUE SANCHEZ C.
Sub-Decano

Nicolas Campaña G.

.....
Dr. NICOLAS CAMPAÑA G.
Director de Tesis



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARIKÚBA

Henry Alvarez

.....
Ac. HENRY ALVAREZ
Miembro Principal

Victor Osorio

.....
Msc. VICTOR OSORIO C.
Miembro Principal

DECLARACION EXPRESA

"La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y, el patrimonio intelectual de la misma, a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL".

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la E.S.P.O.L.).

Natalia R. de Barbieri
.....
Natalia Roggiero Avilés de Barbieri



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

INDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN.....ii

INDICE GENERAL.....iii

INDICE DE FIGURAS.....vii

INTRODUCCION.....1

I. CARACTERISTICAS DE LA ESPECIE Penaeus vannamei.....4

 1.1. Ubicación taxonómica.....4

 1.2. Morfología del camarón.....4

 1.2.1. Cefalotórax o Perión.....5

 1.2.2. Abdómen o Pleón.....5

 1.3. Síntesis Biológica del Camarón.....6

 1.4. Principales sistemas y su funcionamiento.....8

 1.4.1. Sistema digestivo.....8

 1.4.2. Sistema respiratorio.....9

 1.4.3. Sistema circulatorio.....9

 1.5. Breve descripción para identificación visual.....10

II. IONES.....12

 2.1. Propiedades del Sodio y Potasio.....13

 2.2. Propiedades de los Cloruros.....15

III. REGULACION IONICA EN MEMBRANAS NATURALES.....18

 3.1. Transporte pasivo.....17

 3.2. Transporte activo.....18

 3.2.1. Fuente de Energía.....20



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

3.3.	Equilibrio Gibbs-Donnan.....	22
3.4.	Selectividad de las membranas.....	24
IV.	REGULACION IONICA DE LA HEMOLINFA.....	26
4.1.	Transporte activo de sodio y potasio....	27
4.2.	Regulación activa de cloruros.....	30
4.3.	Salinidad y los crustáceos.....	31
4.3.1.	Distribución según la salinidad..	32
4.3.2.	Salinidad relacionada con la estructura y tamaño.....	42
V.	REGULACION IONICA EN CRUSTACEOS.....	44
5.1.	Mecanismo general de regulación iónica..	44
5.1.1.	Regulación a nivel del fluido intracelular.....	59
5.2.	La regulación en los crustáceos pe- naeidos.....	63
5.3.	Organos que controlan los mecanismos de regulación.....	70
5.4.	Sistemas de excreción y absorción iónica.....	71
5.4.1.	Excreción.....	71
5.4.1.1.	Excreción iónica por me- dio de las glándulas an- tenales.....	71
5.4.1.2.	Otros órganos excretores..	79
5.4.2.	Sistema de absorción iónica.....	83



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

5.4.2.1. Absorción Branquial.....	83
5.5. Regulación osmótica.....	88
5.5.1. Definición y aspectos generales..	88
5.5.2. Mecanismo osmoregulatorio en especies marinas y de aguas salobres.....	96
5.5.3. Mecanismo en especies de agua dulce.....	99
5.5.4. Mecanismo en especies de alta salinidad.....	101
VI. MATERIALES Y METODOS.....	104
6.1. Recolección de especímenes para la obtención de datos.....	104
6.1.1. Metodología de extracción de la hemolinfa.....	104
6.2. Descripción de equipos utilizados.....	107
6.2.1. Equipos utilizados para la recolección y extracción de la hemolinfa.....	107
6.2.2. Equipo utilizado para la determinación de Sodio y Potasio.....	107
6.2.3. Equipo utilizado para la determinación de Cloruros.....	108
6.3. Análisis estadístico de los datos.....	109
VII. RESULTADOS.....	109



SECRETARÍA
DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMÁN

7.1. Concentración del Potasio a diferentes salinidades.....	111
7.2. Concentración del Sodio a diferentes salinidades.....	112
7.3. Concentración de Cloruros a diferentes salinidades.....	112
7.4. Estados hipo, hiper e iso-iónicos de la molinfa con relación al medio acuático..	113
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	115
APENDICES.....	119
BIBLIOGRAFIA.....	152



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1 Vista dorsal del camarón penaeido.....	121
Fig. 2 Vista lateral del camarón penaeido.....	122
Fig. 3 Vista ventral del camarón penaeido.....	123
Fig. 4 Ubicación de las branquias.....	124
Fig. 5 Ubicación del corazón.....	125
Fig. 6 Ubicación del órgano linfoide (sistema circulatorio.....	126
Fig. 7 Tamaño comparativo de las glándulas antenales de especies de agua dulce (izq.) y estuarina (der.).....	127
Fig. 8 Organos quimorreceptores de las anténulas.....	128
Fig. 9 Diagrama de la glándula antenal.....	129
Fig.10 Diagrama de la glándula antenal con el contenido de cloruros de la orina.....	130
Fig.11 Ubicación de la glándula antenal.....	131
Fig.12 Diagrama de la estructura de la cutícula de los Decápodos.....	132
Fig.13 Vista lateral de las branquias.....	133
Fig.14 Detalle del sitio de extracción de la hemolinfa.....	134
Fig.15 Centrifuga.....	135
Fig.16 Equipos utilizados para la recolección y extracción de la hemolinfa.....	136

Fig.17 Fotómetro de llama utilizado para el análisis del contenido de Sodio y Potasio.....137

Fig.18 Titulador utilizado para la determinación del contenido de Cloruro.....138

Fig.19 Variación de la presión osmótica según el tamaño del camarón.....139

RESUMEN



BIBLIOTECA
DEL LITORAL
MONTAÑA

El presente trabajo trata de explicar aquellos procesos fisiológicos relacionados con la regulación de la concentración de los iones de mayor importancia dentro del proceso de adaptación del P. vannamei a un amplio rango de salinidad.

Se tomaron muestras de agua de diferentes camaroneras y de hemolinfa en un rango de 0-30 ppt. de salinidad y 26,8 +/- 1,3 grados Celcius de temperatura. El peso promedio de los especímenes fue de 11,6 +/- 1,8 g.; fueron muestreados solamente aquellos organismos en estadio de intermuda.

Se registraron concentraciones de potasio desde 5,2 mEq/l a una salinidad de 7 ppt., hasta 23,4 mEq/l a 30 ppt, con una marcada tendencia a mantener las concentraciones por encima de la línea de isotonicidad (línea que refleja el estado de equilibrio entre las concentraciones del medio y de la hemolinfa). Se encontró un valor de isotonicidad para el sodio a aproximadamente 18,4 ppt. de salinidad y para el cloruro a 21,4 ppt. de salinidad. Los valores del sodio mostraron un comportamiento más estable en comparación a los de cloruro, los cuales tienen tendencia ascendente con respecto a la salinidad.

Las fórmulas matemáticas que rigen el comportamiento de los iones de sodio y cloruro son:

$$\text{Na}(\text{hemolinfa}) = 0,06799 \times \text{Na}(\text{agua}) + 237,998 ; r = 0,30$$

$$\text{Cl}(\text{hemolinfa}) = 0,2789 \times \text{Cl}(\text{agua}) + 220,876 ; r = 0,84$$



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARIITIMA

INTRODUCCION

BIBLIOTECA
FAC. MED.
MEDICINA

La mayoría de los invertebrados marinos están en equilibrio osmótico con el agua de mar, pero todos muestran regulación iónica, la cual constituye su principal problema funcional. Los crustáceos, por ser más organizados, realizan una regulación iónica selectiva, la cual depende de una excreción selectiva de iones a través de orina principalmente y de una absorción controlada de los mismos a través de las membranas más permeables.

En general, las relaciones entre salinidad y organismos se evidencian por patrones de distribución, y probablemente la relación más importante de los organismos con la salinidad, es su habilidad de adaptación a diferentes rangos. Una vez que un organismo es capaz de ajustarse a cambios de salinidad, su rango interno de tolerancia va a exceder los usuales cambios del ambiente, de tal manera que la salinidad no va a ser el factor gobernante, y el organismo será capaz de enfrentar condiciones inusuales y colonizar ambientes extremos.

En los Penaeidos se verifica una migración estrechamente relacionada con la variación de salinidad, en otras palabras, la hembra adulta desova en alta mar, donde la salinidad llega a 35 ppt., luego hay una migración de las larvas hacia aguas estuarinas, donde las salinidades pueden bajar a menos de 10 ppt., donde crece hasta

juvenil. Alcanza su estado adulto en el mar, donde concluye su movimiento migratorio.

Se ha probado (26), que el equilibrio existente entre la hemolinfa y el agua de mar, se debe a una regulación iónica activa, ya que algunas especies de Decápodos analizadas (Palinurus elephas, Homarus gammarus, Carcinus maenas, etc) mostraron concentraciones iónicas en el plasma, diferentes de las que se podrían encontrar como resultado de transporte iónico pasivo o a un proceso de equilibrio; lo cual prueba que lo que aparece en estos organismos como un simple equilibrio osmótico, es en efecto un flujo iónico continuo, mantenido con un gasto de energía metabólica.

El desarrollo que ha tenido la actividad camaronera, su establecimiento en zonas de baja salinidad y la dependencia de larvas de laboratorio, han provocado la necesidad de la utilización de procesos de aclimatación previa a la siembra para incrementar el rendimiento.

En la actualidad dicha actividad, a través del entendimiento y la utilización de los mecanismos de regulación iónica, está superando esta etapa algo crítica en el proceso de cultivo del camarón en piscinas.

El P. vannamei, camarón nativo de nuestras costas, ha presentado mayores ventajas para su cultivo en nuestro país, y una ventaja es la de tolerar un amplio rango de salinidad, de 0 a 55 ppt. en las piscinas camaroneras.

Este trabajo tiene como objetivo establecer la salinidad o rango óptimo, en el cual el P. vannamei expende una menor cantidad de energía en realizar la regulación iónica de su hemolinfa, especialmente de los iones regulables más abundantes, Sodio, Potasio y Cloruros. Otro objetivo es tratar de correlacionar el crecimiento del camarón a partir de 10-12 g. (peso en el que normalmente experimenta un estancamiento en su crecimiento) con los cambios de salinidad, suponiendo la existencia de una salinidad óptima para estos tamaños.

Para la consecución del presenta trabajo, se tomaron muestras hemolinfáticas de especímenes de P. vannamei y muestras de agua, a diferentes salinidades, a las cuales se les determinó la concentración de los iones de Sodio, Potasio y Cloruros.



BIBLIOTECA
F. P. Q.
MADRID

I. CARACTERISTICAS DE LA ESPECIE Penaeus vannamei

1.1. Ubicación taxonómica

Clase: Crustácea

Subclase: Malacostraca

Serie: Eumalacostraca

Superorden: Eucarida

Orden: Decápoda

Sub-orden: Natantia

Sección: Penaeida

Familia: Penaeidae

Género: Penaeus

Especie: Penaeus vannamei, (Boone)



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

1.2. Morfología del camarón

Los camarones marinos penaeidos, que son objeto de cultivo, poseen cuerpo alargado cubierto por un exoesqueleto o caparazón de consistencia quitinosa, con sales calcáreas.

Se encuentra dividido en dos grandes regiones que son cefalotórax o cabeza (Perión) y abdómen o cola (Pleón), (fig. 1).

1.2.1. Cefalotorax o Perión

Se encuentra localizado en la parte anterior del organismo y contiene la mayor parte de los órganos vitales, así tenemos: rostro, anténulas (órganos sensitivos), aparato bucal; interiormente se encuentran la parte anterior y media del aparato digestivo, hepatopáncreas, branquias, gónadas; exteriormente se observan 5 pares de patas que le sirven para caminar (periópodos) (fig. 2).



BIBLIOTECA
FED. ING.
MARÍTIMA

1.2.2. Abdómen o Pleón

Este se encuentra en la parte posterior del cuerpo y además, constituye la parte más importante (económicamente) ya que es éste el que se comercializa; el abdómen se extiende desde la parte posterior de la cabeza o cefalotórax hasta el extremo posterior del telson; posee 6 segmentos (somitos) que van reduciendo su diámetro paulatinamente hasta llegar al último que es un poco más largo que los anteriores (característica de los penaei-

dos).

El abdómen o cola está constituida por la masa muscular comestible. Cada uno de los cinco primeros segmentos abdominales presenta un par de apéndices que les sirven para nadar, llamados pleópodos; en el primer par de estos pleópodos se puede observar un carácter morfológico sexual secundario que permite diferenciar a machos y hembras; en la parte final del último segmento se encuentra el telson y dos pares de apéndices llamados urópodos, que en conjunto forman el abanico caudal, que le sirve para impulsarse y defenderse (fig. 3).



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

1.3. Síntesis biológica del camarón

El P. vannamei llamado también camarón blanco del Pacífico, como ocurre con la mayoría de los organismos marinos, pasan cierta etapa de su vida, aunque corta, formando parte del plancton (meroplanctónico), hasta transformarse en una post-larva, estado a partir del cual es utilizado para efectuar su cultivo en criaderos. Los estados larvales y post-larvales migran desde aguas oceánicas más saladas y profundas, de condiciones menos cambiantes hacia esteros, estuarios, etc. (9).

Estos organismos son de fecundación externa, el macho introduce el espermátforo dentro del receptáculo seminal de la hembra, ubicado en la parte postero-ventral del cefalotórax, entre el 4to y 5to par de pereopodos. En los espermátforos se encuentran los espermatozoides que fecundan los óvulos cuando son expulsados por la hembra, hacia el agua.

Luego de algunas horas de realizada la fertilización de los huevos se inicia la formación de los embriones, eclosionan los primeros estadios larvarios o nauplios, que luego por mudas sucesivas pasan a los estadios de zoea y misis. En el estadio de misis, se completa su fase larval y pasa a constituirse en una post-larva, caracterizada por poseer todas las formas de un camarón adulto, a excepción del desarrollo sexual.

La expulsión del exoesqueleto viejo (ecdysis), a pesar de constituir una corta etapa del ciclo de muda del camarón, representa un periodo de relativo peligro para el animal, ya que la mortalidad puede ser alta, por presentarse indefenso ante los factores externos. Uno de los problemas al que se enfrenta el organismo es, desde el punto de vista fisiológico, las considerables variaciones iónicas y la concentración total de iones de los fluidos corporales, ocasionadas por la dilución producida

por la absorción de agua dentro de las células y por cambios en la permeabilidad de la superficie del cuerpo. Otro peligro para el organismo en este estado, es el ataque de los posibles predadores, peligro que persiste hasta que su nueva cutícula está lo suficientemente dura para poder protegerse del enemigo.

1.4. Principales sistemas y su funcionamiento

1.4.1. Sistema digestivo

Comienza con la boca localizada ventralmente. Los alimentos son llevados a la boca ayudados por los maxilípedos de los primeros pares de pereopodos y pasando por un corto esófago llegan al estómago donde se encuentran dos cavidades, la anterior o cámara cardíaca y la posterior o cámara pilórica. En la primera se localiza el molinete gástrico que sirve para ayudar a triturar los alimentos y la cámara posterior contiene las glándulas digestivas. Luego del estómago se continua con el intestino que recorre la parte dorsal del abdomen y termina en el ano.

1.4.2. Sistema respiratorio

Los camarones respiran por medio de branquias, localizadas en las cámaras latero-ventrales del cefalotórax (fig. 4). El mecanismo de la respiración consiste en el intercambio del oxígeno que toma del medio acuático y expulsa el anhídrido carbónico. A través de la experiencia obtenida en la actividad misma de cría de camarones, se ha llegado a observar que este organismo sobrevive a bajas concentraciones de oxígeno, niveles que para otros organismos resultan letales.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

1.4.3. Sistema circulatorio

La hemolinfa es bombeada desde el corazón (fig.5), ubicado en la parte postero-dorsal de la cabeza, hacia una cavidad mayor, que lo reviste, llamada seno pericárdico; desde aquí es enviada a todo el cuerpo del camarón, para luego de nutrir a las células, ser recogida por una vena ventral y llevada hacia los filamentos branquiales en donde se vuelve a oxigenar, para finalmente ser transportada hacia el seno pericárdico en donde,

atravesando los ostios, llega al "corazón" y comienza nuevamente el ciclo (fig. 6).

1.5. Breve descripción para identificación visual

a. Rostro con 8 a 9 dientes sobre su cresta dorsal y 1 a 2 dientes en su cresta ventral. El segundo diente de la cresta ventral está al mismo nivel o delante del primer diente de la cresta dorsal.

b. Cuerpo color cremoso anaranjado, (acaramelado).

c. Antenas o bigotes color anaranjado o rojo brillante, característica que permite distinguir rápidamente esta especie de las otras de camarones blancos (Penaeus stylirostris , Penaeus occidentalis, etc).

d. Rostro más o menos recto y corto, la base notoriamente más ancha.

e. No tiene surcos o canales adrostrales a lo largo del cefalotórax.

f. Los camarones de 25 a 50 mm. de longitud total son dorados con pequeñas manchas rojizas. Los cromatóforos son de color rojo brillante en ejemplares frescos o preservados por menos de dos días. Luego éstos adquieren un color azul.

g. Ejemplares larvales frescos presentan la



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MANILA

característica de poseer de 7 a 8 cromatóforos de color rojizo en el último somito (9).



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

II. IONES

Son átomos o grupo de átomos que están cargados simple o múltiplemente con cargas eléctricas, ya sean positivas (cationes) o negativas (aniones). (10)

Químicamente los iones se comportan de igual manera que los átomos correspondientes. Cuando el átomo captura electrones se forman iones negativos (Cl^- , SO_4^{--}); cuando los átomos ceden electrones se originan los iones positivos (Na^+ , K^+). (10)

En disolución acuosa de sales, ácidos y bases (electrolitos), las partículas disueltas están presentes, en forma de iones. Los iones son influenciados por campos eléctricos y magnéticos. (10)

Al proceso de formación de iones a partir de un átomo o grupo de átomos se denomina como fenómeno de ionización. Para que éste se produzca es necesaria una energía de ionización a la cual se la conceptúa como la energía absorbida y necesaria para la ionización de los átomos; ésta energía se puede producir por choque con partículas

rápidas, por temperatura (fenómenos termodinámicos), por radiaciones ionizantes o por fotoionización.

Debido a que los iones tienen propiedades químicas similares a las de sus átomos, sus efectos físico-químicos son semejantes, ésto es lo que en química se conoce por acción libre electrónica (10).

2.1. Propiedades del Sodio y Potasio

Tanto el sodio como el potasio son elementos considerados alcalinos, de amplia afinidad electrónica para los iones cloruros. Ambos elementos son menos densos que el agua, con densidades que fluctúan entre 0,87 y 0,96 g/ml. (10)

El ión sodio posee un radio atómico e iónico mucho mayor que el del potasio, siendo más electronegativo, el sodio; de ahí su mayor afinidad electrónica para con el cloro.

Uno de los isótopos del sodio (^{24}Na) se lo utiliza en biología y en investigaciones científicas como un ión "trazador", es decir que en presencia de este ión se pueden observar los procesos metabólicos celulares (10)..

En el mar la concentración de ión sodio llega al 1,17% en forma de cloruro de sodio y en mínimas proporciones en forma de carbonato sódico.

Las soluciones acuosas de Cloruro de Sodio nos

permite observar que las reacciones de descomposición de dicha sal es reversible, de donde se puede concluir que este ión siempre estará en búsqueda del ión de carga contraria, formando cloruro de sodio, y a la vez se producirá la disociación de dicha sal en sus iones respectivos. Dada la capacidad electroiónica del sodio, todas las sales que este ión conforma son solubles y al arder dan una llama amarilla (10).

Debido a que este ión tiene una energía de ionización de 118 kcal/mol, su afinidad con el agua es amplia, motivo por el cual el sodio sigue al agua como un "acompañante" electrónico. Esto explicaría los fenómenos de la difusión inter y extracelular en medios acuosos.

El ión sodio es esencialmente un activador de un número específico de sistemas enzimáticos en el metabolismo de los carbohidratos. En los crustáceos el sodio se presenta en la mayoría de los fluidos corporales extracelulares, en combinación con proteínas, cloro (en forma de cloruros) y bicarbonatos.

El Potasio abunda en la naturaleza, pues constituye 2,35% de la corteza terrestre y 0,69% en el agua de mar al estado de cloruro, y se encuentra en forma de cloruros complejos en criaderos marinos,

especialmente al fondo de antiguos mares (11). A diferencia del sodio, el potasio no presenta la misma afinidad que el sodio con los cloruros, siendo el potasio más afín con los bromuros y yoduros. Sin embargo, existe una interrelación entre el ión sodio y el ión potasio desde un punto de vista biológico. Dicha interrelación se da a nivel celular, a manera de la bomba de sodio (este proceso se lo explica detalladamente en el capítulo III), que controla las concentraciones electroiónicas del potasio intracelular y del sodio extracelular (18).

El potasio se encuentra en mayor cantidad dentro de la célula. El contenido de potasio en el agua de mar es relativamente menor que el contenido de sodio, puesto que todas las combinaciones del potasio, refiriéndose a los cloruros y carbonatos específicamente, son absorbidos rápidamente por los suelos marinos.

2.2. Propiedades de los Cloruros

Químicamente los cloruros son combinaciones del cloro con un cuerpo simple o compuesto, a excepción del oxígeno, ya que con esta forma los llamados anhídridos.

Los cloruros metálicos al ser sometidos a electrólisis se disocian en iones negativos que son los cloruros, propiamente dichos y los iones



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

metálicos. Por su localización en la tabla periódica, el cloro presenta una alta electronegatividad, lo que permite a éste ionizarse con gran rapidez y atraer con suma facilidad a los iones metálicos, preferentemente a los iones de los metales alcalinos Sodio y Potasio (10).

Por cloruros se entienden a las sales provenientes del ácido clorhídrico por pérdida de iones hidrógeno, adquiriendo carga negativa.

Los cloruros por provenir de un elemento inorgánico de alta selectividad electrónica y que además posee una amplia electronegatividad (10), pueden atraer a sí elementos metálicos, preferentemente provinientes de los metales alcalinos, tales como sodio y potasio dando lugar a la formación de sales de características químicas definidas.

En el campo bioquímico, los cloruros se los considera como transportadores de elementos metálicos, ya que tienen una amplia acción dentro del espectro intra y extracelular.

En el agua de mar se los encuentra conformando la estructura química principal conocida como cloruro de sodio, que en los análisis químicos cuantitativos nos indica el margen de concentración de sodio, conocido como salinidad, siendo otro parámetro de análisis la clorinidad.

III. REGULACION IONICA EN MEMBRANAS NATURALES

3.1. Transporte pasivo

La termodinámica enseña que en sistemas de presión y temperatura constantes los cambios espontáneos, aquellos que no se deben a la acción de fuerzas externas, sólo se producen a partir de estados de mayor energía libre (llamada también energía de Gibbs), llegándose al equilibrio termodinámico cuando se iguala la energía libre de todos los componentes del sistema.

Según lo expuesto, las sustancias disueltas en compartimientos separados por una membrana biológica tienden a pasar espontáneamente a través de la membrana desde el compartimiento donde su energía libre es mayor. El movimiento cesa cuando la energía de Gibbs de la sustancia en ambos compartimientos se iguala, alcanzando el equilibrio termodinámico. Este tipo de proceso de transporte de sustancias recibe el nombre de "Transporte Pasivo" (19).

La aplicación de los conceptos anteriores a problemas prácticos requiere disponer de expresiones matemáticas que permitan calcular, en unidades de energía/mol, la energía de Gibbs de sustancias en disolución en función de variables medibles. En el caso de sustancias disueltas en medios cuyo potencial eléctrico es distinto de cero, esa expresión es la del potencial electroquímico. En sistemas biológicos, donde por lo general la temperatura y la presión son las mismas en todos los puntos, las variables que afectan el potencial electroquímico de un soluto son su concentración y el potencial eléctrico de la disolución (19).

3.2. Transporte activo

El movimiento de las moléculas (incluyendo las moléculas de agua) hacia afuera o hacia dentro de la célula se debe a fenómenos de difusión, de ósmosis y al "transporte activo. Todas las células pueden acumular y expulsar varias sustancias, independientemente del gradiente de concentración, desafiando las leyes de difusión y de ósmosis. Esto indica que la energía generada por alguna de las reacciones metabólicas que ocurren en la célula, es utilizada, para el transporte de diversas sustancias en contra del gradiente de concentración, reuniendo de esta manera, las moléculas y almacenándolas. Este

tipo de concentración de moléculas a través de las membranas celulares, contra el gradiente de concentración (o contra un gradiente eléctrico) se denomina "Transporte Activo". Se ha comprobado que un fenómeno común, para el paso normal de sustancias entre células y medio ambiente (18).

El paso de un soluto a través de una membrana biológica se realiza por transporte activo cuando se demuestra que hubo una transferencia neta de soluto desde un compartimiento cuyo potencial electroquímico es menor hasta otro compartimiento donde el potencial electroquímico es mayor, buscando un equilibrio para evitar una presión excesiva sobre la membrana (18).

La definición de transporte activo implica que tal proceso puede engendrar diferencias de potencial electroquímico entre dos compartimientos, hecho que proporciona un segundo criterio para comprobar que un soluto es sometido a un transporte activo. En efecto, cuando entre dos compartimientos hay una diferencia de potencial electroquímico para un soluto ni consumido ni producido en ellos y capaz de atravesar la membrana que los separa, necesariamente debe haber transporte activo del soluto desde el compartimiento de menor al de mayor potencial electroquímico.

Muchas veces hay una pequeña concentración de sustancia en el líquido extracelular, pero se necesita una gran concentración de sustancia en el líquido intracelular. Por ejemplo, ocurre así con los iones de potasio. Inversamente, otras sustancias muchas veces penetran en las células y deben ser eliminadas, aunque la concentración dentro de la célula es mucho menor que en el exterior. Esto ocurre con los iones de sodio.

Entre las diversas sustancias que son transportadas activamente a través de la membrana celular, están los iones de sodio, potasio, calcio, hierro, hidrógeno, cloruro, yoduro, urato, diferentes azúcares y los aminoácidos (18).

3.2.1. Fuente de Energía

El transporte activo es un proceso que implica un incremento de la energía de Gibbs del soluto transportado. La transferencia de un soluto por transporte activo sólo tendrá lugar si se asocia a otro proceso que implique disminución de energía de Gibbs.

El proceso que proporciona el componente negativo de energía de Gibbs se suele denominar "fuente de energía" y en cualquier sistema de transporte activo está asociado

al proceso de transferencia de materia. De esa manera, si no ocurre el proceso de la fuente de energía, no habrá transferencia. La dependencia subsiste aún en condiciones en que la transferencia de materia se realiza a favor de una diferencia de potencial electroquímico.

La distribución final de un soluto sometido a transporte activo es estacionaria. Dado que no hay membranas totalmente impermeables a los solutos susceptibles de ser transportados activamente, la diferencia de potencial electroquímico generada por el transporte activo tiende a disiparse por transporte pasivo. De esta manera se alcanza una distribución estacionaria de soluto en que la velocidad de transferencia activa iguala la de transferencia pasiva. La conservación de esa distribución estacionaria requiere el suministro continuo de substrato a la fuente de energía. En una célula este suministro lo hace el metabolismo. El transporte activo, por lo tanto, depende del metabolismo celular para la provisión del substrato de la fuente de energía. Esto suministra otro criterio para caracterizar un proceso de transporte como activo, puesto que todo movimiento de

esta naturaleza y la resultante distribución de solutos se cancela cuando el metabolismo se detiene (19).

3.3. Equilibrio Gibbs-Donnan

Entre la célula y el medio que la rodea pueden distinguirse dos compartimientos separados por la membrana celular; el medio intracelular y el extracelular. Definidas las condiciones que rigen la distribución en equilibrio de un soluto entre dos compartimientos, es posible analizar las consecuencias de una condición en la cual todos los iones están distribuidos entre la célula y el medio en estado de equilibrio termodinámico. Para ello es necesario considerar que el medio intracelular contiene sustancias, como proteínas, ácidos nucleicos, ésteres fosfóricos, etc. que a un pH fisiológico tienen carga neta negativa y que, por su tamaño, no atraviesan la membrana celular. Por esta razón, en primera aproximación, la distribución iónica celular en equilibrio termodinámico puede encararse estudiando la distribución de iones entre dos compartimientos, uno de los cuales contiene aniones que no atraviesan la membrana. En estas condiciones, los iones difusibles se distribuyen entre ambos compartimientos y alcanzan un equilibrio que se denomina equilibrio de Gibbs-Donnan.

El sistema debe satisfacer simultáneamente los siguientes requisitos:

- a. Electroneutralidad.- en ambos compartimientos el total de cargas (+) debe ser igual al total de cargas (-).
- b. Equilibrio termodinámico.
- c. Desequilibrio osmótico.

El resultado del proceso de equilibrio es el siguiente:

La concentración total de iones difusibles en el compartimiento intracelular que contiene el anión no difusible es mayor que la concentración total de iones difusibles en el otro compartimiento (extracelular).

La concentración total de solutos en el compartimiento intracelular, será la de los iones difusibles más la del anión no difusible. Por las consecuencias que este hecho puede tener en la vida celular conviene analizarlo. Dado que la concentración total de solutos determina la presión osmótica de una disolución, cuando los iones se distribuyen en equilibrio Gibbs-Donnan necesariamente se cumple que:

$$P \text{ osmótica intracel.} > P \text{ osmótica extracel.}$$

Como consecuencia de la desigualdad, el agua tiende

espontáneamente a penetrar en el compartimiento intracelular. Esto altera la concentración de iones difusibles en dicho compartimiento alejándolos del estado de equilibrio Gibbs-Donnan. La vuelta a ese estado de equilibrio restablece la diferencia de presión osmótica, se inicia un nuevo paso de agua, una nueva redistribución de iones y así indefinidamente. Como consecuencia a este proceso, el compartimiento intracelular que contiene el anión no difusible gana agua progresivamente y su volúmen aumenta de manera indefinida. Por lo tanto, si todos los aniones intracelulares difusibles alcanzaran equilibrio termodinámico con los iones presentes en el medio extracelular, una célula no podría mantener constante su volúmen, pues ganaría agua hasta distender y romper la membrana celular, con la consiguiente desintegración de la célula por lisis. Este proceso es la causa de la lisis que sufren células suspendidas en medios isotónicos cuando su metabolismo se paraliza.

La constancia del volúmen celular requiere entonces procesos que den lugar a movimientos iónicos que promuevan distribuciones alejadas del estado de equilibrio termodinámico.

3.4. Selectividad de las membranas

La capacidad de seleccionar con alto grado de preci-

sión las sustancias de estructura química similar es común a todos los mecanismos de transporte y capacita a las membranas biológicas para su papel regulador de los intercambios de materia entre la célula y el medio.

Debido a que la selectividad de las membranas artificiales bilipídicas es mucho menor que la de las membranas biológicas, se deduce que las proteínas son responsables por la mayor selectividad de las membranas biológicas con relación al movimiento de los iones.

Los procesos fisicoquímicos de la selectividad de los cationes de la serie alcalina (Li, Na, K, Rb y Cs) fueron explicados por Eisenman et al. (19), cuya teoría se basa en las variaciones de energía de Gibbs que tienen lugar cuando un catión en disolución se intercambia por otro asociado a un grupo aniónico fijo por medio de interacciones electrostáticas. Se demostró que la intensidad del campo aniónico generado por los grupos fijos determina la secuencia con que un catión de la serie alcalina es preferido a otro de la misma serie durante la reacción de intercambio. Las secuencias de la selección calculadas teóricamente coinciden con las encontradas en los sistemas biológicos.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

IV. REGULACION IONICA DE LA HEMOLINFA

La principal cavidad corporal de los artrópodos es un hemoceloma (senos o espacios en el tejido lleno de sangre), además éstos no muestran desarrollo de un fluido intersticial y de un sistema linfático separados de la sangre, debido a que la sangre está en contacto directo con los tejidos. Ya que la sangre de estos organismos, combina las funciones de fluidos intersticiales y circulatorios, ésta es comúnmente llamada Hemolinfa.

La hemolinfa contiene un grupo de pigmentos llamados Hemocianinas, los cuales se encuentran libres en la sangre, pero nunca se los ha encontrado a nivel intracelular. Estos son proteínas que contienen cobre, y pueden combinarse reversiblemente con el O_2 . En la forma reducida son incoloros, y en la forma oxigenada son azules, lo cual le da el color a la hemolinfa.

Con una diferencia del 1-2%, la sangre de muchos crustáceos marinos tiene la misma concentración total de iones y otras partículas osmóticamente activas, que el agua de mar. Es decir que el plasma sanguíneo y el

ambiente marino están en equilibrio osmótico a través de membranas permeables, tales como las agallas (cuadro 1).

Este equilibrio se debe posiblemente al resultado de un proceso de Donnan; de un transporte iónico pasivo o activo.

4.1. Transporte activo de sodio y potasio

Casi todas las células contienen más potasio que sodio. Sin embargo la composición del medio que las rodea muestra que la concentración de ambos iones es inversa a la de las células; la composición del fluido extracelular contiene más Na^+ que K^- .

Esto hace que a través de la membrana celular surja una diferencia de potencial electroquímico de sodio que tenderá a disiparse induciendo la entrada de sodio en el medio intracelular, así como una diferencia de potencial electroquímico de potasio que tenderá también a disiparse provocando la salida del mismo del medio intracelular.

El bajo contenido de sodio y el alto contenido de potasio intracelulares observados en condiciones fisiológicas, deben ser consecuencia de un transporte activo que genere un flujo de sodio hacia el exterior y otro de potasio hacia el interior de la célula, generando una distribución alejada del

equilibrio; dicho mecanismo que bombea sodio al exterior y potasio al interior de la célula, se lo denomina "bomba de sodio".

Se desconoce por qué las células mantienen esa diferencia de composición iónica con el medio. Sin embargo hay varios procesos esenciales que requieren de potasio y no de sodio. Pero, además la distribución asimétrica de iones que resulta de este transporte activo, es indispensable para mantener el volumen y la integridad celular. De no ser así se produciría una distribución entre la célula y el medio de acuerdo con el equilibrio de Gibbs-Donnan, lo cual resultaría en una lisis celular.

Cuando el medio en el que se encuentran las células no contiene potasio, no hay transporte activo de sodio. A medida que la concentración del potasio externo aumenta, aumenta también la salida de sodio a través de la bomba. Los componentes activos del flujo de salida de sodio y del flujo de entrada de potasio presentan la misma dependencia con el potasio extracelular. Se puede decir que la combinación del potasio con el sistema de transporte es requerida no sólo para su entrada en la célula, sino también para la salida de sodio. Este hecho experimental sugiere que la entrada de potasio y la salida de sodio son simultáneas y que, en consecuencia, el potasio se intercambia con el sodio a través de

la bomba. Es decir que dicho flujo de entrada de potasio y de salida de sodio son fenómenos acoplados.

En células aeróbicas, la energía que consume la bomba de sodio proviene de la respiración, en tanto, que en las células anaeróbicas proviene de la glicólisis (descomposición de la glucosa). Mas, se demuestra que en ambas células la fuente de energía es la hidrólisis del ATP, la cual se hidroliza en difosfato de adenosina y ortofosfatos. Esto permite afirmar que la bomba de sodio acopla la hidrólisis del ATP al intercambio de sodio y potasio.

Desde que la bomba de sodio transporta sodio sólo cuando dispone de potasio, es lícito suponer que el sistema tiene las propiedades de una enzima ATPasa activada por Na y K conjuntamente. Se concluye que la hidrólisis del ATP, por la ATPasa activada por iones sodio y potasio sirve para describir el sistema de transporte de sodio y potasio y la medida de los flujos de sodio y potasio dependientes de la hidrólisis del ATP.

La ATPasa es una enzima que ha sido estudiada en los tejidos de varios organismos al respecto de su relación de transporte de cationes por los mismos. Las propiedades del sistema enzimático activado por sodio y potasio y del sistema de transporte para

sodio y potasio, son las mismas. Estos dos sistemas (enzimas y transporte) están localizados en la membrana; los dos prefieren hidrolizar ATP a otros trifosfatos nucleótidos; los dos requieren Na y un ión-portador (ión que al combinarse con otra sustancia, produce la movilidad o transporte de ésta a través de determinados medios) como el Potasio y los dos son inhibidos por glucósidos cardiacos como "ouabain". Este sistema enzimático ha sido probado en las agallas e intestino de algunos crustáceos; en el intestino de la Artemia salina y en las branquias del cangrejo de río (16).

La ATPasa está involucrada en la toma de sales para mantener la hiperosmolaridad de la hemolinfa (17).

4.2. Regulación activa de cloruros

Teóricamente (20) se esperaría que la cantidad de cloruros en el agua de mar y en los fluidos corporales de invertebrados marinos, sea del mismo orden; con la excepción de una pequeña disminución en el contenido de la sangre debido a las proteínas no difusibles que contiene el suero, factor que contribuye a la realización del equilibrio de Donnan. Pero, una diferencia en la concentración de cloruros del orden de 0,8% de NaCl entre la hemolinfa y el agua de mar, no podría resultar de un

transporte pasivo, más bien es el resultado de una excreción activa de cloruros del cuerpo al medio exterior, de la misma manera que se lleva cabo una absorción activa de cloruro cuando el organismo se encuentra a menor salinidad o en agua dulce.

Krogh et al. (20) han establecido que la absorción activa de iones, particularmente cloruros, es una característica esencial del proceso de adaptación y que es el transporte activo de iones a través de las membranas que separan el medio interior del exterior, el que hace posible que muchos organismos acuáticos mantengan gradientes osmóticos estables. Esto es característico de especies de aguas dulces y salobres.

4.3. Salinidad y los crustáceos

La salinidad está definida como:

la cantidad total de material sólido en gramos, contenida en 1 kilogramo de agua salada, cuando los carbonatos se han convertido en óxido, el bromo y el yodo han sido reemplazados por cloro, y toda la materia orgánica se ha oxidado completamente (22).

Esta expresada en partes por mil ("ppt."). La salinidad promedio total del agua de mar es de

aproximadamente 35 ppt (cuadro 2).

La principal diferencia del agua oceánica con el agua dulce, es que en la primera hay mayor abundancia de cloruro de sodio y carbonato de calcio. Según Knipovich (22), la salinidad que marca la línea divisoria entre el agua de mar y el agua salobre es de 24,695 ppt.

4.3.1. Distribución según la salinidad

Las limitaciones de distribución debido a la salinidad deben venir desde los principios de la vida, Shelford (20) enfatiza que los efectos limitantes de los factores físicos son a menudo ejercidos en los estadios reproductivos o en los juveniles.

La salinidad es uno de los factores abióticos más importantes para los organismos acuáticos. Los cambios de salinidad a los que están expuestos los organismos marinos, en condiciones naturales, afectan considerablemente sus funciones fisiológicas, sus células y tejidos, su crecimiento, desarrollo y reproducción.

Los organismos se dividen en dos grupos; Holosmóticos los que durante todo el ciclo de



BIBLIOTECA
DEL LICEO
MARITIMO

vida habitan sólo aguas de una misma salinidad y los Merosmoticos los que en el transcurso de su vida necesitan migrar a aguas de diferentes salinidades.

La mayoría de las especies acuáticas son estenohalinas, sólo una minoría eurihalina, puede tolerar amplios rangos de salinidad. Entre los dos grupos no hay una división marcada, ya que los organismos muestran cambios graduales de un tipo a otro.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

En condiciones estuarinas, el principal problema de adaptación fisiológica, es el enfrentamiento a los cambios externos, especialmente los cambios de salinidad, desde el punto de vista del decrecimiento de la presión osmótica y de la deficiencia de sales necesarias para los procesos fisiológicos.

En las costas tropicales, la mayoría de las especies de invertebrados marinos, están presentes en la fauna estuarina. Desde el punto de vista comercial, encontramos la presencia de langostinos y camarones de la familia penaeidae (*Penaeus* y *Metapenaeus*). La mayoría de las especies de invertebrados marinos, no son capaces de tolerar cambios en el medio externo, ya que éstos se mantienen

en equilibrio osmótico con el medio y no están aptos para prevenir los cambios correspondientes que ocurren en su interior. Cuando son transferidos a salinidades menores, de menor concentración osmótica, causa una entrada de agua que invade los tejidos y provoca un escape de las sales internas por difusión. Esto representa la necesidad de que dichas especies marinas, sean capaces de mantener sus tejidos en estado de actividad funcional, desafiando los cambios externos. Se han comprobado algunas variante en las especies marinas que se han establecido en condiciones estuarinas (21).

Así, la gran mayoría de especies estuarinas, poseen un mecanismo definitivo de adaptación dirigido a mantener el equilibrio de los fluidos corporales. El grado de hipertonicidad observado en las especies es una medida del grado de adaptación del organismo, encontrándose más desarrollado en especies de agua dulce. Unas pocas especies marinas muestran regulación hiposmótica, la cual representa el mecanismo osmótico más perfeccionado visto en invertebrados (el mecanismo más próximo al que poseen los teleosteos). Este tipo de regulación se encuentra en crustáceos que habitan aguas marinas, entre los cuales se

puede citar al Metapenaeus monoceros y en forma menos marcada en Penaeus indicus, P. carinatus y M. dobsoni. La característica esencial de la regulación hiposmótica con relación a la adaptación a medios estuarinos, es que debido a que en el mar dichas especies mantienen el nivel de la sangre a concentraciones considerablemente menores al medio, el entrar a medios estuarinos no representa un trabajo osmótico adicional, característica que es, en efecto, una gran ventaja para la colonización de estos medios.

Observando el superior desarrollo alcanzado por la fauna estuarina en los trópicos, se impone la necesidad de relacionar la adaptación a medios estuarinos con la temperatura. La hipótesis de Von Martens dice que la relativa uniformidad de la temperatura de las aguas tropicales, caracterizada por la ausencia de períodos de agudo invierno, la presencia de desembocaduras de grandes ríos que van al mar y por la gran precipitación lluviosa, son las características principales que han contribuido al desarrollo de la variada y abundante fauna de los estuarios. Broekhuysen y Broekema (20) encontraron una indiscutible correlación inversa entre la

temperatura y la salinidad, como factor importante en la adaptación de las especies a estos medios.

La colonización de regiones más cálidas por crustáceos de aguas salobres y dulces, resulta más fácil debido a que las temperaturas mayores tienden a favorecer un límite mayor de tolerancia a la dilución, es decir que no habiendo la variación de temperatura que hay en regiones de menor temperatura, la energía gastada para compensar dichas variaciones es mejor aprovechada en la regulación osmótica.

Los comportamientos migratorios de muchas especies, proveen evidencias de que la temperaturas altas favorecen la penetración de éstas en las regiones más diluidas y que en tiempos invernales salinidades mayores son preferidas. Panikkar y Broekema (21) encontraron un ciclo estacional en la concentración osmótica de varios crustáceos, que implica valores mayores para el invierno y menores en el verano. Esto deja entrever que hay un movimiento en el valor óptimo de la concentración interna de la sangre, cuando hay cambios en la temperatura exterior; también tomando como base la correlación inversa

entre la temperatura y la salinidad se deduce que hay una diferencia en la cantidad de trabajo regulatorio de la especie, lo cual es posiblemente la explicación de las migraciones a áreas específicas, de las especies estuarinas. Considerando la distribución temperatura-salinidad, según el criterio evolucionario de Huxley (20), se puede decir que dicha relación es una cuestión de "pre-adaptación".

El establecimiento permanente de especies marinas en aguas estuarinas está relacionado con la eficiencia de mecanismos osmoreguladores tanto en los estadios larvales como en las fases de adulto y de aspectos de adaptación bioquímica a salinidades menores (20). La provisión de suficiente ceniza (minerales) en el huevo, necesaria para el completo desarrollo y organización del embrión, será imprescindible en el nuevo habitat ya que en el mar los organismos dependen normalmente, del ambiente para suplir sus requerimientos inorgánicos. Los requerimientos anteriormente citados, unidos a otros factores biológicos como disponibilidad de alimento y competencia con otras especies, son determinantes para establecer la adaptación exitosa de las espe-

cies marinas en aguas salobres.

Los juveniles de muchas especies consideradas marinas, requieren aguas de baja salinidad para su desarrollo, así como organismos adultos de especies de agua dulce necesitan de aguas salobres para su desarrollo gonadal, desove y pre-cría.

Koch y Heuts (1), encontraron una modificación substancial en las funciones osmoreguladoras de animales sexualmente maduros.

Un comportamiento migratorio común en camarones penaeidos eurihalinos, es que los especímenes maduros regresan a aguas de mayor salinidad para el apareamiento (5); ésto se comprueba al no encontrarse camarones maduros en aguas de baja salinidad, además que hay evidencias que indican que camarones que no han podido alcanzar mayor salinidad no maduran (5). Una posible explicación para la búsqueda de mayor salinidad, puede ser debido a un cambio en la capacidad osmoreguladora con la maduración. Al respecto de este comportamiento Panikkar (21) concluye, que la distribución más amplia de juveniles, que de adultos, en aguas salobres, indica que una adaptación a salinidades menores, está más

desarrollada en los estadios más jóvenes, que en los adultos, (particularmente aquellos en fases reproductivas); sugiere también que el decrecimiento de la capacidad osmoreguladora induce al camarón (camarones de aguas oceánicas) a volver a aguas oceánicas. Como complemento a la mayor capacidad osmoreguladora de los estadios más jóvenes, se puede acotar que los estadios más desarrollados de la ontogénesis poseen un mayor grado de eurihalinidad. Otra explicación para el retorno de los adultos a aguas de mayor salinidad, puede ser que las altas salinidades sean necesarias para la eclosión de los huevos o para el desarrollo larvario. Castille y Lawrence (5), demostraron que a pesar de que las capacidades de regulación hiperosmótica en P. setiferus y P. stylirostris están reducidas, especímenes adultos son aún capaces de regulación hiperosmótica a salinidades debajo de la concentración isosmótica, lo que confirma que las migraciones a agua oceánica no son necesariamente debido a necesidades de regulación osmótica. Por lo que concluyen que si la capacidad hiperreguladora altamente desarrollada que poseen los juveniles, no es necesaria en los adultos, aparentemente no habría ventajas para que éstos la posean.

Los Decápodos son invertebrados característicos de aguas estuarinas y dulces, principalmente en climas tropicales. Estos mantienen la concentración de sus fluidos corporales, arriba de la del medio exterior, así deben expender energía para reemplazar la pérdida iónica en la orina y por la superficie del cuerpo. La mayor razón metabólica observada en organismos de agua dulce, en comparación con las de especies isotónicas marinas y la de organismos transferidos de salinidades mayores a menores se debe a este hecho.

Particularmente, los de agua dulce, son este-nóhalinos y no sobreviven en agua de mar, y aparentemente éstos han perdido su cualidad de ajustarse a los cambios, al ganar habilidad en retener sales en medios hipotónicos (20).

Entre los crustáceos de agua dulce que han invadido aguas saladas está el camarón de río Macrobrachium, que por permanecer, en la mayoría de los estadios larvales en el huevo, protegen a los juveniles de severos cambios osmóticos, verificándose una clara adaptación de éstos organismos al agua salobre (26). Sólo las hembras de este género, migran a

aguas de mayor salinidad, después de la cópula (26).

El patrón de distribución de las especies indica que las salinidades costeras, son las óptimas y que a medida que la salinidad decrece, sucede lo mismo con el número de especies. Además existen evidencias fisiológicas indicando que la salinidad es definitivamente un factor limitante para los organismos marinos, especialmente si varía en forma decreciente.

También debemos considerar que factores ecológicos, alimenticios y térmicos podrían incidir en la propagación de organismos en rangos de salinidad tolerados por éstos.

El gasto energético, que implica el proceso de regulación osmótica ha sido considerado por Potts (16), el cual evalúa el mínimo de trabajo termodinámico realizado en términos de área, permeabilidad y concentraciones de la sangre, orina y el fluido externo, llegando a la conclusión de que una reducción en la concentración de la sangre de los organismos marinos que pasan a medios estuarinos, es la mejor manera de facilitar el esfuerzo que

implican los procesos osmoregulatorios. Cálculos al respecto, muestran que para dos decápodos analizados (*Astacus* y *Eriocheir*), el gasto mínimo de energía en la regulación osmótica en agua dulce, no sería mayor al 1-2% de la energía metabólica total que se estima se gastaría en el consumo de oxígeno.

4.3.2. Salinidad relacionada con la estructura y tamaño

Hay varias formas en que los sistemas excretorio y respiratorio pueden modificarse en relación con la salinidad del medio, así como el alargamiento de las glándulas excretoras y algunas modificaciones estructurales (fig. 7).

Relaciones generales entre condiciones de baja salinidad y reducción del tamaño han sido observadas por varios autores (22).

Hay una clara relación entre salinidad y tamaño, válida para organismos móviles de estuarios y costas poco profundas. En general organismos merosmóticos emigran para aguas menos salinas luego del desove, y algunas especies deben llegar a zonas estuarinas o morirían, éste es el caso de *Penaeus sp.*, del cual afirman Weymouth, Lindner y Anderson

(22) que se mueve generalmente hacia el mar en el verano y en el otoño, así hay siempre un gradiente de disminución de tamaño de las aguas de alta salinidad hacia las dulces.

Se puede decir que parece haber una peculiar predilección de los juveniles marinos por las bajas salinidades, la que se pierde gradualmente a medida que crecen, y así la relación de salinidad y tamaño de los organismos móviles, es probablemente una relación real con la salinidad.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Según experimentos realizados (16), se ha demostrado que la razón de crecimiento de los invertebrados marinos decrece con desviaciones de la salinidad de los valores óptimos, y que el rango de fluctuación de dicha razón de crecimiento está en función de la eurihalinidad del organismo.

Efectos de la salinidad dependientes de la temperatura, en el crecimiento de invertebrados, han sido analizados; Kinne (16) observó un incremento en la razón de las mudas de anfípodos marinos, como respuesta a un incremento en la temperatura y no en la salinidad.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

V. REGULACION IONICA EN CRUSTACEOS

5.1. Mecanismo general de regulación iónica

El tema del transporte activo de iones a través de las membranas animales (21), el cual ha progresado mucho en los últimos años, desde que fue demostrado por primera vez en animales acuáticos, por Krogh et al., es uno de los mecanismos que hace posible las regulaciones hipo e hiperosmóticas. Esto es especialmente significativo para organismos de aguas dulces y salobres, para los cuales hay suficiente evidencia para afirmar que, la habilidad de los organismos acuáticos para asimilar los iones cloruros, (aunque éstos se hallen presentes sólo en cantidades muy poco mayores a los demás iones) existe, lo cual explica que el nivel de sales de su hemolinfa sea mantenido a niveles relativamente mayores a los del medio exterior (20).

Los sistemas internos de circulación, respiración, absorción y transporte de sales funcionan como una

unidad integrada; cambios en cualquiera de éstos, afectará a los demás (17).

Varios procesos están involucrados en la regulación de la concentración de la sangre a un nivel diferente al del medio:

- Reducción en la permeabilidad de la superficie del cuerpo del organismo.
- Tolerancia a nivel celular a las variaciones de la concentración de la sangre.
- La habilidad para transportar iones inorgánicos en contra del gradiente de concentración a través de la superficie del organismo.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Cada uno de los componentes iónicos, existentes en la compleja mezcla del agua de mar, tienen propiedades específicas. A pesar de que la total concentración de sales en un organismo sea casi isotónica con el medio externo, (como generalmente ocurre con los crustáceos marinos), la proporción de iones será diferente a la del medio exterior, particularmente en los tejidos, es decir en el fluido intracelular; esta afirmación lleva a la conclusión de que la regulación se lleva a cabo en los medios intra y extracelulares (16).

Experimentos realizados con varios Decápodos (26) muestran que en casi todos, se lleva a cabo una regulación iónica activa, la cual consiste en mante-

ner altos los valores de los iones Na^+ , K^+ y Ca^{++} y bajos los de Mg^{++} y SO_4^{--} , los iones de Cl^- permanecen cerca del equilibrio. Para sistemas en equilibrio osmótico, cualquier reducción de Mg^{++} o de SO_4^{--} debe ser favorable desde el punto de vista de la concentración iónica total y del balance catión-anión. Esta compensación recae en los iones de Na^+ y Cl^- , que son los más abundantes, incrementándose éstos a su vez cuando disminuye el Mg^{++} , el cual aumenta cuando el SO_4 disminuye o decrece ocasionalmente cuando el contenido iónico de SO_4^{--} es mayor que el valor de equilibrio.

En general las proporciones de Na y Cl en la hemolinfa son aproximadas a las del medio, no siendo así con el K y el Ca cuyos contenidos son mayores en el interior del organismo, mientras que el contenido de magnesio es aproximadamente la mitad que la concentración del agua (26).

La diferencia a nivel iónico más obvia entre la sangre y el medio, es que la sangre posee menor concentración de Mg; se ha encontrado que hay una correlación directa entre la actividad de los organismos y el nivel de Mg en la hemolinfa. A menor concentración en la sangre, mayor actividad en el organismo (26).

En general, los iones cruzan las membranas naturales dependiendo de la motilidad de cada uno: $\text{K}^- \rightarrow \text{Na}^+$

$\text{Ca}^{++} > \text{Mg}^{++} > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{--}$, pero la razón de difusión no cuenta para explicar las diferencias encontradas en los fluidos de los organismos.

Hay 4 factores que contribuyen a mantener las diferencias iónicas entre el medio y la hemolinfa (16):

- El establecimiento de un equilibrio Gibbs-Donnan.
- Pérdida de iones a través de la orina.
- Transporte activo de iones a través de la superficie del cuerpo.
- Enlaces iónicos por medio de proteínas sanguíneas.

Debido a la gran cantidad de proteínas presentes en la sangre de muchas especies, se deduce que la regulación iónica se debe en gran parte al establecimiento de complejos ión-proteína o al equilibrio de Gibbs-Donnan, lo cual implica la existencia de un transporte activo.

La distribución iónica en las membranas está a cargo del transporte activo y de gradientes eléctricos, los cuales están determinados por los gradientes de concentración iónica a través de las membranas y por la selectividad iónica de las mismas.

Una de las propiedades más importantes de los organismos de aguas dulces es la habilidad para mantener a nivel constante las concentraciones de sales de sus fluidos internos, en un medio que es

relativamente deficiente en sales. Las principales características de adaptación son; la relativa baja permeabilidad del integumento, la absorción activa de iones cloruros del medio exterior y la eliminación del exceso de agua del cuerpo gracias a la producción de grandes cantidades de orina hipotónica; lo cual es posible en gran parte, a la reabsorción de sales del canal nefrídico antes de la descarga de la orina.

La pérdida de iones por la orina está reemplazada (en la mayoría de los casos) por absorción activa de iones a través del intestino o por la superficie del cuerpo.

Hay varias vías de absorción y pérdida de iones y de agua en los decápodos acuáticos; en organismos en estado de equilibrio, los flujos deben ser iguales por todas las vías. Durante la intermuda, las principales rutas de entrada son las branquias y el intestino; y la salida es realizada por dichas vías y por las glándulas antenales.

La evaluación de los flujos a través de los diferentes puntos es difícil de realizar. Estas pueden ser hechas a través de mediciones de la razón de absorción de agua, el flujo de orina y la composición de la orina, así como también del flujo por las branquias. En muchos casos se puede medir un potencial transepitelial entre el organismo y el ambien-

te.

En un organismo los flujos de iones se ven afectados no sólo por el gradiente entre el medio y la hemolinfa sino también por los "latidos del corazón", la razón de flujo de la sangre a través de las branquias y la magnitud de irrigación de las branquias por el medio.

La pérdida de los iones es realizada a diferentes velocidades, lo que implica que son necesarios diferentes mecanismos para la absorción de los diferentes iones.

Los iones de sodio y cloruros usualmente son absorbidos juntos, pero si el balance iónico del organismo es perturbado, uno u otro es absorbido con mayor rapidez.

A pesar de que los mecanismos de absorción para sodio y cloruros parecen ser distintos, se cree que el sistema de transporte de cloruros es dependiente de el sodio, ya que la concentración absoluta de la sangre es establecida por el mecanismo de sodio y el mecanismo de cloruros ayuda a mantener una razón constante de Na/Cl en la sangre (16).

Cuando el sodio es absorbido sin el cloruro o viceversa, una cantidad similar de iones con la misma carga deben ser liberados del cuerpo, ya que la neutralidad eléctrica debe ser mantenida.

El mantenimiento de la concentración de la sangre y

de las proporciones iónicas, están influenciados por los siguientes factores:

a. Concentración de la Hemolinfa.- Se empieza a detectar un incremento en el nivel de la regulación usual de la pérdida de sodio en el organismo, al haber una disminución en la concentración de la hemolinfa del 1-2%, llegando al razón máxima de transporte, cuando la concentración ha bajado en un proporción del 6-8%. Este incremento en la absorción iónica intenta llevar la concentración de la sangre a su nivel normal, y a medida que dicho nivel se acerca, la razón de absorción declina a su nivel usual. Si se produce una disminución muy pronunciada de la concentración hemolinfática, el incremento en la absorción no será tan marcado, lo cual se debe seguramente a daños ocasionados en los tejidos.

b. Concentración del medio.- Cualquier cambio en el medio, se refleja en cambios en el gradiente de concentración iónico entre la sangre y las células y entre la sangre y el medio. Así también, cambios en las concentraciones del medio afectan al metabolismo a nivel de los tejidos y a los mecanismos reguladores de la sangre. Una disminución en la concentración de la sangre resultará también en la disminución de la entrada de sodio a las células, debido a que el gradiente para el sodio entre la sangre y la célula ha declinado.

La absorción total de sodio es el producto de la razón de absorción por cada sitio de absorción y del número total de sitios de absorción que estén activos. Si la concentración del medio es reducida por debajo del nivel requerido para saturar dichos sitios de absorción, la absorción total decrecerá para balancear la pérdida normal de sodio del organismo y lógicamente, la concentración de la sangre decrecerá también. Se observará una pérdida neta de sales sólo hasta cuando la caída del nivel de concentración de la sangre sea suficiente para activar sitios adicionales de absorción, en un intento de balancear dicha pérdida. El nuevo nivel de la sangre, será mantenido constante pero a niveles subnormales, lo cual no es ventajoso, es más, los crustáceos que habitan aguas diluidas, han desarrollado sistemas activos de absorción con una afinidad mucho mayor para el sodio que las formas que habitan medios más salinos.

c. Temperatura.- El incremento o disminución de la temperatura, provoca una reacción en la absorción y pérdida iónica; así una baja de temperatura está seguida por una disminución en la concentración de la sangre. Sin embargo, la sangre llega a una nueva concentración estable, a un nivel ligeramente menor del nivel original, debido a que una baja en la concentración hemolinfática activa el mecanismo de absorción iónica.

En casos de altas temperaturas, los niveles de sodio de la sangre caen y los de los tejidos se incrementan, mientras que ocurre lo contrario para el potasio. Lockwood (16) concluye que la muerte ocasionada por altas temperaturas se debe en parte a una alteración en las proporciones iónicas normales de sodio y potasio entre la sangre y los tejidos, a partir de lo cual se desencadena la Paranecrosis celular.

Según Castille y Lawrence (6), el sodio y los cloruros son los principales solutos activos osmóticamente tanto en el agua de mar como en la hemolinfa. Estos contribuyen en un 94%, a la concentración osmótica total del agua de mar, pero en el caso de la hemolinfa las especies Sicyonia brevirostris y S. dorsalis, contribuyen en un 88%, lo que indica que debe haber otros componentes osmóticamente activos en la sangre. Concentraciones de proteínas osmóticamente significantes han sido reportadas en la hemolinfa de varias especies de camarones (6).

El contenido iónico incide en la circulación y digestión de los camarones, ya que un exceso de sodio incrementa el ritmo cardíaco, provocando una fatiga eventual y un arresto sistólico del corazón. El cloruro activa la amilasa que una enzima digestiva.



BIBLIOTECA
FACULTAD DE
MEDICINA

Se ha verificado una reducción del flujo iónico, cuando se aclimata a salinidades menores.

La secreción y retención activa de iones en contra de los gradientes, han sido demostradas para muchos animales marinos, aunque se ha verificado que muchos de los casos son ejemplos de complejos fenómenos de equilibrio, los cuales son esencialmente procesos mecánicos en la naturaleza.

Las concentraciones iónicas de los organismos pueden variar estacionalmente, con el sexo, inanición, madurez sexual, la edad, el momento de recolección, la temperatura, el estado de la marea, estadio del ciclo de intermuda, etc.

El comportamiento de muda es esencial en el crecimiento de los crustáceos, éstos poseen un exoesqueleto con una alta concentración de calcio, se ha encontrado que hay una estrecha relación entre el metabolismo del calcio, crecimiento, muda y la presión osmótica (21). Por ejemplo, la concentración de Ca en la hemolinfa en la intermuda, cuando no hay calcificación activa, se mantiene ligeramente hiperiónica con respecto al agua de mar; pero en la pre-muda, la concentración se incrementa bruscamente (21).

Otra importancia del calcio en los organismos marinos es estimular una mayor selectividad a la permeabilidad de las membranas; puesto que la pérdida del

calcio de la sangre ocasiona la desaparicion del tono y de la actividad refleja. Así mismo, los mecanismos osmoregulatorios fracasan si el organismo se encuentra en un ambiente deficiente en contenido de calcio, lo cual afecta también la frecuencia de muda y por consiguiente el crecimiento del organismo (21).

En el período de pre-muda se observa un incremento iónico brusco especialmente en el contenido de calcio y magnesio. El incremento de calcio en la sangre, se debe posiblemente a la re-absorción de éste de la cutícula. En la post-muda, la disminución del calcio en la sangre coincide con la calcificación de la nueva cutícula, aunque también dicho ión es absorbido del medio exterior. El incremento de los iones de calcio y de magnesio, se debe probablemente, a un mecanismo que ayuda a contrarrestar el riesgo de que los nervios y músculos sufran una pérdida en su excitabilidad.

Otra característica importante del calcio es, que es indispensable en el proceso de penetración de un organismo a salinidades diluidas, lo cual no sería posible en ausencia de este ión.

La importancia de factores como sexo, estación y temperatura en la determinación de las habilidades reguladoras a nivel de iones y de osmoralidad, se



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARÍTIMA

manifiestan en estudios realizados por Lynch y colaboradores (26), con la jaiba azul Callinectes sapidus, en su medio natural. Estos encontraron variaciones estacionales en las concentraciones de Na, Cl y en osmolaridad de la hemolinfa; éstas son más altas en invierno que en verano. Para el Na se verificó un rango de 430-480 mEq/l en invierno (0,5-15 grados Celcius) y de 330-390 mEq/l en verano (21-28 grados Celcius), con una variación de salinidad de 17-24 ppt. Para el Cl- y la osmolaridad se verificó una relación inversa con la temperatura.

Algunos invertebrados marinos muestran un considerable control sobre la concentración total de las sales que contiene su sangre. El cangrejo costero Carcinides maenas, varía su ritmo de respiración con la salinidad del medio (evitando la pérdida en exceso de sales) y éste puede tolerar diluciones considerables (21).

La especie anteriormente citada (26), mantuvo durante 139 horas una relación de Ca/Mg de 0,94, en agua de mar artificial. Al ser transferido a agua de mar artificial sin contenido de Ca, la relación bajó a 0,51 en el mismo lapso. El organismo perdió Ca, pero no completamente, lo que evidencia que el sistema trató de conservarlo. Luego de 10 días de haber sido devuelto a la primera solución, la relación subió a 1,4.

Evans et al. (26) encontró que el cangrejo Uca pugilator tiene permeabilidades relativamente iguales para el Na y el Cl a través del epitelio branquial, y que la excreción del Na (realizada por difusión interna) es llevada a cabo por un intercambio de sodio/potasio, el cual es realizado gracias al sistema de difusión.

Los cambios abruptos de salinidad ocasionan un aumento o disminución en los niveles de respiración. Vernberg y Vernberg (25) sugieren que la razón para un cambio en la intensidad de la respiración es el cambio en el metabolismo de los tejidos como resultado de su deshidratación.

Un incremento gradual en la salinidad amplía los rangos de tolerancia a la salinidad, lo cual es acompañado por un aumento en la resistencia de los organismos a los efectos dañinos del exceso de sales. La aclimatación a una nueva salinidad está regulada en gran parte por la actividad celular. El incremento o disminución de la salinidad ocasionan un cambio osmótico y de contenido iónico en el organismo y en sus células.

Algunas evidencias de la participación de la regulación iónica en la adaptación de invertebrados marinos a cambios en la salinidad han sido encontradas por Ginetsinsky y sus colaboradores (17). Estos encontraron que la alta resistencia de los tejidos a

los cambios de salinidad, se deben a la regulación iónica que mantienen los iones de potasio en el medio interior.

El proceso de reparación de los tejidos sometidos a cambios bruscos de salinidad, los cuales llevan a la normalización de la actividad vital de las células en condiciones desfavorables, es la base de la adaptación del organismo y las células a tales cambios. En la presencia de procesos compensatorios en la adaptación de las células de invertebrados a los incrementos de salinidad del medio, Zhirmunsky (25) explica la doble pérdida de funciones del epitelio ciliado de las branquias. Este fenómeno probado en condiciones experimentales, consiste en que al poner pedazos de branquias en una solución de mayor salinidad, se observa durante los primeros segundos una detención inicial en las pulsaciones del epitelio ciliado, luego ocurre la restauración de las pulsaciones, por último se observa una detención en las pulsaciones del epitelio, luego de varias horas de haber permanecido en la solución. La restauración de las funciones del epitelio, después de la detención inicial es la expresión de un proceso de reparación activo.

Debido a experimentos realizados, se supone (16) que los potenciales de membrana y mecanismos de inhibi-

ción y transmisión musculares y nerviosos en los crustáceos así como los cambios eléctricos que ocurren bajo estímulos, en éstos tejidos excitables; están en directa dependencia de la distribución iónica a lo largo de membranas celulares y de la permeabilidad relativa de las membranas a los diferentes tipos de iones.

En muchos vertebrados e invertebrados se ha encontrado que éstos detectan los cambios del medio ambiente por medio de células neurosecretoras (16). Se ha comprobado la acción de factores endócrinos en el balance de sales y agua en los crustáceos. El sistema neuroendócrino provee los mecanismos más eficientes y específicos para la integración de la información ambiental (17).

Las diferencias en las respuestas de varias especies al estrés osmo-iónico, pueden ser posiblemente explicadas por diferencias en sus factores neuroendócrinos o por la sensibilidad de sus tejidos a dichos factores o por ambos.

Entre los órganos de los sentidos encontramos los endoreceptores y los exoreceptores; los últimos responden a estímulos característicos del ambiente exterior o efectos que ocurren en la superficie del cuerpo. Dichos factores externos pueden estimular la visión, el tacto, el balance, la presión y la quimo-

recepción.

Los órganos quimo-receptores están ubicados en el flagelo externo de las anténulas, en los quelípedos y dáctilos de las patas caminadoras. Estos son terminaciones sensoriales capaces de detectar sustancias químicas. Entre las sustancias que detectan se encuentran las sales y el agua.

En el flagelo externo de la anténula de los decápodos, se encuentran grupos especializados de pelos, llamados "aesthetascs", los cuales se cree (16) que tienen funciones quimo-receptoras. Estos pelos están dispuestos en filas y a diferencia de otros tipos de pelos de crustáceos, están formados por finas paredes y no poseen pigmentación. Además se encuentran sólo en el flagelo exterior (el cual es quimo-sensor), y no en el interior. Cada pelo posee entre 120-150 neuronas en la base, cada fila aproximadamente 4000, el flagelo entero tendrá aproximadamente medio millón. Esta acumulación tan grande de neuronas hace suponer un gran potencial para la detección de muchos compuestos, considerando el hecho que dichos pelos no son sensibles a estímulos mecánicos. (fig. 8)

5.1.1. Regulación a nivel del fluido intracelular

El fluido intracelular es casi isosmótico con

la sangre. Aproximadamente $1/3$ de la presión osmótica celular está a cargo de los iones inorgánicos y los fosfatos orgánicos. El resto de la presión osmótica está ejercida por pequeñas moléculas orgánicas como aminoácidos y en pequeña proporción, carbohidratos solubles. Experimentos preliminares (16), parecen indicar que la concentración de iones inorgánicos en la célula y no la presión osmótica total, son responsables para la determinación del nivel de aminoácidos en la sangre. El grado de contribución iónica para la regulación osmótica celular es restringido, ya que en un amplio rango de dilución "moderada" de la sangre el radio de concentración del potasio en la sangre y en la célula se mantiene inalterado.

Los enlaces ión-proteína, no contribuyen a la presión osmótica del fluido intracelular. Se ha comprobado que los iones actúan osmóticamente en la siguiente proporción :

Los Cloruros se encuentran en estado totalmente ionizado (100%), Calcio (0%), Na (18%), Mg(40%), K(75%). (16)

La concentración iónica de los fluidos intracelulares es muy diferente en relación a la de la hemolinfa. De los iones más activos, el

K está más concentrado dentro de la célula que en la hemolinfa, mientras que sucede lo inverso para el Na y Cl. Un ión cargado (+), como el Na, no puede salir de la célula sino va acompañado de un ión(-), o si otro ión(+) entra en la célula. Debido a la mayor concentración de Potasio dentro de la célula, hay una tendencia de este ión a difundirse hacia afuera, lo cual causa una separación de cargas, lo que se evidencia como un potencial a través de la membrana (Potencial de Membrana o Potencial transepitelial), cuando dicho potencial llega a una cierta magnitud, contrarresta el gradiente de difusión del Potasio y evita pérdidas excesivas de éste.

Dicho potencial de difusión influencia también las concentraciones de otros iones, ya que éstos están gobernados, además de por el gradiente de difusión, por el gradiente electro-químico.

Cuando el potasio no está en equilibrio electroquímico a través de la membrana celular, se explica su concentración celular, así como la del sodio, por una regulación de transporte activo. Este es un claro ejemplo de la función de la Bomba de Sodio.

La regulación de las concentraciones iónicas,



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

a través de la membrana celular, es fundamental para mantener el volumen celular. Algunos de los constituyentes osmóticos de la célula, como las moléculas orgánicas, no pueden difundirse libremente a través de la membrana, y debido a la aptitud de los iones de Na y Cloruros para penetrar en la célula, la mayor parte de la presión osmótica de la hemolinfa es controlada por dichos iones, lo que resulta en una regulación de la presión osmótica coloidal intracelular, a través de la entrada a la célula de sodio, cloruro y agua. Un aumento excesivo del volumen celular, por esta causa, está prevenido por el equilibrio Gibbs-Donnan; éste actúa de la siguiente forma: la salida continua de sodio de la célula, a la misma velocidad a la cual éste se difunde dentro de la misma, causa que el gradiente electroquímico vuelva impermeable a la membrana con respecto al sodio; la entrada excesiva de los cloruros en la célula está prevenida por el potencial de membrana; así la concentración iónica de la hemolinfa puede compensar el efecto osmótico de las moléculas orgánicas intracelulares, que no pueden traspasar la membrana celular.

5.2. La regulación en los crustáceos penaeidos

La gran mayoría de las especies de penaeidos son camarones marinos que emigran en sus fases juveniles a los estuarios y aguas salobres, en donde logran un desarrollo más rápido (una minoría, se reproducen en calas costeras, y otros son exclusivamente marinos). Este hábito ha sido la base de las actividades de cultivo y prácticas pesqueras en muchos lugares del mundo (20). En la fase sub-adulta, vuelven al mar para el apareamiento, reproducción y eclosión de los nauplios. A pesar de que los adultos son organismos con características marinas, éstos son capaces de sobrevivir a considerables variaciones en la salinidad del medio externo, aunque esta habilidad es más desarrollada en los estadios juveniles.

Los penaeidos están dotados con poderosas condiciones osmoregulatorias, lo cual les permite mantener la concentraciones iónicas de los fluidos corporales a niveles mayores que los del medio diluido. El grado de hipertonicidad que éstos organismos pueden mantener, es un indicativo de su amplia tolerancia a las salinidades. Buenos reguladores hipertónicos, son capaces de alcanzar rangos de salinidades menores y en raras ocasiones hasta agua dulce, como es el caso de nuestra especie P. van-

mei.

En los medios naturales, es durante el desarrollo de post-larvas a juveniles, cuando los camarones están sujetos a los cambios más drásticos de salinidad, por encontrarse en los esteros con aguas dulces, hasta en aguas hipersalinas, dependiendo de la estación.

El principal mecanismo utilizado por estos organismos, es llevado a cabo por las branquias, que poseen una membrana semipermeable a través de la cual se realiza el transporte de los iones más importantes (cloruros, sodio y potasio), mediante células especializadas y la enzima ATP-asa de Sodio y Potasio. En base a lo anterior se puede decir que el tamaño de las branquias es un factor importante en el proceso osmoregulatorio, branquias más desarrolladas ofrecen más superficie de intercambio. Esto sugiere que post-larvas más grandes pueden sobrevivir al proceso de aclimatación con mayor éxito.

Se ha demostrado que las glándulas antenales no juegan un papel importante en la osmoregulación, siendo lo contrario en la regulación iónica.

En experimentos realizados por Castille & Lawrence (7), se encontró que en P. setiferus y P. stylirostris, las concentraciones osmóticas y de cloruros de la hemolinfa y de sangre no mostraban diferencias

significativas. La ausencia de gradientes de concentración entre la hemolinfa y la orina, demuestra que las glándulas antenales de dichas especies no funcionan en la regulación hiperosmótica a bajas salinidades ni en la hiposmótica a altas salinidades. Ya que la producción de orina isosmótica incrementa la pérdida de iones y agua, el principal mecanismo de regulación osmótica de estas especies debe ser la absorción activa de iones en baja salinidades, y la absorción de agua de mar acompañada con una excreción extrarenal activa de iones en altas salinidades.

Los palaemonideos que viven en aguas marinas no son muy buenos reguladores cuando están en medios diluidos, pero éstos están dotados de la propiedad de regulación hiposmótica en aguas marinas. Estos poseen comportamiento homoiosmótico, el cual es uno de los mecanismos más perfeccionados por los invertebrados marinos.

Investigaciones con el Metapenaeus monoceros, han revelado que su comportamiento homoiosmótico es, en gran parte, debido a la regulación activa de cloruros en su interior, cuya concentración es mantenida a un nivel bastante constante a pesar de las grandes variaciones que pueda haber en el medio exterior (21).

En los penaeidos también se ha establecido la existencia de regulación hiposmótica, en especies como M. monoceros y otros penaeidos en India y en P. aztecus y P. duorarum en América (21).

Debido a que las adaptaciones a bajas salinidades están más desarrolladas en los estadios más jóvenes, se puede concluir que la regulación osmótica en medios diluidos es menos efectiva en adultos y probablemente en las fases reproductivas, ya que en éstas necesitan de la migración hacia al mar.

Los camarones penaeidos y palaemonideos que habitan aguas de baja salinidad o dulces son capaces de sobrevivir sólo si existe la concentración adecuada de cloruros en el medio exterior, lo que permite mantener las concentraciones hemolinfáticas a niveles mayores. La presencia de concentraciones adecuadas de calcio, es de vital importancia por la estrecha relación de dicho ión con el proceso de crecimiento del organismo. No obstante, según Cripps y Nakamura (8), niveles inadecuadamente altos de carbonato de calcio en la piscinas de cultivo, van a causar retardamiento en el crecimiento así como la presencia de organismos adheridos o incrustados al exoesqueleto del camarón, hecho que se agrava por el retardo del proceso de muda. Se observó también que en niveles de calcio entre 2,5-5,0 mM/l, la absor-

ción o excreción de otros iones vitales, puede ser afectada.

La mayoría de los penaeidos utilizados en los cultivos, no son sólo eurihalinos, sino también euri-térmicos. En general los cultivos resultan más exitosos en temperaturas arriba de 15 grados Celsius.

Los Peneidos y Palemónidos marinos muestran capacidad de adaptación hiposmótica cuando viven en aguas marinas así como también una gran capacidad hiperosmótica en aguas dulces y salobres. Como habitantes de aguas dulces no han desarrollado una gran especialización ya que sus valores hemolinfáticos osmóticos normales son altos, comparados con los de crustáceos ya establecidos en aguas dulces, y no producen orina hipotónica para conservar las sales. Estas características proveen a estos camarones excelentes e insólitas facultades de adaptación para la vida en diferentes medios, sin olvidar que cada especie tiene sus condiciones óptimas de desarrollo. Hay una estrecha correlación entre la eurihalinidad y la adaptación hiperosmótica. Como ha sido dicho anteriormente, el comportamiento osmótico está relacionado con la temperatura y es también evidente una influencia combinada de ésta con la salinidad. Un conocimiento más profundo de la influencia de las condiciones del medio ambiente en el comportamiento

osmótico e iónico, así como de los niveles isosmóticos e isoiónicos de estos organismos, contribuirá a la optimización del cultivo de dichas especies; ya que es de esperarse que el trabajo osmótico requerido será mínimo cuando los medios internos y externos están en equilibrio (7). Bajo condiciones óptimas, los requerimientos de oxígeno del organismo serán también bajos, como baja será la mortalidad natural del organismo, debido a bajas tensiones de oxígeno; se puede ir más allá y proponer que bajo condiciones iso-osmóticas e iónicas, se puede cultivar la máxima densidad de organismos en un volúmen de agua (21). Hay una estrecha relación entre los aspectos fisiológicos de las regulaciones osmótica e iónica y la posibilidad de cultivo de un organismo, el cual invariablemente, deberá tener amplios rangos de tolerancia de salinidad y temperatura.

Según Lofts (21), el punto isosmótico e isoiónico, va a ser diferente incluso dentro de la misma especie, si los organismos habitan sitios con características diferentes. Perdue y Nakamura (13), sugirieron que el punto isosmótico e isoiónico, va a ser diferente de acuerdo a la edad y tamaño del camarón. Aunque Sandifer et al. y Singh (23) demostraron con estudios que la diferencia entre dichos puntos en adultos y postlarvas no es muy significativa.

En general, en los medios naturales los camarones

penaeidos son más o menos eurihalinos durante la etapa de juveniles y se convierten en estenohalinos a medida que llegan a adultos. Por lo que, tanto juveniles como adultos, están adaptados fisiológicamente a condiciones, un tanto diferentes, de salinidad y temperatura. En experimentos realizados con P. japonicus (13) se verificó que la concentración osmótica de la hemolinfa se incrementó considerablemente a mayor tamaño del camarón. Según A. Venkataramiah et al. (21), el P. aztecus es un regulador hiposmótico en salinidades arriba de 15 ppt. e hiperosmótico a salinidades menores, y que a medida que el camarón crece le favorecen salinidades mayores, como una preparación para su migración a agua más salinas. Un comportamiento osmoregulatorio similar para el P. aztecus, se verificó en el mencionado experimento, además de la obtención de resultados que sugieren que hay una salinidad óptima para cada estadio de crecimiento, especialmente en los estadios juveniles; además de que ligeras bajas en la salinidad ayudarían a los juveniles a minimizar el estrés osmoregulatorio (fig. 19).

Williams y Castille & Lawrence (5) encontraron concentraciones hemolinfáticas isosmóticas e isoiónicas menores para juveniles que para sub-adultos y adultos. Las diferencias en las concentraciones hemolinfáticas en bajas salinidades (9,8 y 10,8

ppt.) entre camarones juveniles y adultos de P. setiferus y P. stylirostris, demuestran que los juveniles son mejores reguladores hiperosmóticos e hiperiónicos que los adultos. Esto podría explicar por qué los adultos no están tan bien adaptados a bajas salinidades y posiblemente por qué no se encuentra especímenes maduros en dichos habitats. También se encontró que los juveniles de P. setiferus son también mejores reguladores hiposmóticos en aguas de altas salinidades (40,4 ppt.), que los adultos; sin embargo no se encontro diferencia entre juveniles y adultos de P. stylirostris a 36,2 ppt..

5.3. Organos que controlan los mecanismos de regulación

Los principales órganos y tejidos involucrados en la regulación iónica y osmótica son: las branquias, las glándulas antenales y en algunas especies, el intestino.

Hay esencialmente dos mecanismos relacionados en el proceso de regulación iónica:

-Excreción selectiva de iones de la sangre por medio de las glándulas antenales.

-Absorción controlada de iones a través de las agallas.

5.4. Sistemas de excreción y absorción iónica

5.4.1. Excreción

Siendo los crustáceos organismos principalmente marinos, sus habilidades de excreción no son muy especializadas.

La función del sistema excretorio, se concentra en la necesidad del organismo de mantener su medio interno constante, dicho sistema elimina sustancias no deseadas y ayuda a conservar las que son útiles. Una de las principales funciones del sistema de excreción es el balance iónico de la sangre, el cual depende de la eliminación de algunos iones y de la absorción de otros; así como la excreción o retención del agua que a través de su flujo determina la hiper o hipo ósmosis.

5.4.1.1. Excreción iónica por medio de las glándulas antenales

Las glándulas antenales (o "green glands", glándulas verdes) parecen tener la función de controlar la presión del líquido interno y, hasta

cierto punto, el contenido de iones (2).

Según Martin (2), las glándulas antenales forman la orina por secreción lo que se puede interpretar como un indicativo de la presencia de formas de filtración (fig. 9).

La secreción producida por las glándulas antenales, la orina, es isosmótica, en la mayoría de crustáceos stenohalinos y eurihalinos (con la excepción de casos como el del cangrejo de río - hiposmótica - y como el de la artemia salina - hiperosmótica) con relación a la hemolinfa, mostrando asombrosas diferencias en el contenido iónico; particularmente, posee concentraciones de Mg^{++} y de SO_4^{--} mucho mayores que de K^+ y Ca^{++} . Se podría decir que estos valores corresponden a un equilibrio de Donnan, en el cual los valores iónicos dependen de la concentración de proteínas en el plasma y la valencia de los iones respectivos.

Casi todos los crustáceos poseen un

par de organos excretores, en los Decápodos (Amphipodos, Mysidaceos y Euphasiaceos) se encuentran ubicados en el tercer segmento de la antena. Las llamadas glándulas maxilares están presentes en otros grupos de crustáceos. Las glándulas antenales consisten en un par de celomoductos glandulares, cada glándula está constituida por tres partes principales: el saco terminal interno, un canal excretor y un ducto de salida (en los Decápodos la parte baja del canal excretor y el ducto de salida suele alargarse con muchos pliegues de la pared para formar un laberinto y extenderse para dar lugar a una vejiga colectora) (figs. 10 y 11).

En varios crustáceos el tamaño de las glándulas antenales, está relacionado con la concentración de sales del medio exterior.

En los cangrejos de río, los cuales deben mantener la concentración interior hipertónica al medio exterior, las glándulas antenales son grandes con largos canales

nefrídicos, disponiendo así de una superficie comparativamente grande, para la reabsorción de sales de la orina.

Este hecho se puede comprobar al observar las glándulas antenales de una especie de agua dulce (Gammarus pulex, anfípodo) y una de agua salobre (G. lacusta). Las glándulas de la especie de agua dulce son mayores que las de la de agua salobre, lo cual indica la necesidad de una mayor área para la reabsorción de sales de la orina en las especies de agua dulce. (fig. 7). El papel de las glándulas antenales en la función osmoreguladora de los decápodos es prácticamente nula, pero éstas están involucradas en la regulación iónica de la hemolinfa, especialmente en el caso del Mg^{++} al verificar una excreción de este ión en niveles de 2-8 veces mayores de los que contiene la hemolinfa.

En las formas marinas se verifica una regulación (K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} y SO_4) de la relación de orina:plasma,

los cuales son menores de lo que serían si fueran el resultado de una ultrafiltración de la sangre.

Más específicamente dicha regulación consiste en la conservación de potasio y calcio y la eliminación de excesos de sulfatos y magnesio (2).

Pantin (2), sugiere que ya que las razones de difusión de los iones a través de la superficie del cuerpo dependen de la permeabilidad a los iones, las concentraciones de los iones que penetran más lentamente, decrecerán si la orina es producida a una mayor razón. En general, las concentraciones de magnesio y sulfato en la orina son mayores en la orina que en la hemolinfa (16).

En tres especies de decápodos (*P. serratus*, *P. crassipes* y *E. sinensis*) a salinidades de 44, 58 y 0 ppt. respectivamente, se observó que las glándulas antenales aparentemente no contribuyeron al control del Na^+ y del Cl^- los cuales mantuvieron alta la concentración de sales en la sangre en contra del gradiente os-

mótico, lo que se deduce del pequeño % de relación entre orina:plasma para dichos iones.

El volúmen de orina producido varía de acuerdo al gradiente osmótico entre la hemolinfa y el medio exterior, la permeabilidad de la superficie del cuerpo y el tamaño del organismo. Incluso dentro de organismos de la misma especie puede variar debido a factores como bajas en la temperatura, una disminución de la presión osmótica coloidal de la sangre o como resultado de estrechamiento por manipuleo.

La razón del flujo de orina se incrementa cuando hay un gradiente osmótico que succiona agua en la sangre.

En investigaciones realizadas con el flujo de orina de varios decápodos marinos, los rangos varían entre el 0,1-0,6% del peso del organismo por hora.

En los crustáceos de agua dulce encontramos dos grupos:

- Al primero pertenecen los que sólo muestran las ligeras adaptaciones de los organismos de aguas salobres, podemos citar a la especie P. varians en la cual el flujo de orina se incrementa aproximadamente 10 veces a medida que el medio es diluido desde 50 ppt. hasta 10 ppt. de salinidad (2%).

El excesivo flujo en agua dulce de P. varians, es debido seguramente a una falta de adaptación, resaltando el hecho de que estos organismos deben perder grandes cantidades de sales en el rápido flujo de una orina isosmótica con la sangre. En estos organismos las concentraciones de la sangre son menores que la de los organismos de la misma clase que habitan en aguas marinas, lo cual ahorra energía, pero a pesar de esto, el animal es forzado a emprender una absorción continua de sales para compensar la pérdida continua de éstas a través del integumento y de las glándulas excretoras.

- Al segundo pertenece principalmente el cangrejo de río, los cuales son organismos más especializados, que poseen glándulas secretoras de mayor tamaño, ya que éstos han desarrollado un segmento extra, el cual ya sea por secreción de agua o reabsorción de sales, produce orina hiposmótica.

La producción de orina isosmótica no ayuda a la regulación osmótica en condiciones ambientales que produzcan un estrés osmótico, pero hay algunas especies de crustáceos marinos y de aguas salobres, los cuales pueden tolerar un medio hiposmótico, en los que el flujo de orina se incrementa a medida que decrece la salinidad del medio. Esto puede eliminar el agua osmótica si es que se lleva a cabo una absorción extrarenal compensatoria de sales.

En las especies que producen orina isosmótica a la hemolinfa, las pérdidas de orina agravan la tendencia a perder sales en medios hiposmóticos y agua en medios hiperosmóticos.

Estas pérdidas pueden ser minimizadas por la formación de orina hiposmótica a la sangre en medios diluidos e hiperosmótica a la sangre en medios concentrados.

Determinaciones de la composición iónica de la orina en camarones, han indicado que la concentración de sodio en la orina es menor que en la hemolinfa y la de cloruros o mayor o igual a la concentración de la hemolinfa (23), (fig.10).

5.4.1.2. Otros órganos excretores

Hay poquísima evidencia disponible acerca de la habilidad del intestino para la excreción de algunas sustancias inorgánicas.

La función del intestino en el balance de agua, ha sido probada en la *Artemia salina*, la cual está filtrando continuamente agua del medio.

Dall (26) encontró que cuando el cangrejo *Scylla serrata* es inyectado con sales, éste excreta un fluido

claro en el intestino, el cual es excretado al exterior por la boca o por el ano. También encontró que el intestino medio del Metapenaeus bennettiae es el sitio de intercambio activo de Ca, mientras que el intestino anterior es altamente permeable al Na. El tejido del intestino ha demostrado también ser osmóticamente activo in vitro, según Mantel (16).

Otros sitios y/o órganos de menor importancia en la función excretora son:

- El integumento, del cual hay evidencia de que en algunas especies actúa como un órgano excretor de almacenamiento; además de su función como sitio de pérdida de sales y materiales orgánicos en el proceso de muda.

La mayoría de los crustáceos que habitan aguas de baja salinidad, mantienen su hemolinfa hiposmótica con respecto al medio, por medio de una absorción activa de sales. El



BIBLIOTECA
F. I. G.
Mantel

tiempo y la cantidad de energía expendida para regular la concentración de la sangre, dependen de la razón de pérdida iónica por medio de la orina y a través de la superficie del cuerpo. La razón de pérdida de iones depende de la permeabilidad de la superficie para los iones y para el agua y del gradiente mantenido entre la sangre y el medio. En los organismos marinos la permeabilidad de la superficie suele ser alta, debido quizá la alta similitud con la concentración del medio o a la necesidad de obtener agua para la producción de la orina.

La permeabilidad de la superficie del cuerpo de especies de aguas salobres, litorales y de agua dulce, es menor que la observada en especies de agua salada, lo cual significa que el grado de permeabilidad del organismo es mayor a medida que la salinidad del agua es menor.

La razón del transporte pasivo de iones a través de las membranas está gobernada por gradientes eléctricos

y el gradiente de concentración.

En general la cutícula de los crustáceos tiene varios grados de permeabilidad al agua y sales del ambiente exterior. La función osmoreguladora tiene un papel secundario al de la regulación iónica a este nivel, y la presencia de calcio en la cutícula, juega un papel importante en la reducción de la permeabilidad al ión sodio. En experimentos con Homarus gammarus (26), se ha comprobado que la capa lipídica (epicutícula, capa con alto % de lípidos), es de suprema importancia en la determinación de la permeabilidad de la cutícula, ya que al remover ésta, la permeabilidad se incrementa en una gran proporción (fig. 12)

- Nefrocitos y Nefrogocitos.- Estos se encuentran ubicados generalmente en las laminillas branquiales. Dichos órganos actúan a manera de "riñones de acumulación", tomando sustancias excretoras y almacenando-las en formas precipitadas o crista-

lizadas; otras tienen acción fagocitaria.

5.4.2. Sistema de absorción iónica

5.4.2.1. Absorción Branquial

Las branquias en los organismos acuáticos, son órganos complejos, los cuales cumplen funciones de regulación iónica y osmótica; de intercambio de gases y de control del pH de la sangre (fig. 13).

En las funciones citadas anteriormente, la regulación iónica juega un papel importante. Se pueden citar varios ejemplos; las branquias de varios crustáceos poseen "parches" más oscuros de tejido relacionados con dicha regulación (16). Vistos al microscópio electrónico estos parches aparecen como capas individuales de células epiteliales con superficies muy plegadas, las cuales contienen grandes cantidades de mitocondrias y otras especializaciones de la acti-

vidad secretora; el tamaño de éstos depende de la adaptación a la salinidad y éstos pueden ser medidos para determinar un reciente proceso de aclimatación; los cambios en los flujos de sangre y agua por las branquias son determinantes en el intercambio de gases, éstos influyen la razón de difusión del agua y los iones, es más, un aumento en el transporte neto de gas podría ocasionar un problema de aumento de sales o de agua; en lo que se refiere al control del pH de la sangre, éste es controlado, por lo menos en parte, a través de intercambios de iones internos de H^+ y HCO_3^- por iones externos de Na^+ y Cl^- , respectivamente (26), realizados por medio de las branquias; cambios en la salinidad ambiental causarán cambios en el pH de la sangre, y podrían limitar la distribución de algunos organismos (gracias a la inability de ajustar los respectivos cambios iónicos), ya que la razón de absorción iónica se verá afectada lo cual a su vez va a in-

fluenciar la concentración iónica de la sangre y probablemente también, la intracelular. Una complicación adicional que se produce en los invertebrados, cuando son sometidos a bajas salinidades, es el mantenimiento de la función del pigmento respiratorio (hemocianina), ya que la afinidad del oxígeno de la hemocianina, decrece en dichos medios, lo cual es inverso al incremento simultáneo del pH, concomitante con la regulación del volumen de los tejidos internos. A medida que la presión osmótica interna decrece, los tejidos responden con un incremento en las concentraciones de aminoácidos libres en la hemolinfa. El NH_3 liberado actúa como un incrementador del pH de la sangre, por medio de los enlaces de H^+ ; ésto ocasiona por consiguiente la absorción de electrolitos (como NaCl) a través de la superficie del cuerpo. Adicionalmente la reserva de NH_4 de la sangre está disponible de esta manera, como ión portador para

la ATPasa que está involucrada en la absorción de sales para mantener la hiperosmolaridad de la hemolinfa.

Para la mayoría de los crustáceos, las branquias son los órganos principales de conservación del equilibrio salino. En las formas de agua dulce y salobre las branquias absorben sales en forma activa (2). Las branquias son la parte más permeable del integumento y son el sitio de absorción continua de iones, los cuales reemplazan a aquellos perdidos en la secreción de la glandula antenal. La pérdida de agua y sales en la orina es balanceada con la absorción controlada de agua e iones por las branquias, ésto se deduce debido al peso más o menos constante del organismo y a la permanencia en estado isosmótico de la sangre con respecto al agua. Así tenemos que si por ejemplo, la abertura de las glándulas antenales de un cangrejo o langosta son cerradas, habrá un incremento de peso debido a dicha absorción y a la acumulación



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

del fluido glandular. Se considera probable que los iones de Na^+ , K^+ , Ca^{++} y Cl^- , a menudo sean absorbidos en contra de los gradientes de concentración, lo cual se deduce que debe ser a través de las agallas, ya que la cutícula calcificada es relativamente impermeable. Mientras que por lo menos parte de la toma de los iones de Mg^{++} y SO_4 se deba a procesos de difusión.

Las branquias de cangrejos estuari- nos y de agua dulce son reducidas en número o tamaño, limitando así el área total de membranas a través de las cuales ocurre la difusión de los fluidos corporales o de sales del exterior (22).

La relación fundamental que desempeñan las branquias en los procesos de absorción de iones, ha sido probada en varios experimentos, (16).

Estos estudios muestran que la respiración por medio de las branquias es en función de la salinidad externa y que la razón metabólica se incrementa cuando el transporte de

sales ha sido estimulado. Este proceso corresponde a una función de transporte activo, lo que implica gasto de energía metabólica.

5.5. Regulación osmótica

5.5.1. Definición y aspectos generales.

La propiedad más significativa del agua de mar, con relación a la ecología y fisiología de los organismos, radica en el hecho de que es una solución compleja de sales.

A un incremento de salinidad le corresponde una disminución en la presión de vapor de la solución. El correspondiente incremento en el diferencial entre la presión de vapor del agua menos salina y del agua de mayor salinidad resulta en un gradiente de difusión, (si las dos soluciones se encuentran en un recipiente cerrado). El fenómeno resultante, en el cual el equilibrio entre dos soluciones es teóricamente alcanzado por la migración de las moléculas de agua de la solución más diluida a la solución más concentrada, es conocido como ósmosis. Es decir, el proceso de difusión de moléculas a través de una



ELI SCA
F. M. O.
MARTÍN A.

membrana la cual permite el paso de moléculas de solvente, pero no de soluto, esta condición se conoce como de perfecta semipermeabilidad.

También se la define como la regulación de la concentración total de partículas disueltas en fluidos internos cuando éstos están a niveles diferentes de aquellos fluidos del medio externo.

En los sistemas vivientes, la membrana semipermeable del caso teórico de la ósmosis, es comparable con la célula o con las membranas de los tejidos, y el principal problema de los organismos del medio acuático, es el mantener la concentración óptima de agua y sales en los fluidos internos a través de la osmoregulación. Algunas áreas de las membranas naturales pueden ser osmóticamente inactivas, reduciéndose así la capacidad osmoregulatoria o convirtiéndose en membrana selectiva, al mantener ciertos electrolitos y obstruir el paso de otros; en otros casos también será capaz de operar en contra del gradiente de difusión.

Los invertebrados marinos pueden ser divididos en 4 clases, teniendo como base la función osmoregulatoria:

- Organismos no tolerantes a las variaciones de salinidad.
- Organismos que realizan pequeños esfuerzos para mantener las salinidades internas en los primeros niveles de variación, pero que pueden soportar amplios cambios. El ajuste se lleva a cabo apareadamente a nivel celular.
- Organismos que realizan un control osmótico relativamente débil, y pueden resistir sólo moderadas variaciones de salinidad.
- Organismos que poseen un control osmótico eficiente y a su vez pueden mantener el contenido de sales, pudiendo así soportar amplias variaciones de salinidad.

Los factores como sexo, estación, tamaño y estadio del ciclo de intermuda son también importantes determinantes de la habilidad osmoreguladora.

Los organismos acuáticos pueden ser clasificados de acuerdo a su habilidad para tolerar los cambios de salinidad, o para mantener sus fluidos internos a una determinada concentración. Esta tolerancia a la salinidad, no está necesariamente relacionada con la habilidad osmoregulatoria.

- Las especies que habitan aguas dulces y muchas de las encontradas en aguas salobres o estuarinas, muestran una regulación hiperosmótica; lo cual significa que dichos organismos mantienen en su hemolinfa concentraciones de sales mayores a las del medio externo. Este proceso envuelve una absorción activa de iones en contra de gradientes de concentración, proceso que es de carácter universal en los organismos de agua dulce.

- Algunas especies marinas y las que habitan en aguas con alto contenido de sales, poseen una concentración interna de sales menor a la del medio exterior; a éstas se las llama hiposmóticas.

- Los organismos que poseen o mantienen la concentración interna de sales igual a la del medio externo, son llamados de regulación isosmótica.

La regulaciones hiper e hiposmóticas implican estados en los cuales hay un gasto energético continuo.

Se llama poikilismóticos (u osmoconformes) a aquellos crustáceos que bajo cambios de salinidad del medio exterior mantienen su hemo-



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

linfa isosmótica al agua de mar; los que, dentro de ciertos límites, mantienen constante el estado hemolinfático (isotónico) a pesar de variaciones osmóticas del exterior son homeoiosmóticos; en ambos casos, el rango de salinidades en el cual el organismo sobrevive, puede ser pequeño (estenohalinos) o amplio (eurihalinos).

Muchos organismos eurihalinos, carecen de la capacidad para mantener sus concentraciones internas en contra de los cambios externos (poikilosmóticos), otros parecen ser impermeables (homoiosmóticos).

Los crustáceos capaces de tolerar amplios rangos de salinidad, llamados eurihalinos, tienen la tendencia de mantener la concentración de la sangre hipertónica con respecto al medio, al menos cuando éste es de baja salinidad. Es claro que los grados de hipertonicidad tienen un amplio rango de variación dependiendo de la especie.

La independencia osmótica de los organismos eurihalinos (u osmoreguladores) está basada en mecanismos fisiológicos como el decrecimiento total en la permeabilidad de los tejidos al agua y sales y el desarrollo de una actividad de transporte activo de iones,

especialmente de sodio, en contra del gradiente electroquímico (25). En aclimataciones a salinidades menores, los decápodos eurihalinos son isosmóticos al medio a aproximadamente 24 ppt. y luego se convierten en reguladores hiperosmóticos. El menor límite de tolerancia varía entre las especies y depende del tamaño del animal y de la temperatura ambiente.



Los Decápodos, especialmente los de aguas estuarinas, generalmente son poikilosmóticos en salinidades normales o altas y homioisomóticos en bajas salinidades. En muchos de estos organismos a los que se los ha aclimatado a concentraciones salinas diferentes a las de su habitat, se ha comprobado que su hemolinfa estaba isosmótica con el medio.

Un incremento en el consumo de oxígeno, ocurre normalmente cuando los organismos están sujetos a bajas salinidades, y está establecido que el trabajo osmótico puede ser reconocido o medido por el incremento del consumo de oxígeno (26). Se cree que parte del incremento de energía observado puede ser utilizado de las siguiente forma:

- Beadle (26) atribuye el incremento inicial

en la respiración a la actividad muscular desarrollada al resistirse a ingerir fluido.

- Pieh (26) cree que el incremento de consumo de oxígeno en un ambiente hipotónico puede ser el resultado de la hidratación de los tejidos, y una necesidad de mayor vascularización.

- Proser et al., (26), sugieren que parte de dicha energía puede ser utilizada para movimientos de sales y agua en contra del gradiente y para mantener baja la permeabilidad de las membranas.

Wolkekamp y Talbot (26), determinaron que el cociente de consumo de oxígeno de las especies de agua dulce es de aproximadamente el doble del de las de agua salada.

Las formas estenohalinas usualmente disminuyen el consumo de oxígeno a salinidades diferentes de la normal, mientras que las eurihalinas aumentan la intensidad de respiración en rangos por debajo la salinidad óptima y disminuyen ésta, a salinidades cerca de los valores letales. Se ha observado, sin embargo, que la razón de consumo de oxígeno durante el proceso de adaptación a la nueva salinidad (la cual no excede los límites de

las condiciones normales de vida del organismo), vuelve a la normalidad (14). Es claro que ésto depende en gran parte, de la razón de cambio de la salinidad y su rango de amplitud y de, por supuesto, la eurihalinidad del organismo. A su vez el grado de dicha eurihalinidad estará dado por la velocidad de restablecimiento del organismo sujeto al cambio de salinidad.

Por otro lado se ha comprobado que el consumo de oxígeno puede bajar a su mínimo en condiciones óptimas de salinidad. Como por ejemplo la especie Ocypode quadrata alcanza su mínimo consumo de oxígeno a la salinidad de 25 ppt., con la característica de que a dicha salinidad el contenido de cloruro de la sangre es igual al del medio ambiente (26).

Experimentos realizados con C. sapidus han demostrado claramente que la osmoregulación en dicho organismo es esencial para mantener la función de la hemocianina cuando el organismo es aclimatado a baja salinidad. Magnum et al (26) demostraron que la afinidad del oxígeno con la hemocianina decrece en un ambiente de baja salinidad, a lo que corresponde un incremento simultáneo del pH lo que está relacionado con una regulación en

el volumen de los tejidos internos.

En los organismos que muestran poca habilidad reguladora (22) es evidente la existencia de una selección iónica. Ciertos crustáceos mantienen en su sangre un alto porcentaje de K y uno mucho menor de Mg en comparación al agua de mar, y no obstante, se mantienen isotónicos (26), (es decir que mantienen la misma concentración de partículas totales, pero varían la proporción a nivel iónico).

Se ha comprobado que algunos de los crustáceos más especializados realizan una osmoregulación bastante efectiva. Panikkar y Viswanathan (20) observaron que Metapenaeus monoceros mantiene el NaCl de la sangre aproximadamente al mismo nivel, mientras que la salinidad fluctúa de 6-30 ppt.

5.5.2. Mecanismo osmoregulatorio en especies marinas y de aguas salobres.

Cuando un crustáceo marino es trasladado a menor salinidad, hay una pérdida general de iones a través de la superficie del cuerpo y de la orina, el contenido iónico celular es alterado lo cual ocasiona que las células tomen agua de la sangre por ósmosis. Si estos

efectos persisten, el organismo muere.

Algunos crustáceos decápodos, en los cuales la hemolinfa es isosmótica en agua de mar, muestran una regulación hiperosmótica en agua de mar diluida. Por ejemplo la especie Carcinus maenas que puede vivir en aguas con salinidades menores a 4 ppt., necesita de un desarrollo larvario en un rango de 28-40 ppt. de salinidad. Dicho organismo a pesar de poseer sangre isosmótica con el medio, presenta absorción activa de iones como Na^+ y Cl^- . Algunos grupos de anfípodos, isópodos, camarones y langostinos ("prawns") de los géneros Caridea y Penaeidea, en los cuales se incluye especies de aguas marinas, estuarinas y exceptuando a los Penaeidos, de aguas dulces, demostraron tener un gran control interno de sus contenidos iónicos.

Los decápodos que muestran una regulación hiperosmótica en agua de mar diluida, probablemente balancean la pérdida de sales provocada por la secreción de la glándula antenal y por una difusión al exterior por medio de la absorción activa de sales del medio. En los grados más altos de salinidad del agua de mar, la mayoría de los decápodos actúan como osmoconformes, esto es, el conte-

nido de sal es el mismo que en el medio externo (2), (cuadro 3).

Debido a que los iones son eliminados en una secreción (orina) que es isosmótica a la hemolinfa, la absorción de agua con iones del medio externo, debe ser controlada manteniendo así el balance del agua por medio de las superficies permeables. El resultado de este proceso será la absorción de un fluido de concentración osmótica similar al de la hemolinfa y orina.

Se ha probado que en ninguna de las especies de aguas salobres examinadas, tienen las glándulas antenales participación en la regulación osmótica, lo cual contrasta con la importancia que tienen éstas en dicha regulación en algunos crustáceos de agua dulce como el Procambarus clarkii.

Koch (26), obtuvo evidencia directa de la absorción activa de iones a través de las agallas, y afirma que dicha absorción no es simplemente un fenómeno de intercambio iónico. Se observaron las siguientes características:

- En ausencia de O₂ el proceso se detiene.
- CO₂, cianuro, ácido y sulfito lo inhiben de



BIblioteca
FAC. ING.
MARITIMA

forma reversible.

- Metales pesados lo inhiben irreversiblemente.

- Colorantes básicos como azul de metileno y plocianina lo inhiben de manera reversible.

Estos colorantes contienen un grupo cuaternario de amonio, el cual es esencial en la actividad de la anticolinesterasa de los colorantes básicos. Koch (26) sugiere que la acción de dicha anticolinesterasa es la que causa la inhibición de la absorción iónica a través del epitelio branquial, a su vez asume que la colinesterasa es un componente activo de este mecanismo de transporte activo. Un soporte para esta afirmación es que inhibidores de la colinesterasa, como la eserina, inhiben reversiblemente el transporte de sales.

5.5.3. Mecanismo en especies de agua dulce

Los crustáceos de agua dulce mantienen sus fluidos corporales hiperosmóticos al medio exterior. Estos están expuestos a un continuo flujo osmótico de agua, el cual debe ser excretado y además se enfrentan al problema de una absorción activa de iones de un medio acuático muy diluido, para reponer aquellos

perdidos por difusión cuticular y mecanismos de excreción.

El bajo contenido de sales del agua y su composición iónica más variable, son dos de las razones para la relativa minoría de especies de agua dulce comparadas con las de aguas marinas.

Las especies de agua dulce están divididas en dos categorías:

- Las que van al mar para reproducirse y
- las que permanecen en dicho habitat todo su ciclo de vida.

En cuanto al mecanismo de regulación osmótica se pueden hacer dos divisiones. En la primera la orina es isosmótica a la sangre y se lleva a cabo una regulación hiperosmótica sin la ayuda de las glándulas antenales, lo cual indica que el proceso se lleva a cabo por absorción activa de iones. Esto obedece a dos principales procesos de adaptación de los organismos de agua dulce: 1) Una ligera reducción del nivel de sales en la sangre y 2) la evolución de la reabsorción de sales a nivel renal, disminuyendo la concentración de la sangre a un nivel más fácil de mantener. A esta división corresponden los organismos que permanecen en agua dulce todo su ciclo de

vida. En la segunda division la orina es hiposmótica, a este grupo pertenecen muchos de los organismos de agua dulce. Practicamente no hay información de que exista una secreción de las glándulas antenales o maxilares. Lo que se puede asegurar es los iones son regulados por un mecanismo de excreción selectiva.

5.5.4. Mecanismo en especies de alta salinidad

Algunas especies pueden mantener la sangre hipertónica en medios diluidos e hipotónica en medios más concentrados (en este grupo se incluyen las especies que habitan en aguas de salinidad fluctuante).

Tenemos el caso típico de la artemia salina, la cual es un habitante característico de aguas costeras y estuarinas, pero puede habitar hasta en salmuera cristalizada de agua de mar. Esta sobrevive expuesta al aire por largos periodos y posee modificaciones en sus órganos respiratorios. Su bajo contenido de sales en la sangre es una ventaja para esta especie anfibia, la cual está sujeta a deshidratación, ya que la diferencia entre la concentración normal y la máxima concentra-



BIBLIOTECA
FACULTAD DE
MEDICINA

ción de su sangre, es siempre alta, lo cual da un rango límite de seguridad mayor.

Estos cambios ocurridos en su hemolinfa son debidos a una ganancia o pérdida de iones y no a flujos de agua. Su mecanismo de regulación iónica y su baja presión osmótica, son similares a los observados en especies de agua dulce.

La artemia es un organismo que filtra continuamente el medio del cual son absorbidos Na^+ , Cl^- y agua. Este mecanismo del intestino para mantener el balance del agua, actúa junto a un mecanismo branquial mediante el cual Na^- y Cl^- son excretados activamente cuando el organismo se encuentra en un medio hyperosmótico. Dicho mecanismo branquial (localizado en los 10 primeros pares de agallas), puede ser destruido con una breve exposición a una solución saturada de permanganato de potasio. Así, una vez que el organismo pierde la facultad de la regulación hiposmótica, la sangre se vuelve isosmótica al medio y sólo puede tolerar un pequeño rango de salinidad.

Otro ejemplo de eurihalinidad es el copépodo calenoide Pseudodiaptomus euryhalinus, el cual no sólo tolera un rango de salinidad de

1,8-68,4 ppt sin variaciones estructurales notorias, sino que se reproduce exitosamente en esos extremos (22).

VI. MATERIALES Y METODOS

6.1. Recolección de especímenes para la obtención de datos

Para el presente trabajo se utilizó especímenes de la especie *P. vannamei*, con un peso promedio de 11,6 +/- 1.8g., obtenidos de salinidades con un rango de variación de 0-30 ppt. y con un rango de temperatura 26,8 +/- 1,3 grados Celcius.

Para la recolección de las muestras se realizó un recorrido por varias camaroneiras ubicadas en la zona de la provincia del Guayas.

Los camarones utilizados estaban en estado de intermuda.

6.1.1. Metodología de extracción de la hemolinfa

La extracción de la hemolinfa debe ser efectuada in-situ, ya que según Balazs et al. (1)

en experimentos realizados con el camarón rosado P.marginatus, se observó que mantenido bajo condiciones de laboratorio durante 10 días, mostraron a nivel de suero hemolinfático, mayores niveles o mayor actividad de la glucosa y la fosfatasa alcalina y menores niveles del fósforo inorgánico, proteína total, deshidrogenasa láctica y transaminasa que las muestras que habían sido tomadas inmediatamente después de la captura.

El método de extracción utilizado fue sugerido por Bell (Com. pers., 1988):

1. Preparar un recipiente de vidrio (tubo de ensayo con tapa) y enfriarlo mediante hielo circundante.
2. Previo a extraer la hemolinfa se debe succionar y expulsar agua destilada por la jeringuilla en varias ocasiones. Antes de usarla, asegurar de expulsar la mayor cantidad de agua posible.
3. Colocar el camarón en posición ventral, con el cefalotorax frente a la persona que extrae. Secar la base de las branquias y alrededores para evitar cualquier contaminación de agua a la muestra. Insertar la aguja inmediatamente posterior a la base del

quinto periódodo, sobre el lado derecho de quien lo maneja. La aguja deberá estar apuntando hacia la persona que extrae, paralelamente con el eje longitudinal del camarón. En otras palabras, la aguja deberá estar justo debajo de la cutícula y extenderse aproximadamente hasta la base del tercer periódodo (fig. 14).

4. Sostener el camarón con firmeza y succionar lentamente. Si el camarón pesa entre 10-25 gr. se deberá poder extraer entre 0,5 y 1,5 ml. de hemolinfa.

5. Inmediatamente expeler la hemolinfa en el tubo de ensayo. Tapar y guardar en hielo para su transporte dejando coagular la sangre.

6. Si la muestra no va a ser analizada en el momento, guardar a aproximadamente -10 grados Celcius, hasta el momento del análisis. Antes de someter la muestra al análisis, utilizando algún instrumento liso e impermeable, requiebren el coágulo en la mayor cantidad de trozos posible.

7. Centrifugar los tubos por aproximadamente 15 minutos a la mayor brevedad posible con un microcentrifugador normal (fig. 15) El coágulo deberá estar ahora cerca del fondo.

8. Extraer el suero sobrenadante y colocarlo en un recipiente limpio.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

9. Llevar la muestra al tubo extractor del instrumento para llevar a cabo la medición.

6.2. Descripción de equipos utilizados

6.2.1. Equipos utilizados para la recolección y extracción de la hemolinfa.

- Tubos de ensayo con tapón de caucho.
- Jeringuillas de insulina, de 1 cc. de capacidad y de aguja 25G 5/8.
- Hielo en trozos.
- Termo de 1 lt. de capacidad
- Atarraya de muestreo.
- Termómetro
- Salinómetro (fig. 16)

6.2.2. Equipo utilizado para la determinación de Sodio y Potasio.

La determinación del contenido de sodio y Potasio se obtuvo mediante la técnica de fotometría de llama; por medio del Fotómetro de Llama (fig. 17). Las unidades de las concentraciones de Sodio y Potasio están dadas en mEq/l. El mili equivalente o miligramo equivalente corresponde a la milésima del

equivalente gramo, o sea aquella cantidad de sustancia cuya parte numérica es la misma que en el peso equivalente, cuando la unidad es el miligramo. Para obtener el equivalente gramo de cualquier ión se divide el peso atómico del elemento para la carga o valencia (22a).

Especificaciones.-

- Modelo: IL 143
- Concentración de entrada:
 - Na: de 0 a 1 milimolar
 - K : de 0 a 1 milimolar
- Relación o proporción biológica de di-
ción: 200:1
- Rango biológico para la lectura:
 - 0 a 200,0 mEq. Na/l.
 - 0 a 200,0 mEq. K/l.
- Límites de detección: 0,5 uM Na (12 ppb.)
0,5 uM K (2 ppb.)
- Longitud de onda monitorizada:
 - Sodio....589nm
 - Potasio..766nm

6.2.3. Equipo utilizado para la determinación de cloruros.

Los cloruros fueron analizados por el método Titulación, con el Titulador marca Oxford

(fig. 18). Las unidades de las concentraciones de cloruros están dadas en mEq/l.

- Especificaciones.-
- Modelo: HRI 8885-063001
- Concentración de entrada: 50 microlitros de suero
- Rango biológico para la lectura: 0 a 150 mEq/l.
- Reactivos que utiliza:
- Titulador de Cloruro.- Nitrato de Mercurio, 0,005 M
- Diluyente de Cloruro.- Acido Nítrico, 0,15 M
- Indicador de Cloruro.- Solución de Alcohol de Difencilcarbazono, 5g/l; Bromofenol Azul 0,5 g/l.

.3 Análisis estadístico de los datos

La relación entre las concentraciones iónicas del medio ambiente y las concentraciones iónicas de la hemolinfa muestra un comportamiento lineal. Los datos fueron sometidos a un análisis estadístico de regresión simple para encontrar la fórmula matemática que rige dicho comportamiento, el cual está dado por: $y = ax + b$; donde a=pendiente

x=variable

b=intercepto



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

VII. RESULTADOS

7.1. Concentración del Potasio a diferentes salinidades

Los valores obtenidos para las concentraciones del ión potasio, no muestran un patrón definido, la única tendencia notable es que las concentraciones, para las diferentes salinidades se mantienen indistintamente; por encima de la línea de isoionicidad; lo cual denota una regulación hiperiónica. Las concentraciones hemolinfáticas de potasio variaron desde 5,2 mEq/l en aguas de 7 ppt de salinidad hasta 23,4 mEq/l en aguas de 30 ppt de salinidad (Gráfico y Tabla 3).

Estos resultados coinciden con afirmaciones hechas por Mandel(17), quien cita que las concentraciones iónicas de potasio son generalmente mas altas en los líquidos hemolinfáticos que en el medio ambiente.

7.2. Concentración del Sodio a diferentes salinidades

El sodio muestra un comportamiento cercanamente estable para las diferentes salinidades. Se obtuvo un valor de isoionicidad para el Sodio, el cual se encuentra a aproximadamente 18,4 ppt. de salinidad. Los análisis estadísticos muestran que los valores de sodio hemolinfático siguen una relación lineal de:

$$NA(\text{hemolinfa}) = 0,06799 \times NA(\text{agua}) + 237,998 \quad (r=0,30)$$

Dicha relación lineal está regida por la fórmula de la recta: $y = ax + b$; donde:

$$a = 0,06799$$

x = concentración de Na en el agua

$$b = 237,998$$

$$r = 0,3 \text{ (correlación positiva)}$$

Los rangos hemolinfáticos de sodio varían desde aproximadamente 222-272 mEq/l en aguas de 0 ppt de salinidad hasta 242-290 mEq/l en aguas de 30 ppt de salinidad. En comparación con P.setiferus y P.sty-lirostris(7), se observa que el P.vannamei mantiene un rango de concentración mucho más estable (Gráfico y Tabla 2).

7.3. Concentración de Cloruros a diferentes salinidades

El cloruro muestra un comportamiento ascendente, con respecto a las diferentes salinidades. Se obtuvo un

valor de isoionicidad el cual se encuentra a aproximadamente 21,4 ppt. de salinidad. La fórmula que rige el comportamiento de los iones cloro es la siguiente:

$$CL(\text{hemolinfa}) = 0,2789 \times CL(\text{agua}) + 220,876 \quad (r=0,84)$$

Esta relación también está regida por la fórmula de la recta, donde:

$$a = 0,2789$$

x = concentración del Cl en el agua

$$b = 220,876$$

r = 0,84 ; se observó una correlación positiva mayor que con el Na.

El rango de las concentraciones hemolinfáticas de cloruros van desde 208-260 mEq/l en aguas de 0 ppt de salinidad hasta 315-362 mEq/l en aguas de 30 ppt. El comportamiento de las concentraciones de cloruros es similar a los de P.setiferus y P.stylirostris (7) (Gráfico y Tabla 1).

7.4. Estados hipo, hiper e iso-iónicos de la hemolinfa con relación al medio acuático.

Con respecto al Potasio hemolinfático, este mantiene un estado hiperiónico constante a través de todas las salinidades.

Con respecto al sodio, los líquidos hemolinfáticos se comportan hipertónicos hasta aguas de 18,4 ppt de salinidad, punto en el cual alcanza la iso-

tonicidad. De 18,4 ppt en adelante, se refleja una regulación hipotónica.

En cuanto a los cloruros, estos son regulados hipertónicamente hasta una salinidad de 21,4 ppt, a partir de donde muestra un comportamiento hipotónico.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

CONCLUSIONES

1. Los iones que han sido cuantitativamente analizados juegan un papel preponderante dentro de los mecanismos de osmoregulación interna y externa. Los iones cloruros y de sodio son los principales constituyentes de las soluciones salinas tanto orgánicas como del medio ambiente. Por ende serán estos los que en menor o mayor grado, dependiendo de la especie, hábitos migratorios, etc., los que regirán los procesos osmóticos de los organismos acuáticos.

2. El P.vannamei está entre los decápodos migratorios que buscan mayores salinidades en los estadios sub-adulto. Esta necesidad instintiva debe ser considerada en los sistemas de cultivo. La construcción de una granja camaronera en áreas de acceso tanto para aguas saladas como salobres (en ciertos deltas costeros) sería una forma de manipulación ambiental en los cultivos.

3. El estancamiento en el peso de 10-12 g. (estadio sub-adulto), que sufre el camarón en los ciclos de cultivo, se podría deber a los hábitos migratorios de este organismo. El cambio de salinidad que implica el movimiento migratorio podría ser el motivo de dicho comportamiento, así como que el detenimiento en el crecimiento tenga su razón en la adaptación del organismo a las condiciones salinas de la piscina de cultivo.

4. Los procesos osmóticos y la forma como el resto de los fenómenos fisiológicos se asocian a ellos, aún es un tema de mucha controversia. El papel de cada componente hemolinfático tendrá que ser medido individualmente para formar un cuadro completo de las interacciones físicas y bioquímicas involucradas en el mantenimiento de la homeostasis.

4. La razón por la cual el P.vannamei mantiene un rango más estable de sodio que otras especies (P.setiferus, stylirostris) puede ser por la gran capacidad de adaptación que se ha observado en el P.vannamei. En el Ecuador se lo cultiva en aguas estuarinas que en la época lluviosa llegan a tener 0 ppt de salinidad y en algunas zonas costeras de alta evaporación durante la época seca (Data de Villamil) se han llevado a cabo cultivos exitosos con 56 ppt de salinidad (Luis Chávez com.personal).

5. Otra importancia del estudio de las variaciones iónicas en las especies de cultivo comercial, es llevar

los datos obtenidos hacia las granjas de cultivo que se encuentran distribuidas a diferentes salinidades y tratar de relacionar los resultados de crecimiento y supervivencia a las necesidades fisiológicas de organismos migratorios como el P.vannamei.

6. El caso del potasio es interesante puesto que aunque no parece respetar ningún patrón de comportamiento, los datos muestran claramente que el P.vannamei mantiene las concentraciones internas de potasio por encima de la concentración del ambiente. La irregularidad en la concentración hemolinfática se puede deber, con cierto grado de especulación, a una regulación a nivel intra e intercelular que va a incidir sobre la concentración de la hemolinfa. Por último pero no menos importante es el papel que juega en los mecanismos de la bomba sodio-potasio, dando lugar a la posibilidad de que las variadas concentraciones se deban a estados específicos del ciclo de muda o de un desequilibrio homeostático.

7. Los presentes datos, conjuntamente con investigaciones paralelas y en serie, nos dan pautas acerca del posible manejo iónico del agua utilizada para las aclimataciones.

8. El hecho de que los cloruros tengan un punto isoiónico más elevado que el sodio, refleja una mayor manipulación reguladora con los cloruros. Por ende, estos iones parecen jugar un papel más importante en los procesos reguladores de las concentraciones iónicas hemolinfáticas.

9. Por los datos obtenidos podemos observar que el Penaeus vannamei es un camarón eurihalino con un claro comportamiento homoiónico tanto para el sodio como para los cloruros, aunque el sodio se mantiene más constante.

10. Las salinidades a las que se encontraron los valores isoiónicos para el sodio y los cloruros (18,4 y 21,4 ppt. respectivamente, muestran una relación con el punto isosmótico encontrado para el P. vannamei (Chávez, 1989. Com. Pers.) que se encuentra a 26 ppt. Esto refleja el hecho de que los iones son componentes porcentuales (en este caso de la hemolinfa) que contribuyen a la presión osmótica total, la cual está dada por el total de las partículas de soluto.

RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones que relacionen los contenidos y concentraciones iónicas con el peso del camarón.

2. Realizar mediciones con relación a otros factores importantes como oxígeno, temperatura, pH, etc.

3. Se necesita entender las condiciones fisiológicas y ambientales que regulan el anárquico comportamiento del ión potasio.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

A P E N D I C E S

APENDICE A

F I G U R A S



BIBLIOTECA
FACULTAD
MARITIMA



ESPIÑA ROSTRAL DORSAL CAPARAZON EXOPODITOS DE LOS CARINA POSTERIOR

PERIOFODOS

PLEOPODOS

OJO

ANTENUCLA

LAGELO ANTENUCLAR

ANTENA

SCALA ANTENAL

PELO DORSAL

OCULAR

TELSON

ENDOPODITO DE

UROPODO

EX OPODITO DE

UROPODO

SEGMENTOS

A BDOMINALES

ESPIÑA ANTENAL

EXOPODITO DEL

EXOPODITO DEL

ESPIÑA

CARINA

VISTA DORSAL

DEL CAMARO

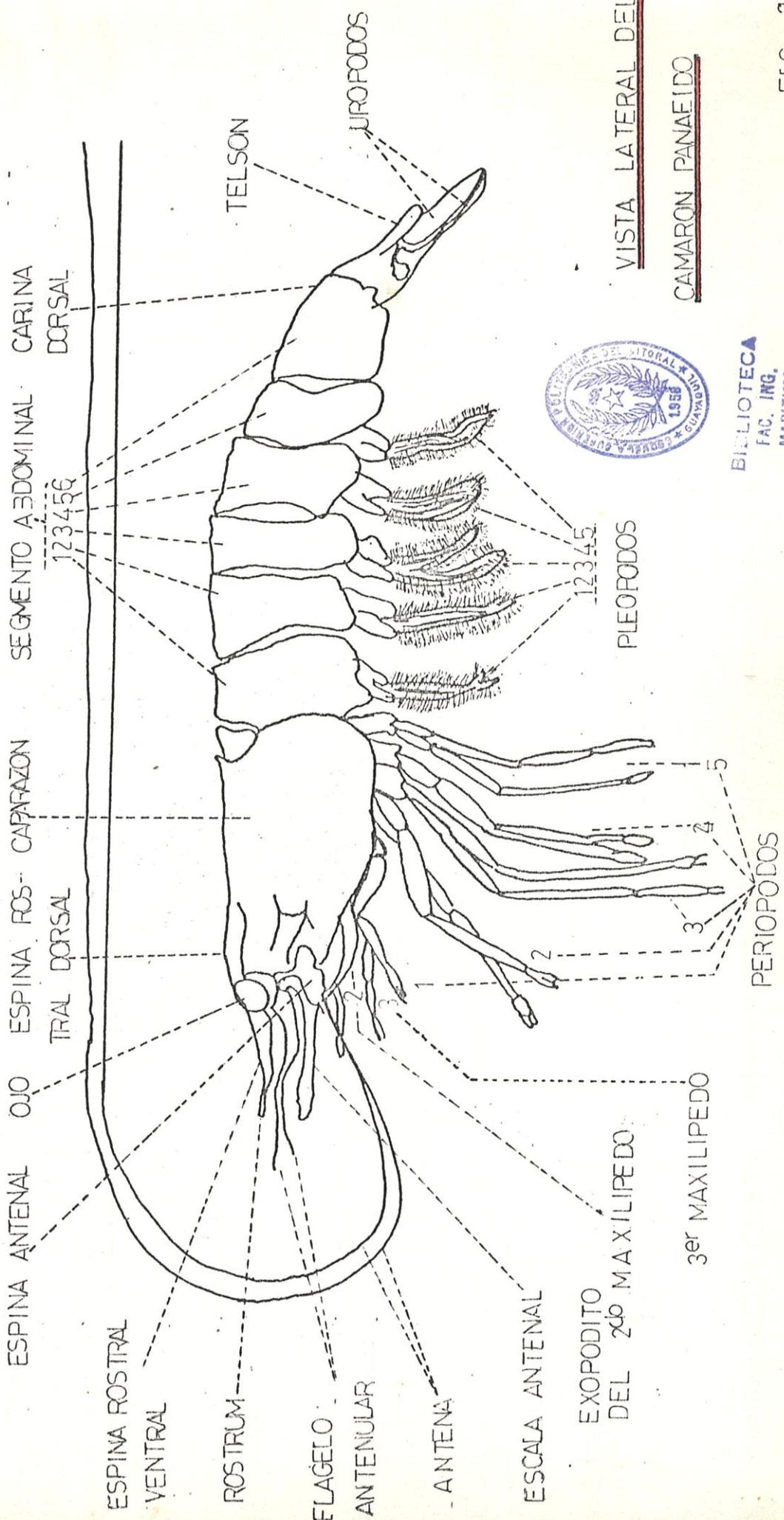
PANNEIDO

2da MAXILIPEDO

3er MAXILIPEDO

HEPATICA

ROSTRAL



VISTA LATERAL DEL

CAMARON PANAEIDO



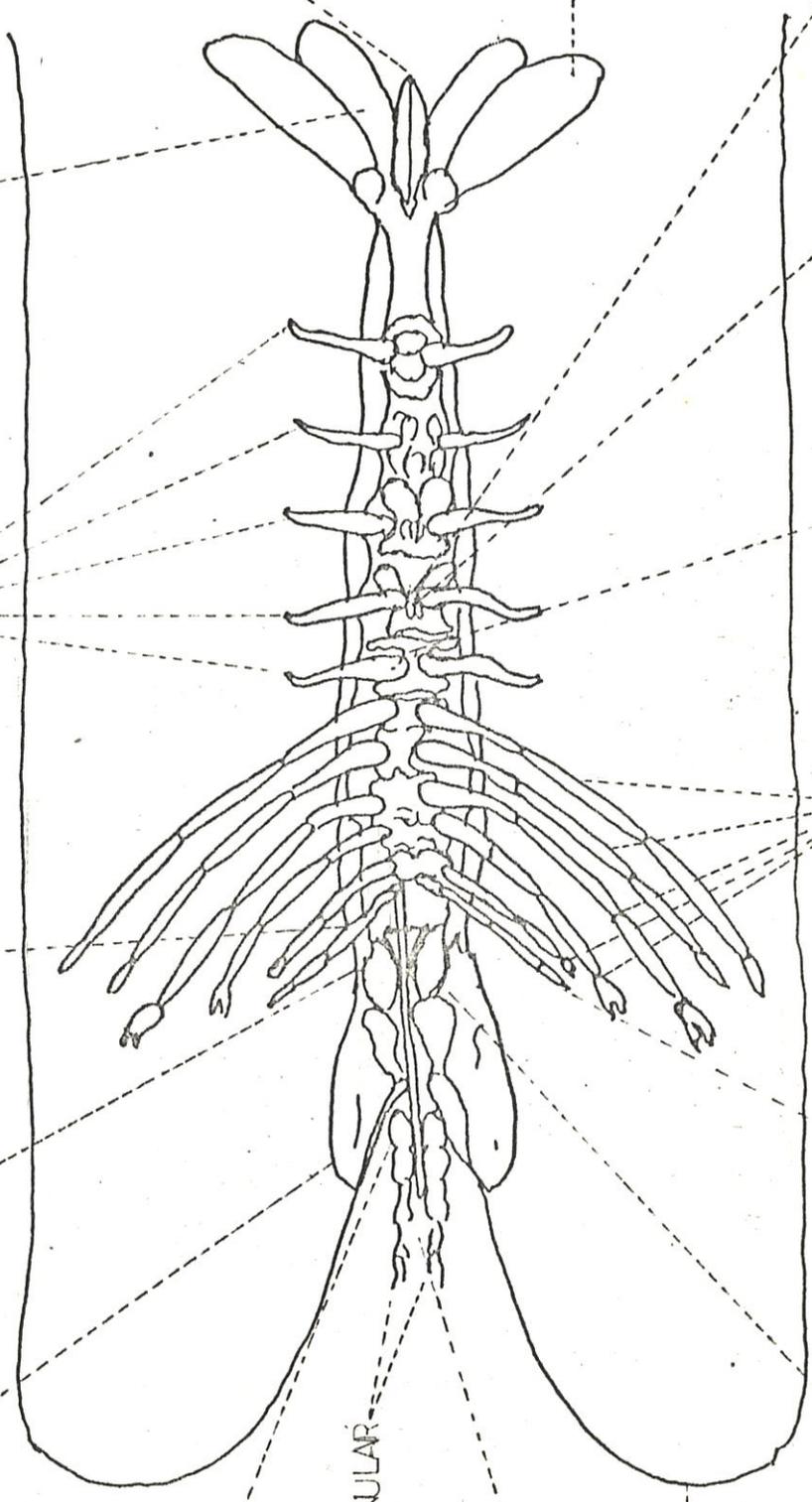
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

VISTA VENTRAL DEL CAMARON PANAFILDO

ESCALA ANTENAL CARAPAZON 2^{da} MAXILIPEDO PLEOPODOS ENDOPODITO DEL UROPODO



TELSON

EXOPODITO DEL

UROPODO

APENDICE

MUSCULAR

PETASMA

APERTURA DE LOS VA-

PERIOPODOS

3^{ra} MAXILIPEDO

PALPOS MANDIBULARES

SOS AFERENTES

ANTENULA

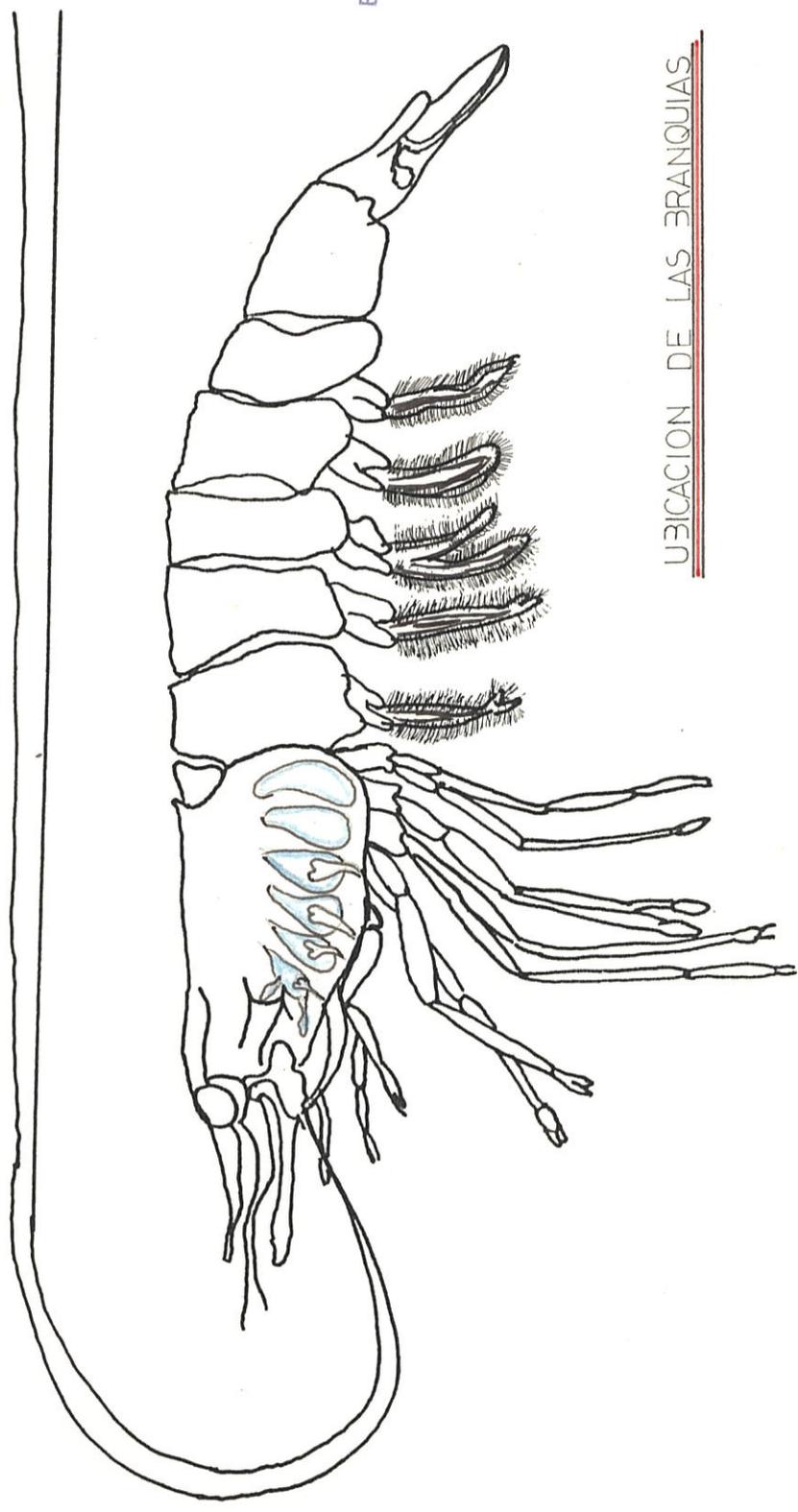
FLAGELO ANTENULAR

ROSTRUM

ANTENA



BIBLIOTECA
Inst. Ing.
MARITIMA

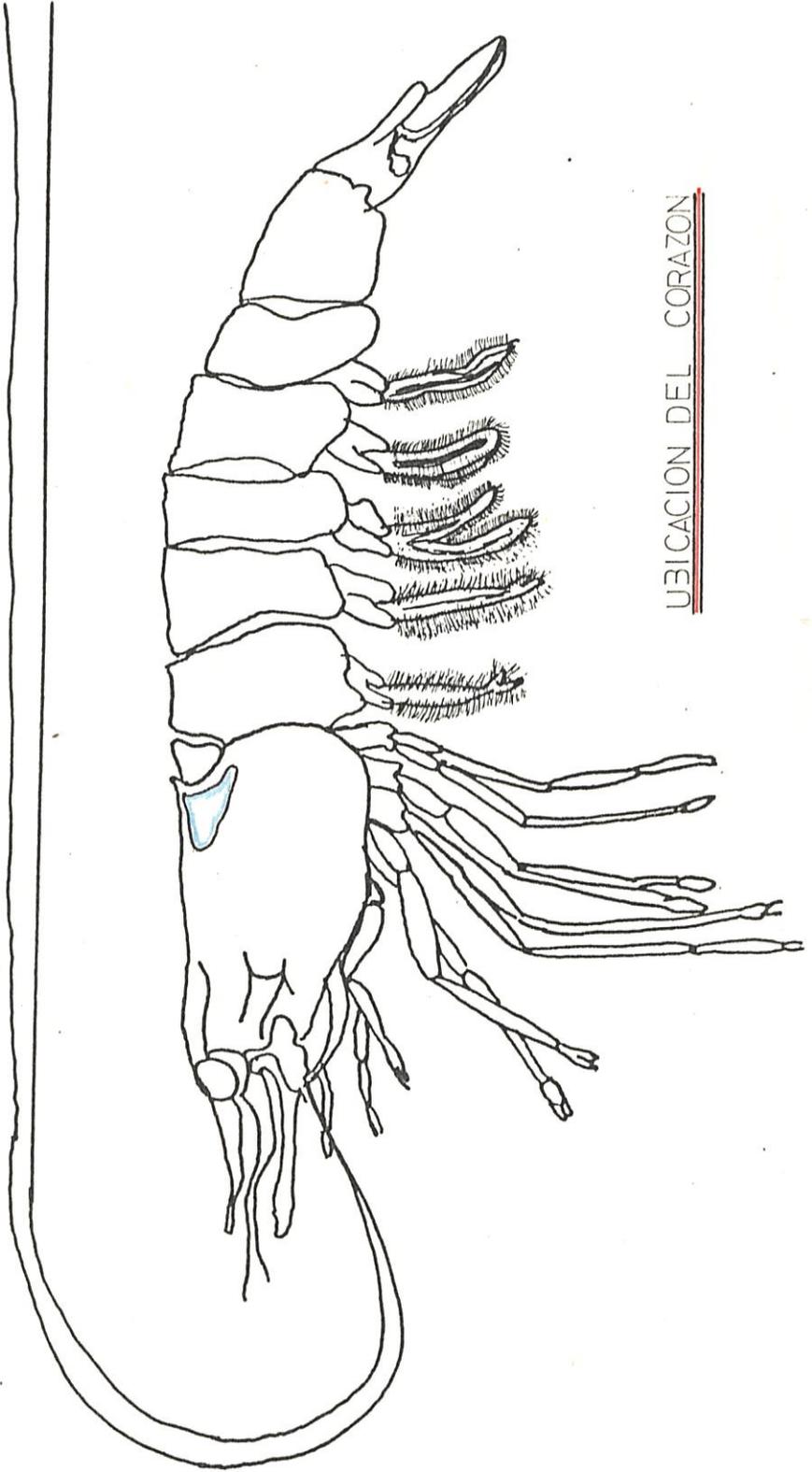


UBICACION DE LAS BRANQUIAS

FIG 4



BIBLIOTECA
FR. ING.
MARITIMA

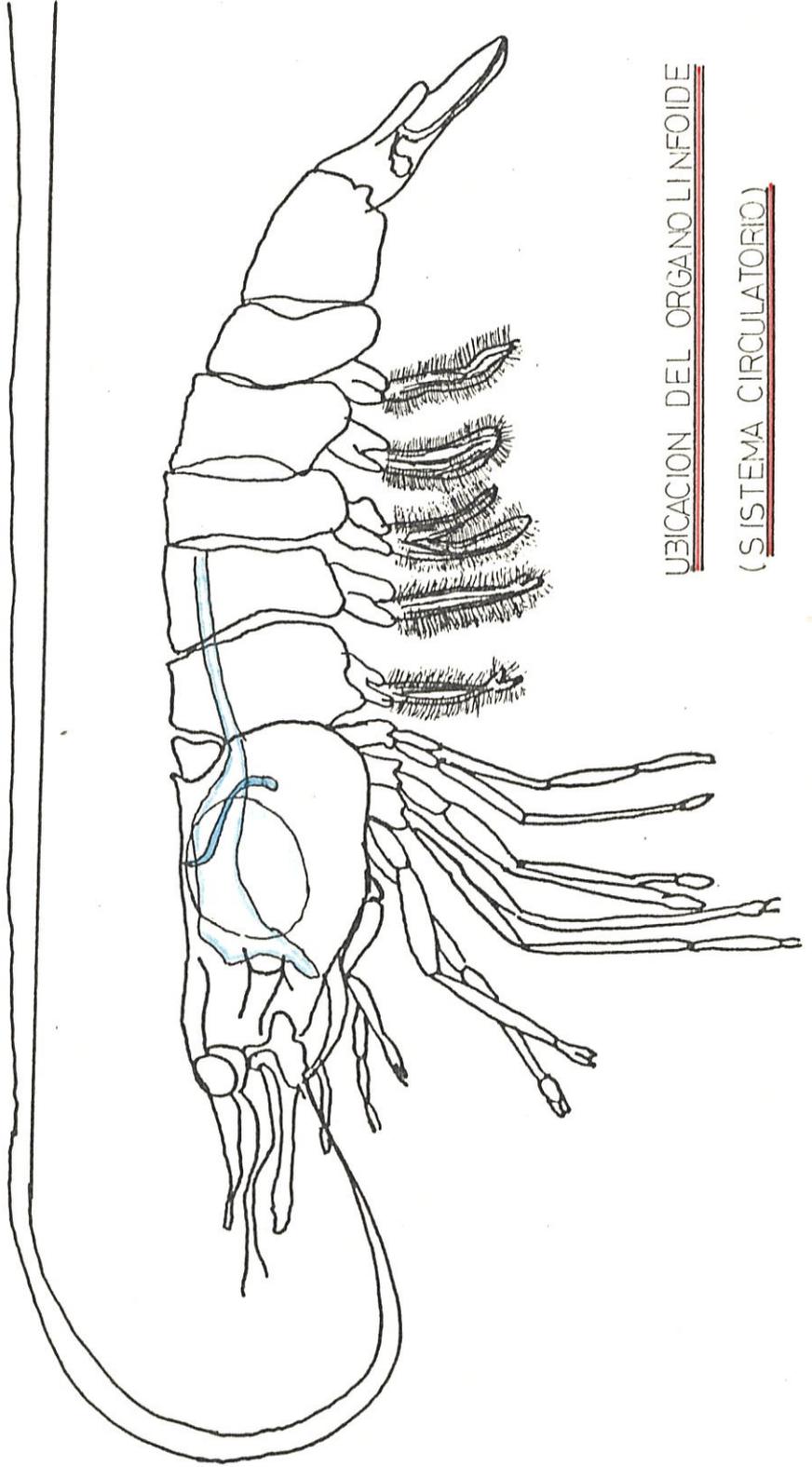


UBICACION DEL CORAZON

FIG. 1



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



UBICACION DEL ORGANOLINFOIDE

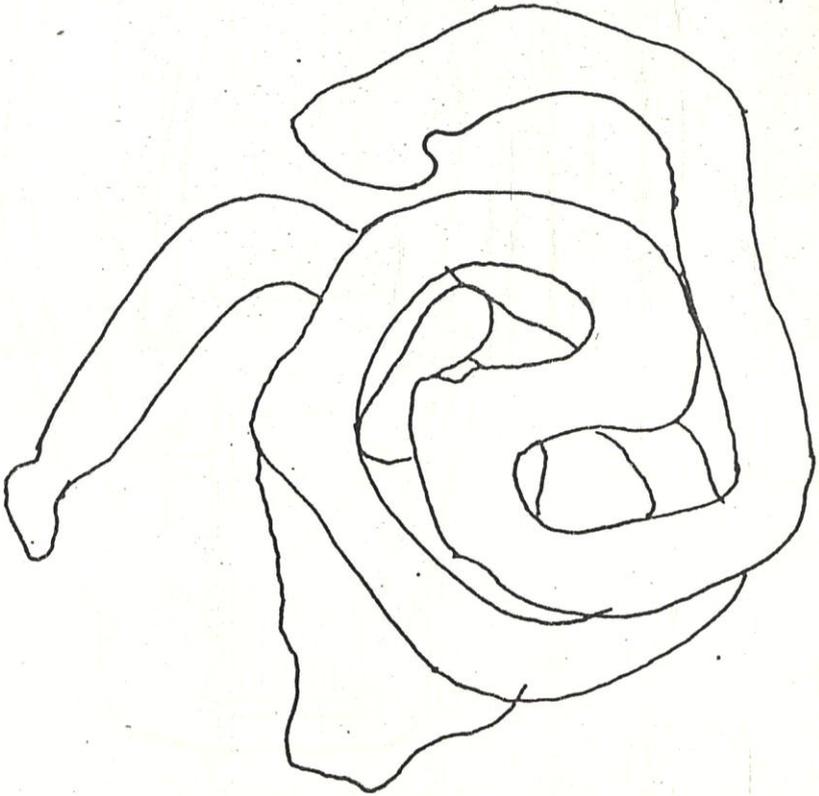
(SISTEMA CIRCULATORIO)

FIG. 6

TAMAÑO COMPARATIVO DE LAS GLANDULAS

ANTENAS DE ESPECIES DE AGUA DULCE (IZY

ESTAJURINA (DER)



GAMMARUS PULEX



GAMMARUS LOCUSTA

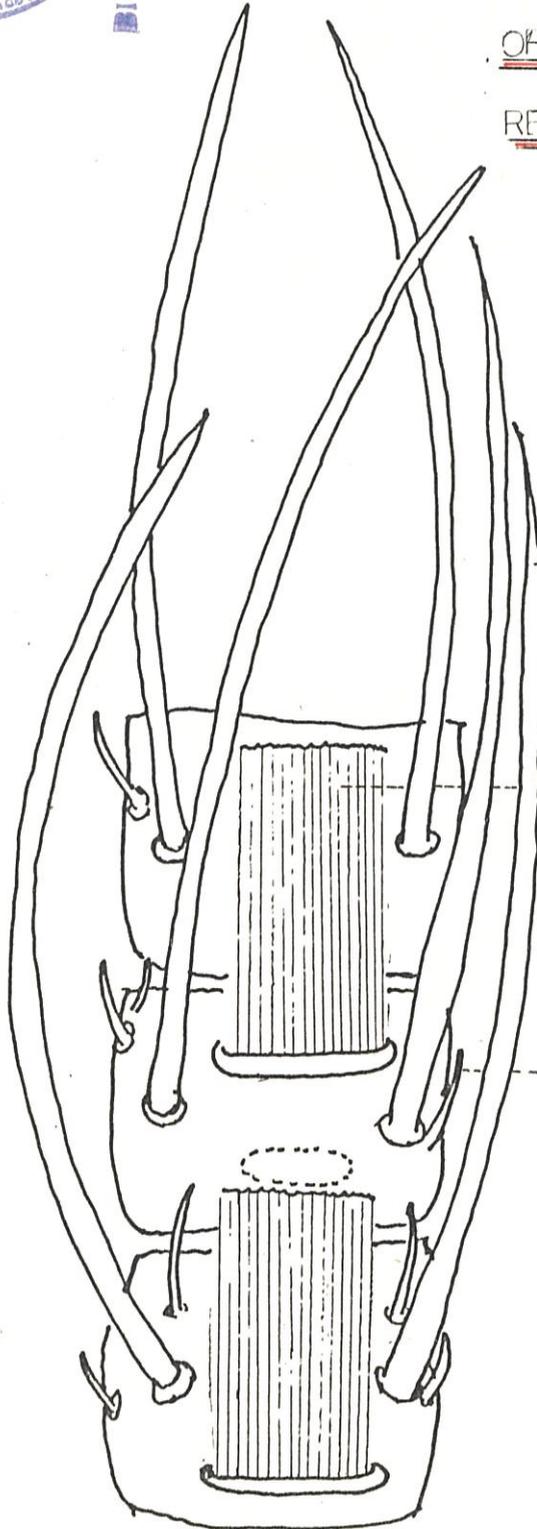


BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

ORGANOS QUIMIORECEPTORES DE LAS ANTENULAS

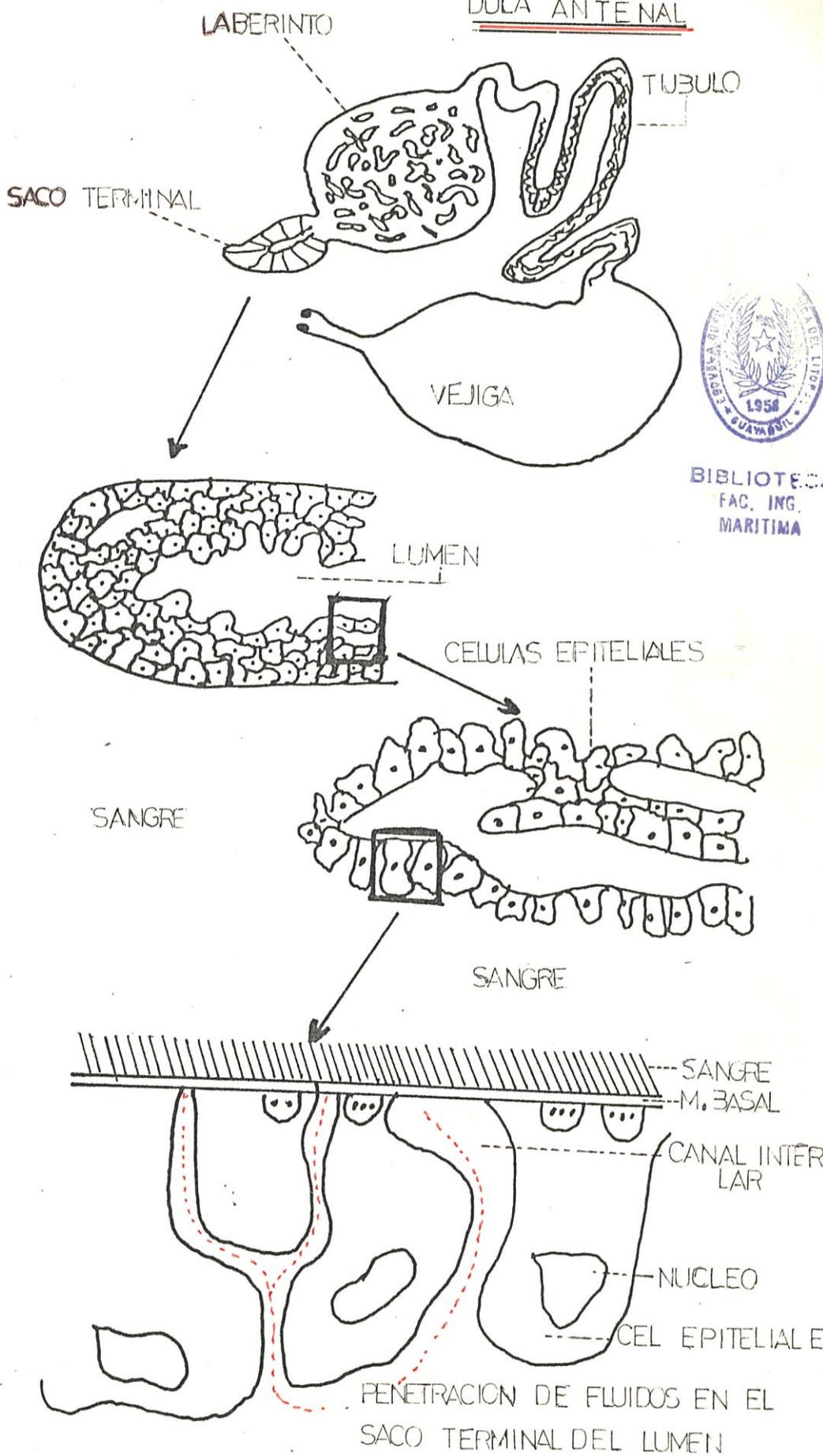


PELOS GUARDIANES

PELOS AESTETAS

PELOS ACOMPAÑANTES

DULA ANTEAL

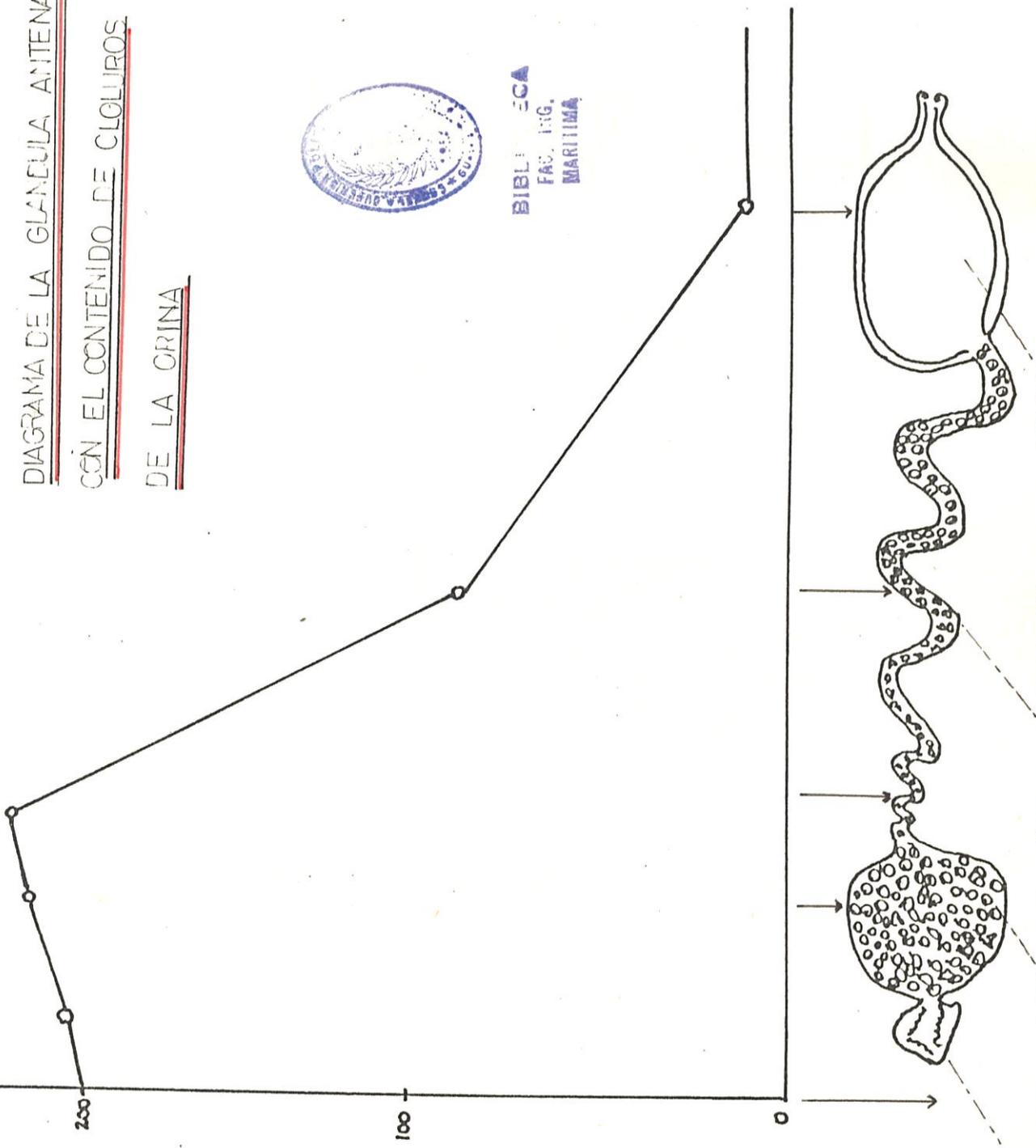


BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

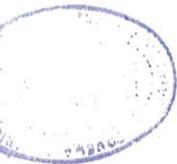
DIAGRAMA DE LA GLANDEJA ANTENAL
CON EL CONTENIDO DE CLORUROS
DE LA CRINA



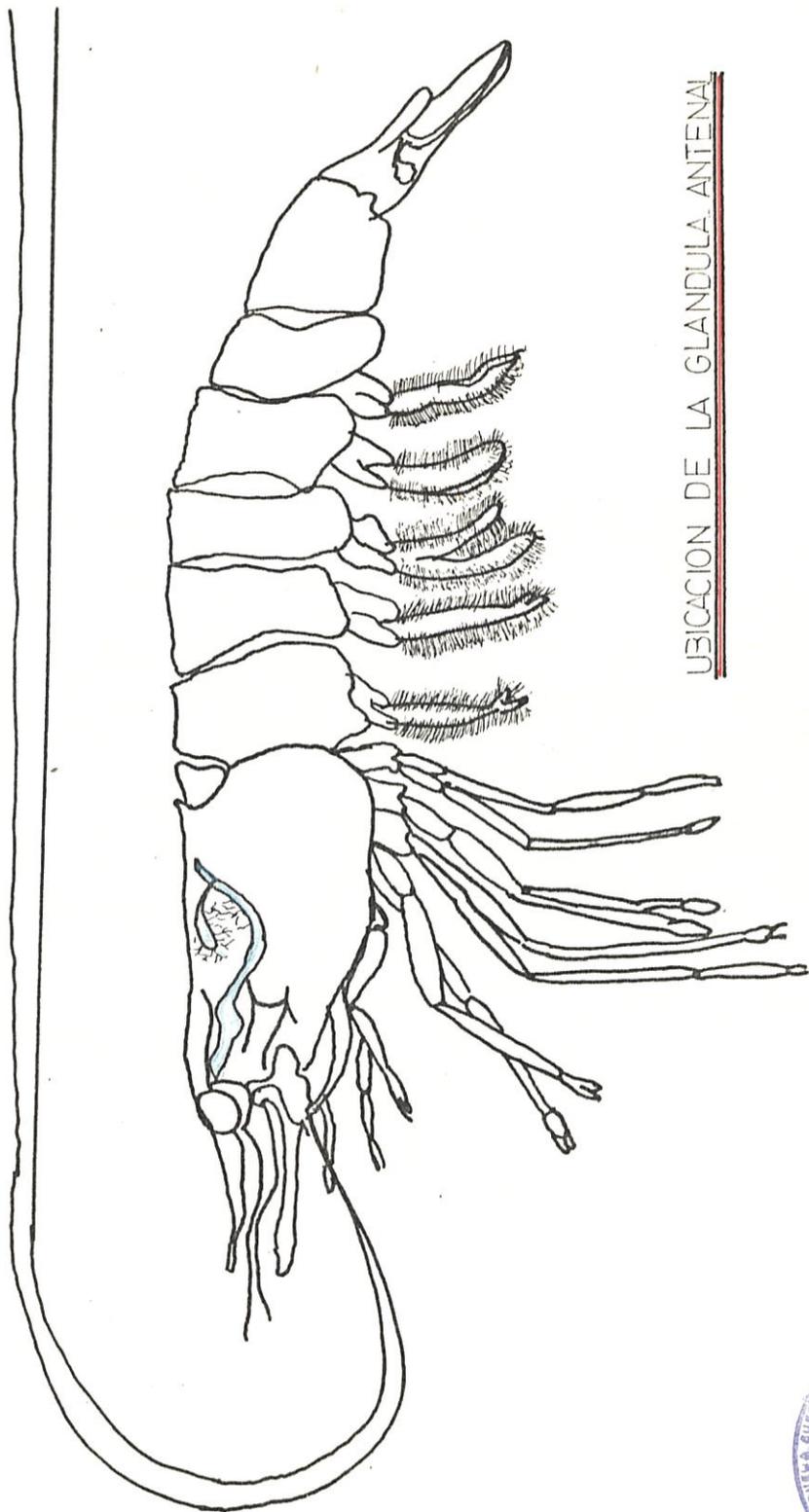
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARIITIMA



gM/LITRO DE CLORURO



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



UBICACION DE LA GLANDULA ANTENAL



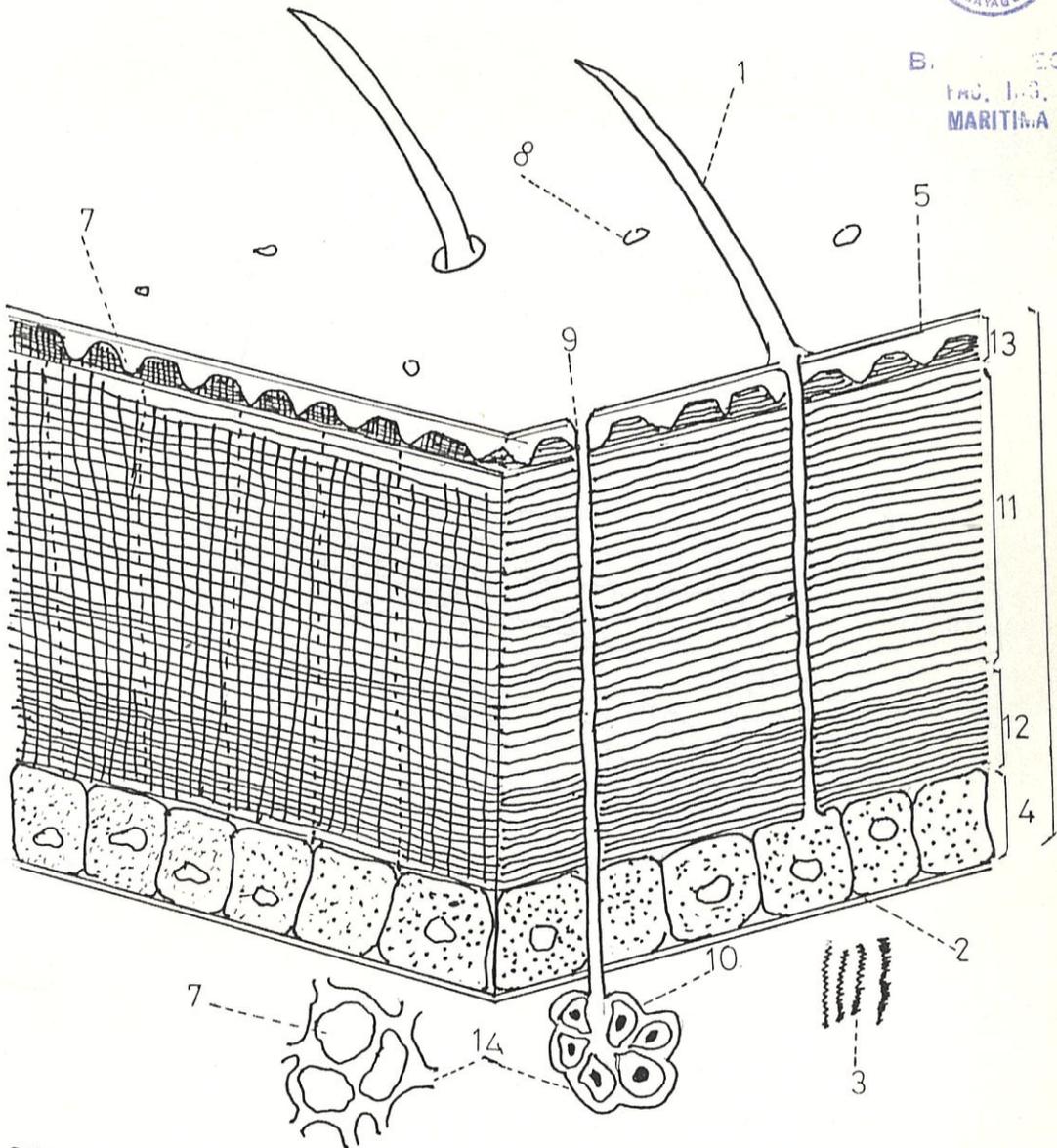
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

FIG. 11

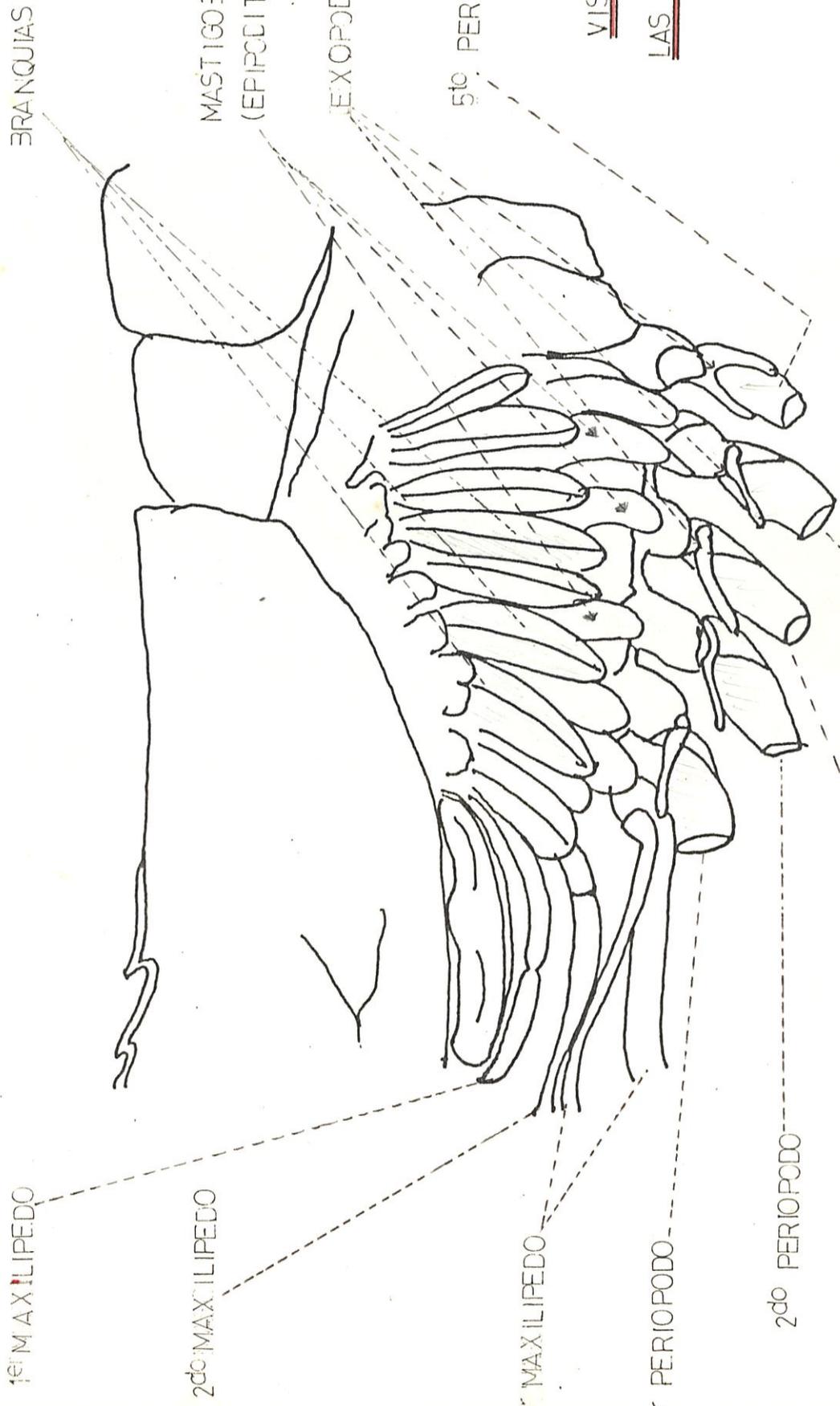
ESTRUCTURA DE LA CUTICULA DE LOS DECAPODOS



B. ECA
 ING. J. G.
 MARITIMA



- | | |
|---------------------|-----------------------------------|
| 1) SETA | 8) APERTURA DUCTAL DE LA GLANDULA |
| 2) MEMBRANA BASAL | 9) DUCTO GLANDULAR |
| 3) CANAL DEL PORO | 10) GLANDULA TEGUMENTARIA |
| 4) EPIDERMIS | 11) CAPA CALCIFICADA |
| 5) EPICUTICULA | 12) CAPA DESCALCIFICADA |
| 6) ENDOCUTICULA | 13) CAPA PIGMENTADA |
| 7) PRISMA CUTICULAR | 14) SEPTUM INTERPRISMATICO |



VISTA LATERAL DE

LAS BRANQUIAS

FIG 13



BIBLIOTECA
FIC. INC.
MARITIMA

3er PERIOPODO 4to PERIOPODO

2do PERIOPODO

3er PERIOPODO

2do MAXILIPEDO

1er MAXILIPEDO

BRANQUIAS

5to PERIOPODO

EXOPODITOS

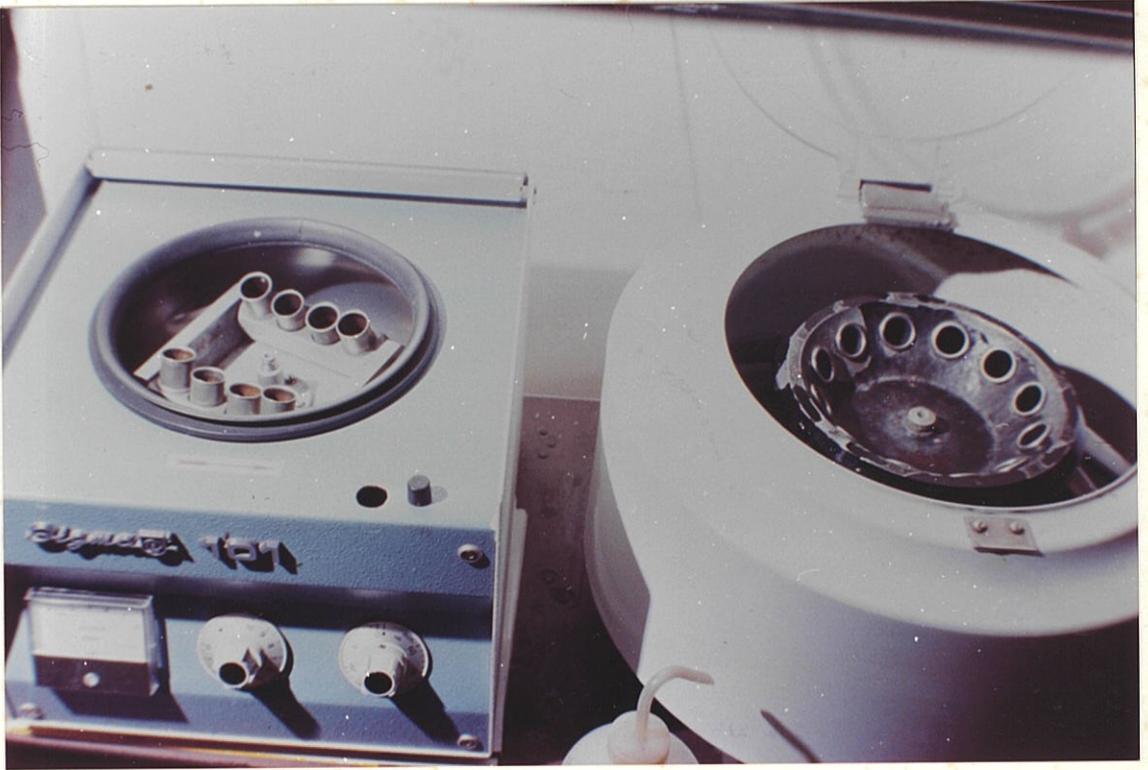
MASTIGOBRANQUIAS
(EPIPODITOS)

FIGURA 14.- Detalle del sitio de extracción de la hemolinfa



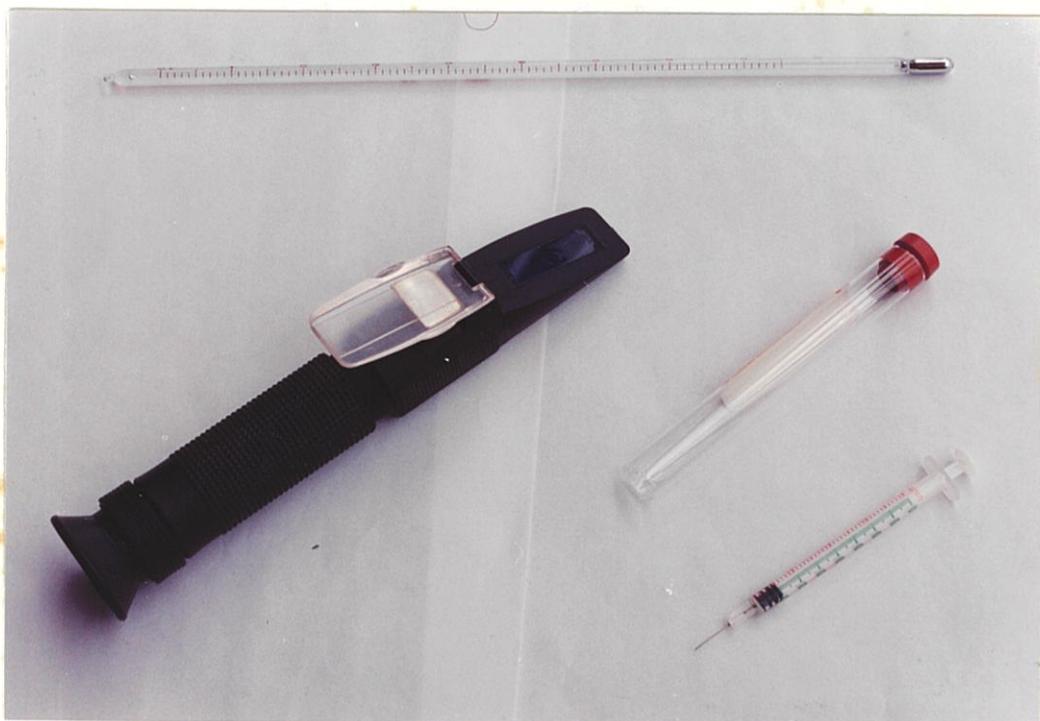
BIBLIOTECA
FAC. ING,
MARITIMA

FIGURA 15.- Centrifuga



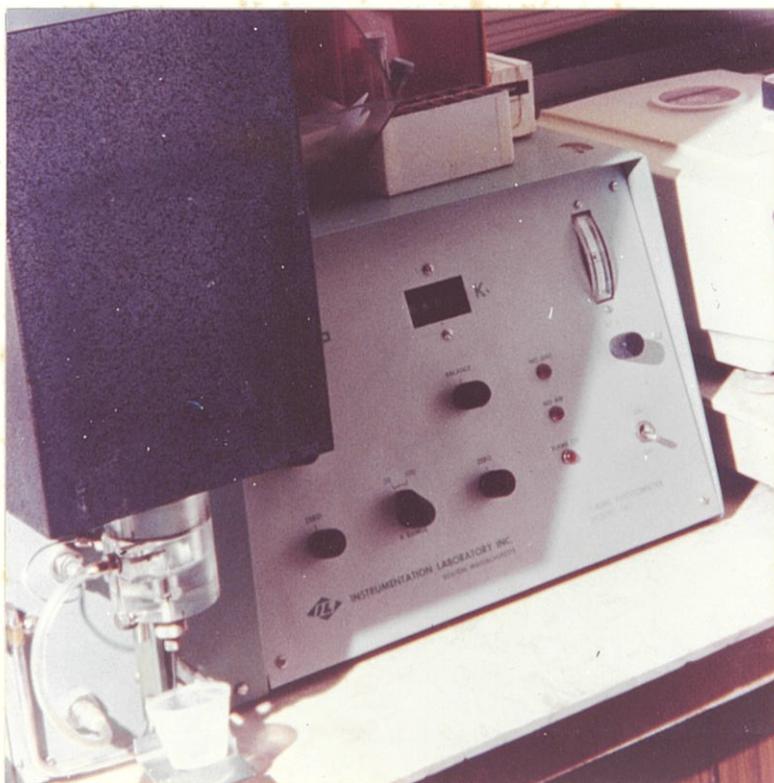
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

FIGURA 16.- Equipos utilizados para la recolección y extracción de la hemolinfa.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

FIGURA 17.- Fotómetro de llama utilizado para el análisis del contenido de Sodio y Potasio



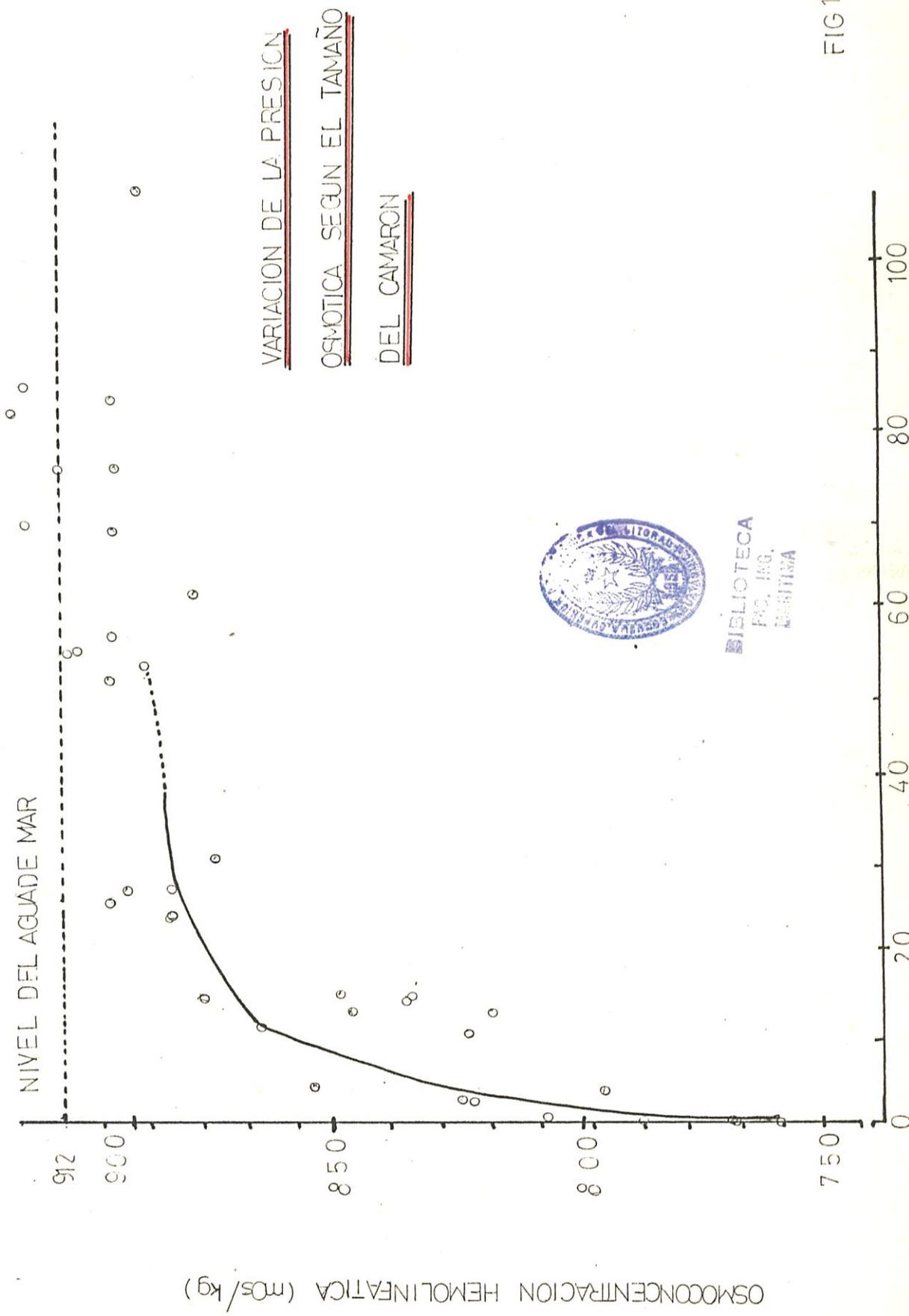
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

FIGURA 18.- Titulador utilizado para la determinación del contenido de cloruro.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

FIG 19



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MEXICALTANA

CUADRO # 1

COMPOSICION INORGANICA DE LA SANGRE DE CRUSTACEOS MARINOS
Y DE AGUA DULCE (Florkin, 1954)

Formas Marinas	Total cationes (mEq/l)	% total de cationes (indices)				
		Na+	K+	Ca+	Mg++	Cl-
Anomura						
Lithodes maia (Mp)	619,6	76,9	2,0	4,0	17,1	86,5
Brachyura						
Callinectes sapidus (NY)	531,8	85,5	2,5	7,4	3,6	90,3
Cancer Borealis (M)	536,8	85,6	1,9	4,3	8,2	59,2
Cancer Pagurus (H)	638,4	84,7	2,8	3,8	8,5	81,0
Cancer Pagurus (M)	596,7	84,2	2,0	4,6	9,2	86,4
Carcinus Maenas (H)	662,4	87,1	1,9	3,9	8,0	82,0
Hyas araneus (H)	620,2	82,0	2,0	3,8	12,0	83,6
Maja squinado (N)	764,1	77,0	4,5	7,1	11,5	81,2
Pachygrapsus crassipes (C)	517,0	89,1	1,8	5,2	3,9	--
Macrura						
Homarus americanus (M)	516,6	88,1	1,8	6,6	3,5	91,5
Homarus americanus (M)	504,5	92,2	1,7	4,2	1,9	98,7
Homarus americanus (NY)	529,1	87,1	1,7	7,2	3,4	93,6
Homarus gammarus (Mp)	567,0	89,8	2,5	5,2	2,5	92,4
Nephrops norvégicus (Mp)	570,8	90,6	1,3	4,9	3,2	90,8
Palinurus elephas (Mp)	615,4	88,4	1,7	4,4	5,5	90,5
Panulirus interruptus (C)	602,1	88,2	2,0	6,5	3,3	--
Especies de agua dulce						
Astacus astacus	183,4	82,7	1,5	13,0	2,7	97,0
Astacus astacus	215,3	85,1	1,5	11,4	2,0	80,5
Eriocheir sinensis	359,1	86,0	1,6	10,5	1,9	77,7
Procambarus clarkii	194,8	82,4	3,0	12,6	2,1	--
Composición del agua de mar en el ambiente de los crustáceos marinos						
Area						
Heligoland (H)	592,2	79,0	1,8	3,4	15,6	89,8
Maine (M)	553,6	82,7	1,5	3,5	12,2	88,8
Millport (Mp)	589,3	77,1	1,6	3,4	17,9	86,4
Naples (N)	664,7	91,7	2,0	1,0	5,3	94,3
New York	595,8	75,7	1,8	5,1	17,4	88,1

CUADRO # 2

CONSTITUYENTES COMUNES DEL AGUA DE MAR Y DE AGUAS
DULCES TIPICAS, %

	Agua de mar	Agua (dura)	Dulce (suave)
	(1)	(3)	(3)
Cl-	19,630	0,041	0,019
SO4-	2,701	0,025	0,007
Br-	0,066		
F-	0,001		
CO2			
}	0,001		
H2CO3			
HCO3-	0,116		
CO3=	0,012	0,119	0,012
H3BO3	0,022		
H2BO3-	0,005		
Na-	10,770	0,021	0,016
Mg++	1,298	0,014	0,00053
Ca++	0,408	0,065	0,010
K+	0,387	0,016	---
Sr++	0,014		
Salinity	35,161	0,301	0,065

(1)de Rubey (1951); (3)de Baldwin (1937).



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

CUADRO # 3
REGULACION IONICA EN DECAPODOS

Especies	Concentración en el Plasma como % de la conc. en plasma dializado (basado en cont de agua)						Conc. Iónica en el plasma como % del mar	
	Na	K	Ca	Mg	Cl	SO4	PTN en el plasma (gm/l)	
Homarus gammarus	110	85	131	14	101	32	29	98,9
Palinurus elephas	111	98	108	29	101	74	49	101,5
Pagurus bernhardus	105	130	137	49	96	135	69	99,1
Lithodes maia	104	128	113	97	103	96	38	102,8
Dromia vulgaris	97	120	84	99	103	53	37	98,7
Carcinus maenas	110	118	108	34	104	61	55	100,7
Macropipus depurator	105	134	111	47	97	78	37	98,1
Hyas araneus	102	132	106	93	102	104	29	101,8
Maja squinado	100	125	122	81	102	66	53	98,7

de Waterman, 1960.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

APENDICE C

TABLAS DE RESULTADOS



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

T A B L A 1

CONCENTRACION DE Cl^- (AGUA Y HEMOLINFA)
Se muestra salinidad del agua

<u>sal(ppt)</u>	<u>Cl Agua</u>	<u>Cl hemolinfa</u>
26	377	300
10	140	249
0	7	260
21	304	325
17	247	312
5	76	260
30	430	315
25	363	315
15	220	303
2	24	245
30	421	362
12	176	290
24	349	291
3	47	262
17	243	260
24	339	355
0	1	208
7	101	218
27	391	324
5	72	209
1	15	192
21	300	327
3	45	220
25	353	370
6	86	233
15	215	271
27	379	350
7	106	270
19	276	270
26	367	296
10	143	280
20	288	323
12	172	249
20	292	270

ver graficos



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

T A B L A 2

CONCENTRACION DE Na⁺ (AGUA Y HEMOLINFA)
Se muestra salinidad del agua

sal(ppt)	Na Agua	Na Hemolinfa
26	360	237
10	144	235
0	21	272
21	292	210
17	242	275
5	85	259
30	410	242
25	345	255
19	217	273
2	42	255
30	403	290
12	176	269
24	330	234
3	58	267
17	238	224
24	326	298
0	16	222
7	107	211
27	371	258
5	81	208
1	29	203
21	290	279
3	56	226
25	338	235
6	94	230
15	212	242
27	365	286
7	112	262
19	268	247
26	352	285
10	146	266
20	277	278
12	172	328
20	281	229

ver graficos



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

T A B L A 3

CONCENTRACION DE K⁺ (AGUA Y HEMOLINFA)
Se muestra salinidad del agua

sal (ppt)	K+ Agua	K+ Hemolinfa
26.0	11.5	15.4
10.0	4.0	7.1
0.0	8.0	12.5
21.0	7.1	13.1
17.0	5.4	7.2
5.0	5.1	9.3
30.0	16.9	22.5
25.0	12.1	15.7
15.0	3.7	8.1
2.0	6.1	17.2
30.0	17.2	23.4
12.0	2.9	11.2
24.0	8.0	19.3
3.0	4.1	7.1
17.0	5.1	10.9
24.0	7.9	10.4
0.0	7.0	10.3
7.0	3.0	5.2
27.0	16.7	20.3
5.0	4.8	8.2
1.0	5.3	16.4
21.0	6.8	11.7
3.0	3.2	12.4
25.0	11.4	17.2
6.0	5.3	12.1
15.0	3.2	7.9
27.0	15.3	16.7
7.0	3.2	5.7
19.0	9.1	19.7
26.0	13.2	14.4
10.0	4.2	6.2
20.0	6.5	17.5
12.0	2.7	13.4
20.0	6.1	14.6

ver graficos



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

APENDICE D

GRAFICOS DE RESULTADOS



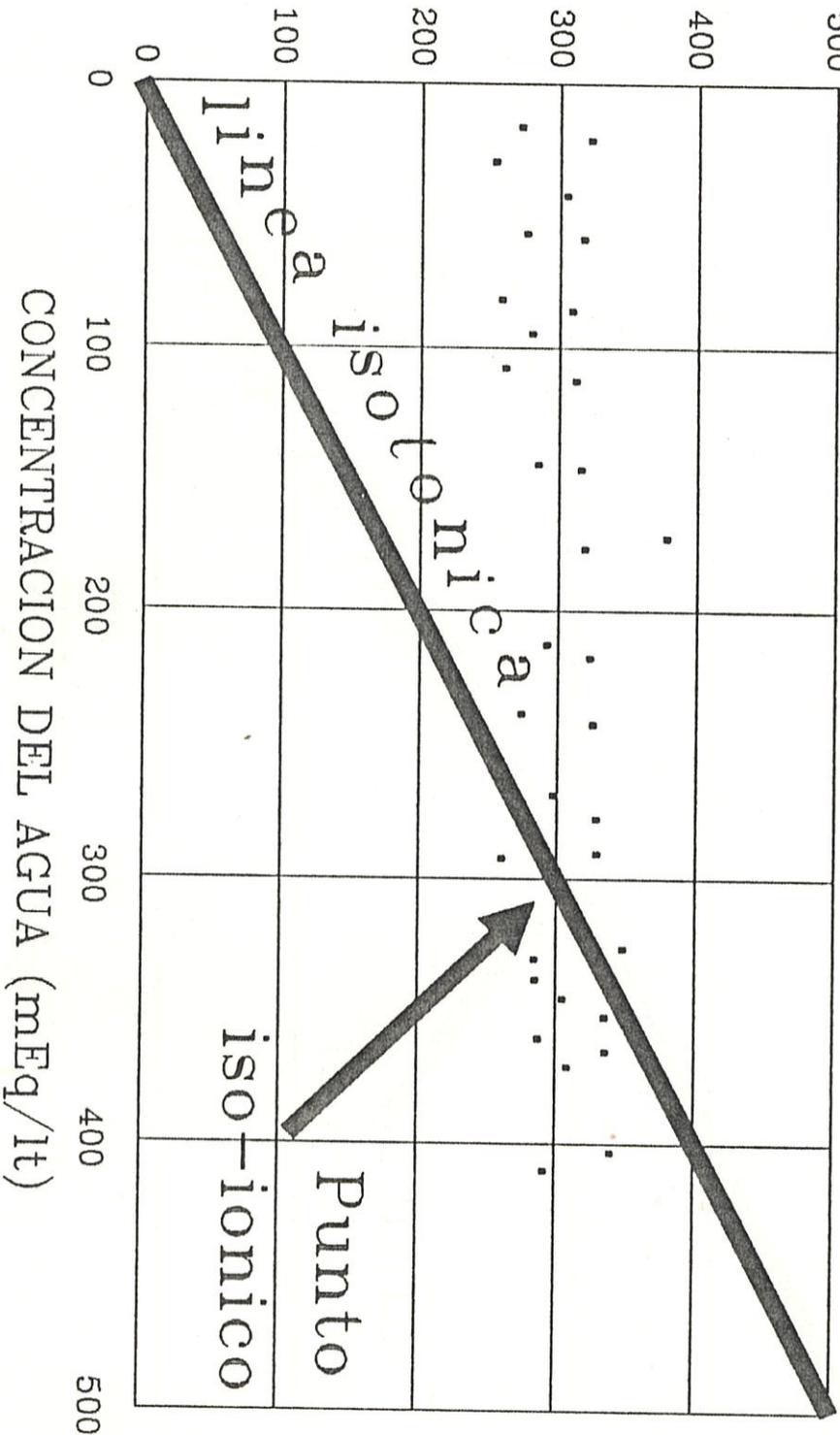
BIBLIOTECA
FAC. EST.
MARITIMA

GRAFICO # 1

Na+ Hemolinfa vs Na+ Agua



CONCENTRACION HEMOLINFATICA (mEq/lt)



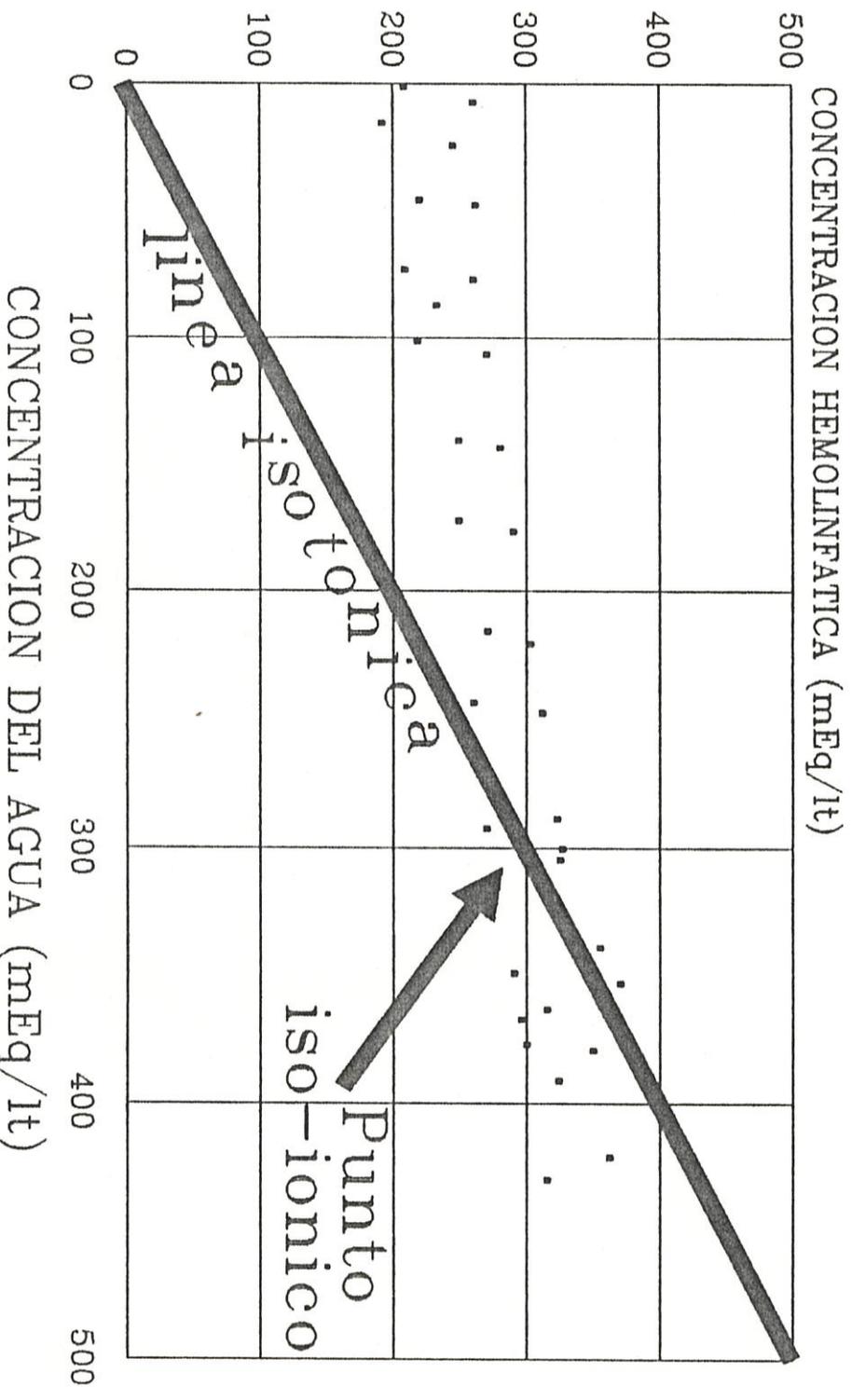
• Na+



BIBLIOTECA FAC. CIENCIAS U. DE GUAYAQUIL

GRAFICO # 2

Cl- Hemolinfa vs Cl- Agua



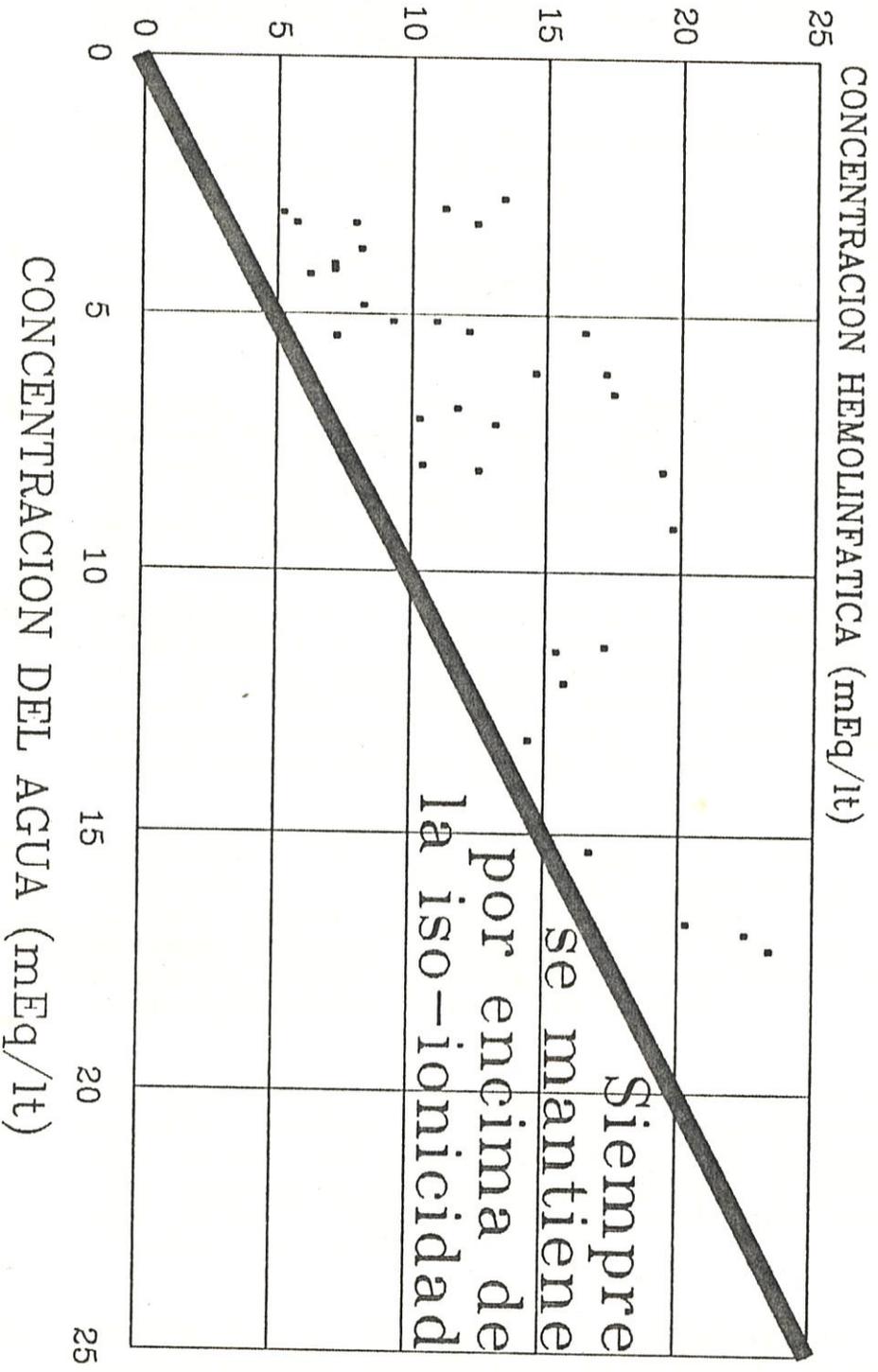
• Cl-



UNIVERSIDAD DE
PACIFICOS
FAC. CIENCIAS MARINERAS

GRAFICO # 3

K+ agua vs K+ hemolinfa



• K+

BIBLIOGRAFIA

1. BALAZS, G; OLBRICH, S.E.; TUMBLESON, M.E. Serum constituents of the Malaysian prawn (Macrobrachium rosenbergii) and pink shrimp (Penaeus marginatus), Elsevier Sci. Publs. Co., Amsterdam, 1974, Aquaculture 3, pp.147-157.
2. BARNES, R.D. Zoología de los Invertebrados. Interamericana, México, 1977, 826 pp.
3. BELL, T.A.; LIGHTNER D.V. A handbook of normal Penaeid Shrimp Histology. W.A.S., Louisiana, 1988, 114 pp.
4. CAMERON, J.N. Interactions between Physiological systems in aquatic animals. Vernberg y Zhirmunsky, editores, U.S.A., 1977, Proc. of: Workshop on joint USSR-USA Reseach Program Physiology and Biochemistry of marine animals, pp.205-211.
5. CASTILLE, F.L.Jr & LAWRENCE A.L. A comparison of the capabilities of juvenile and adult Penaeus setiferus and Penaeus stylirostris to regulate the osmotic, sodium, and chloride concentrations in the hemolymph, Pergamon Press Ltd., Great Britain, 1980, Comp. Biochem. Physiol. pp.677 to 680.
6. CASTILLE, F.L.Jr & LAWRENCE A.L. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of the rock shrimps Sicyonia brevirostris and Sicyonia dorsalis Pergamon Press Ltd., Great Britain, 1981, Comp. Biochem. Physiol. Vol.70A. pp.519 to 523.
7. CASTILLE, F.L.Jr & LAWRENCE A.L. A comparison of the osmotic, sodium and chloride concentrations between the urine and hemolymph of Penaeus setiferus (L.) and Penaeus stylirostris Stimpson, Pergamon Press Ltd., Great Britain, 1981, Comp. Biochem. Physiol. Vol. 70A. pp. 525 to 528.
8. CRIPPS, M.C.; NAKAMURA, R.M. Inhibition of growth of Macrobrachium rosenbergii, Proc. World Maricul. Soc., 1979, 10: pp.575-580.

9. CUN, M. Guía práctica para la cría de camarones comerciales (*Penaeus*) en el Ecuador, Instituto Nacional de Pesca, Guayaquil, 1982, Vol.V.1:pp.9-10.
10. CHOPIN, G.R. Química. Publicaciones Cultural S.A., México, 1977, 594 pp.
- 10a. EVANS, D,H. Ionic Exchange mechanisms in fish gills. Pergamon Press Ltd., Great Britain, 1980, Comp.Biochem.Physiol.Vol.51A,pp.491 to 495.
11. GALIANA MINGOT, T. Pequeño Larousse Técnico. Ediciones Larousse, México, 1978, 1056 pp.
12. GILLES R.; PEQUEUX A. Interactions of Chemical and Osmotic Regulation with the Environment.Academic Press,New York, 1983,The Biology of Crustacea, Vol.8:pp.109-177.
13. IWATA, J.; SHIGUENO, K. Osmotic concentration of Hemolymph in various growth stages of *Penaeus japonicus*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, Japan,1980, 46(12)1547.
14. KRASNOV,E.V. Adaptation of Marine Invertebrates in growth processes: some results and prospects of study. Vernberg y Zhirmunsky,editores,U.S.A.,1977, Proc.of:Workshop on joint USSR-USA Research Program Physiology and Biochemistry of marine animals, pp.81-93.
15. KRAUSS, E. Recomendaciones para el proceso de Aclimatación de Post-Larvas. Cámara de Productores de Camarón,1988,Acuacultura del Ecuador,5:pp.18-21.
16. LOCKWOOD, A.P.M. Aspects of the Physiology of Crustacea. 1968, 265 pp.
17. MANDEL, L. H. Perspectives on osmotic and ionic regulation in Decapod crustaceans. Vernberg y Zhirmunsky, editores,U.S.A.,1977,Proc.of:Workshop on joint USSR-USA Research Program Physiology and Biochemistry of marine animals,pp.103-112.
18. NASON, A. Biología. Editorial Limusa, México, 1975,

726 pp.

19. OEA. Transporte a través de la membrana celular. OEA 80 pp.
20. PANIKKAR, N.K. Physiological aspects of adaptation to estuarine conditions. Proc. Indo-Pacif., 1950, Fish. Coun., 2: pp. 168-175.
21. PANIKKAR, N.K. Osmotic behaviour of shrimps and prawns in relation to their biology and culture. FAO, 1968, Fish. Rep., (57)2: pp. 527-538.
22. PEARSE, A.S.; GUNTER, G. Salinity. Joel W. Hedgpeth, editor, California, 1971, Treatise on Marine Ecology and Paleoecology, Vol. 1. Chapter 7: 129-158.
- 22a. ROSENBERG, J. Química General, McGraw-Hill, 1970, Colección Schaum, p. 105.
23. SINGH, T. The isosmotic concept in relation to the Aquaculture of the giant prawn, Macrobrachium rosenbergii, Elsevier Sci. Publs. Co., Amsterdam, 1980, Aquaculture, 20. pp. 251-256.
24. VALENTINE, J.W. Major Features of the Marine Environment. Prentice-Hall, New Jersey, Evolutionary Paleoecology of the marine biosphere, 4: 125-133.
25. VERNBERG, F.J.; VERNBERG, W.B. Adaptative Responses to multiple environmental factors. Vernberg y Zhirmunsky, editores, U.S.A., 1977, Proc. of: Workshop on joint USSR-USA Research Program Physiology and Biochemistry of marine animals, pp. 9-16.
26. WATERMAN, T.H. The Physiology of Crustacea. Academic Press, New York, 1960, Vol. 1. 589 pp.
27. YAROSLAVTSEVA, L.M.; ZHIRMUNSKY, A.V. Adaptation of Marine Invertebrates to changes in environmental salinity. Vernberg y Zhirmunsky, editores, U.S.A., 1977, Proc. of: Workshop on joint USSR-USA Research Program Physiology and Biochemistry of marine animals, pp. 17-39.
28. YOUNG, J.H. Morphology of the white shrimp Penaeus

setiferus. U.S.Govt. Print.Off., Washington, 1959, 169
pp.