

1996 B - 2001 B

696003773

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



**MORFOLOGÍA DE BRANQUIAS Y HEPATOPÁNCREAS DE LA LANGOSTA
ROJA *Panulirus interruptus* EXPUESTA A EMERSIÓN**

TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA
PRESENTA

ITZEL SIFUENTES ROMERO

Las Agujas, Zapopan, Jal., Febrero del 2002



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

COMITÉ DE TITULACIÓN

C. ITZEL SIFUENTES ROMERO
PRESENTE.

Manifetamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de TESIS con el título "MORFOLOGÍA DE BRANQUIAS Y HEPATOPÁNCREAS DE LA LANGOSTA ROJA *Panulirus interruptus* EXPUESTA A EMERSIÓN", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicho trabajo la DRA. LUCÍA OCAMPO VICTORIA y como asesor el M.C. EDUARDO JUÁREZ CARRILLO.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, 26 de septiembre del 2001

DRA. MÓNICA ELIZABETH RIOJAS LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Leticia Hernández López

M.C. LETICIA HERNÁNDEZ LÓPEZ
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

c.c.p. DRA. LUCÍA OCAMPO VICTORIA.-DIRECTORA DEL TRABAJO

c.c.p. M.C. EDUARDO JUÁREZ CARRILLO.-ASESOR DEL TRABAJO.

c.c.p. Expediente del alumno

MERL/LHL/mam

C. DRA MÓNICA ELIZABETH RIOJAS LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN
DE LA DISVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
PRESENTE

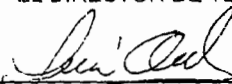
Por medio de la presente no permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizo la pasante: **C ITZEL SIFUENTES ROMERO** con el título **MORFOLOGÍA DE BRANQUIAS Y HEPATOPÁNCREAS DE LA LANGOSTA ROJA *Panulirus interruptus* EXPUESTA A EMERSIÓN**. Consideramos que ha quedado debidamente concluido por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y en su caso programación de fechas de exámenes de tesis y profesional respectivos.

Si otro particular agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

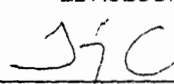
Las Agujas, Zapopan, Nextipac, Jal., a 8 de Enero de 2002

EL DIRECTOR DE TESIS



DRA LUCÍA OCAMPO VICTORIA

EL ASESOR



MC EDUARDO JUÁREZ CARRILLO

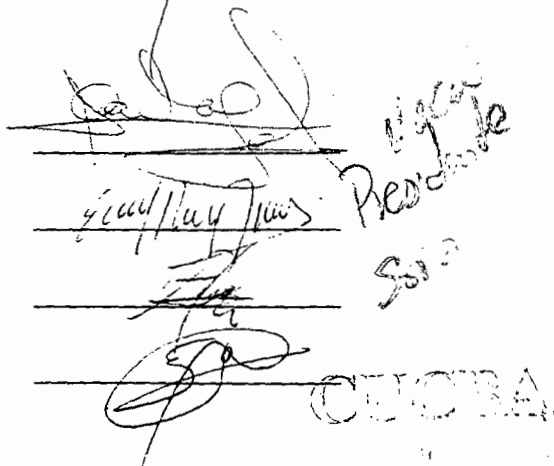
SINODALES

1.- MC MIGUEL CARVAJAL SORIA

2.- DR EDUARDO RÍOS JARA

3.- MC MARTÍN PÉREZ PEÑA

4. ELVA GUADALUPE ROBLES JARERO



**CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL
NOROESTE
CIBNOR S.C.**

Instituto Federal Sep- CONACyT

La Paz, B. C. S

Directora: Dra. Lucía Ocampo Victoria

Agradecimientos

A la Dra. Lucía Ocampo por la oportunidad de realizar este trabajo, por su orientación, y apoyo pero sobre todo por su amistad.

A la M.C. Carmen Rodríguez por el apoyo brindado por su tiempo y orientación.

A todos los que hicieron posible este trabajo en especial al Dr. Marco Linné y al Dr. Pedro Saucedo.

Al proyecto CONACYT, CLAVE: J31677B “Aspectos de la fisiología de crustáceos de importancia comercial con relación al transporte vivo” por la beca recibida para la realización de este trabajo.

A mis sinodales: Dr. Eduardo Ríos, M.C. Miguel Carbajal, M.C. Martín Pérez, M.C. Guadalupe Robles

A mis amigos que siempre estuvieron conmigo y a quienes les debo mucho: Rafa, Débora, Caty, Karina, Cinthya, Karla, Dalila, Paulina y Alfonso

Dedicatoria

A mis padres Rafael y Blanca, por su apoyo, amor y amistad y porque les debo todo lo que soy y he sido.

A Nayeli por caminar siempre a mi lado y por no dejarme caer nunca.

A Eduardo Juárez por su gran amistad y porque compartió conmigo cada una de las letras de esta tesis.

A mi Luna...

A Dios por darme el entusiasmo de iniciar este trabajo y porque me dio toda la fuerza para acabarlo.

Y a todos los que con su amor y presencia me ayudaron a alcanzar esta meta.

Resumen

La langosta roja, *Panulirus interruptus*, es un recurso muy importante para México por sus volúmenes de captura, por su gran tamaño y generación de divisas. Esta especie ha logrado entrar al mercado internacional de productos vivos por ser resistente al transporte. Sin embargo las langostas se ven sometidas a diversos factores estresantes producto de largos periodos de exposición aérea.

Se realizó una simulación de transporte en vivo a 4 tiempos de emersión (3, 6, 12, 24 h) en langostas aclimatadas a dos temperaturas (20, 26 °C). Se midió el área y perímetro de las lamelas branquiales y el diámetro, perímetro y área de hemocitos del hepatopáncreas y se registró el pH en hemolinfa.

Se obtuvo 100% de supervivencia en todos los tratamientos. El perímetro y área de las lamelas branquiales tienden a disminuir conforme el tiempo de emersión aumenta. Se observó una pérdida en la integridad de las lamelas branquiales a 20 °C. En hepatopáncreas se observó una deformación de la estructura de los túbulos hepatopancreáticos conforme el tiempo de emersión aumenta siendo más severa a 26 °C. El número de hemocitos disminuye conforme el tiempo de emersión aumenta y con incrementos en la temperatura. El diámetro de los hemocitos es mayor al reportado en otras especies. En hemolinfa se encontró capacidad para mantener el equilibrio ácido-base.

Concluimos que la langosta roja es capaz de soportar largos periodos de emersión sin daños irreversibles evidentes en branquias. Sin embargo en hepatopáncreas se evidencian daños irreversibles en su estructura que impiden su adecuado funcionamiento.

1983

Índice general

Agradecimientos	iii
Dedicatoria	iv
Resumen	v
Índice general	vi
Índice de tablas y figuras	viii
Introducción	1
1. Ecología de las langostas	1
2. Pesquería de langosta	2
3. Langosta roja, <i>Panulirus interruptus</i>	3
4. Concepto de estrés	4
5. Fisiología	5
Branquias	5
Hepatopáncreas	6
Antecedentes	8
Justificación	11
Objetivo	13
Hipótesis de trabajo	14
Metodología	15
1. Colecta de organismos	15
2. Mantenimiento de los organismos	15
3. Pruebas preliminares	15
4. Aclimatación a las temperaturas experimentales	15
5. Tiempos de emersión experimentales	16
6. Trabajo experimental	16
7. Medición de pH	16
8. Análisis histológico	17
9. Análisis estadístico	17
Resultados	18
Supervivencia	18
Potencial hidrógeno, pH	18

Branquias	19
Hepatopáncreas	21
Histología	24
Discusión	30
Supervivencia	30
Potencial hidrógeno, pH	31
Branquias	33
Hepatopáncreas	35
Conclusiones	38
Glosario	39
Bibliografía citada	40

Índice de tablas y figuras

Tabla 1. Variación del pH en hemolinfa	18
Tabla 2. Variación en el área y el perímetro de lamelas branquiales	19
Figura 1. Variación en el área de lamelas branquiales	20
Tabla 3. Variación en el perímetro, área y diámetro de hemocitos	21
Figura 2. Variación en el perímetro de hemocitos	22
Figura 3. Variación en el área de los hemocitos	22
Figura 4. Variación en el diámetro de hemocitos	23
Figura 5. Variación en el número de hemocitos/campo	23
Figura 6. Cortes longitudinales de branquias a 20 °C.....	26
Figura 7. Cortes longitudinales de branquias a 26 °C.....	27
Figura 8. Cortes iongitudinales de hepatopáncreas a 20 °C	28
Figura 9. Cortes longitudinales de hepatopáncreas a 26 °C	29

Introducción

Las langostas espinosas (Crustacea: Decapoda) pertenecen a un grupo muy exitoso de organismos, del que hasta el momento se han descrito 49 especies ampliamente distribuidas en zonas de diferentes profundidades y temperaturas encontrándose en una banda alrededor del mundo entre latitudes aproximadas de 45° N a 45° S. La diversidad de especies es mayor en aguas tropicales y subtropicales, mientras que la abundancia es relativamente menor; sin embargo, esta diversidad decrece en aguas templadas pero la abundancia generalmente aumenta (Kanciruk, 1980).

En México, existen siete especies de langostas espinosas pertenecientes al género *Panulirus* Gray (1847). De éstas, cuatro se encuentran en el Océano Pacífico: *Panulirus interruptus*, *P. gracilis*, *P. inflatus* y *P. penicillatus* y tres en aguas del Golfo de México y el Caribe: *P. argus*, *P. guttatus* y *P. laevicauda* (Gracia y Kensler, 1980).

1) Ecología de las langostas

Las langostas tienen una posición muy importante en la cadena alimenticia, ya que las podemos encontrar desde aguas muy profundas (100 a >300 m), caracterizados por perpetua oscuridad y sustrato lodoso, hasta en zonas de poca profundidad (30 a 50 brazas de la costa) (Guzmán, 1992; Kanciruk, 1980). En la red trófica son considerados organismos dominantes por las mismas características que las hacen ser comercialmente importantes, es decir, su gran tamaño y abundancia. Han sido consideradas como depredadoras clave en una gran variedad de hábitats bentónicos por su caza selectiva, ya que aparentemente son responsables de grandes efectos en la composición y distribución de especies de invertebrados de los cuales se alimenta, tales como: caracoles, almejas, mejillones, erizos y gasterópodos. Así mismo las langostas son presa de grandes depredadores como tiburón, calamar, pulpo y varias especies de peces teniendo así dos papeles importantes en la cadena trófica, como depredador y como presa (Lipcius y Egleston, 2000).

CUICBA

La selección de hábitat y recursos varía considerablemente en los Palinuridos, ya que éstos dependen principalmente de su estadio de vida y de la especie. En general, las langostas adultas habitan en la zona bentónica, en áreas rocosas de la zona sublitoral. Son de hábitos nocturnos y permanecen ocultas durante el día, en oquedades que brindan protección de sus enemigos. Este es un rasgo característico de las langostas, ya que estos refugios generalmente no son construidos por ellas mismas, sino que son elegidos de manera oportunista. Estos refugios pueden ser de diversos tipos tales como cuevas, grietas entre las rocas y el coral, amontonamiento de piedras y lechos de algas marinas de los cuales salen al anochecer en busca de alimento y regresan antes del amanecer (Gracia y Kensler, 1980; Kanciruk, 1980).

2) Pesquería de langosta

Las langostas espinosas soportan una de las más grandes pesquerías comerciales en el mundo, además de soportar pesquerías artesanales en algunos lugares donde no son muy abundantes. La langosta es capturada y comercializada en más de 90 países. La captura mundial es de aproximadamente 77,000 ton por año con un valor de alrededor de 500 millones de dólares norteamericanos (Phillips y Kitaka, 2000).

Aunque existen siete especies de langostas espinosas en México, sólo cuatro son de importancia comercial: *Panulirus interruptus*, *P. argus*, *P. inflatus*, *P. gracilis* (Briones y Lozano, 2000).

Dentro del volumen de la producción pesquera nacional de crustáceos, la langosta se encuentra en los primeros lugares, 1,838 ton anuales (SEPESCA, 2000) siendo superada únicamente por el camarón y la jaiba. De la producción nacional de langosta, el Pacífico contribuye con 1,338 ton anuales (SEPESCA, 2000), de los cuales el 90% es de *P. interruptus* (Briones y Lozano, 2000).

3) Langosta roja, *Panulirus interruptus*

En México, *Panulirus interruptus* se distribuye a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California y algunas poblaciones se pueden encontrar en el Golfo de California. Habita zonas rocosas del intermareal hasta zonas de gran profundidad. Las hembras desovan una vez al año y las que habitan en el norte desovan antes que las que habitan en el centro y las que habitan en el sur de la Península de Baja California, Junio, Julio y Agosto respectivamente. La fecundidad también sigue una tendencia latitudinal, donde las ovadas de las hembras en el norte poseen menos huevos que en el sur. El desove ocurre en zonas de baja profundidad a las cuales los adultos van en primavera y regresan a aguas más profundas en otoño (Briones y Lozano, 2000).

La langosta roja se pesca con trampas rectangulares cubiertas con una malla de alambre galvanizado. También se utilizan trampas de madera o redes, a las cuales se les coloca un cebo que puede ser pescado o algunos moluscos como quitones. Los pescadores mantienen a las langostas vivas por algunos días en contenedores de madera flotantes llamados recibas. Después son transportadas hacia centros de recepción para ser distribuidas a lo largo de la costa. La mayoría es exportada a Estados Unidos y otra parte es transportada viva principalmente a países asiáticos (Briones y Lozano, 2000).

En Baja California Sur se lleva a cabo la mayor pesquería de langosta roja, *P. interruptus*. Tan sólo en 1999 la producción fue de 1,047 ton (SEPESCA, 2000). La langosta roja es un recurso muy importante por su volumen y valor económico, además, es apreciada por su tamaño y porque la dimensión de la cola es mayor que la del cefalotórax, a diferencia de otras especies. También es una especie que es resistente al transporte en vivo y por esto ha logrado entrar al mercado internacional como producto vivo (Díaz y Guzmán, 1995).

La mayoría de las técnicas utilizadas para el transporte en vivo se basan en pruebas de "ensayo-error". Sin embargo, ya existen diversos métodos de transporte para langostas espinosas que pueden ser desde camiones especialmente contruidos con

tanques provistos de aire u oxígeno comprimido, para transporte en gran escala, o bien, en cajas construidas con PVC sumergidas en agua de mar para traslado a baja escala. Generalmente, el método más utilizado, es empaçar a las langostas en hieleras de poliuretano rellenas de aserrín, por su baja conductividad del calor, peso ligero, fácil ventilación y bajo costo, además, se les agrega paquetes de hielo o hielo artificial y son selladas (Sugita y Deguchi, 2000; Vijayakumaran et al., 1997; Schwarz, 1995)

Cualquiera que sea el método de transporte utilizado, es indiscutible que la actividad y el metabolismo en general de las langostas se ve afectado, ya que durante el periodo de transporte son sometidas a condiciones de estrés tales como manipulación excesiva, diferencia entre los gases respiratorios en el aire y el agua, desecación, aumento de la actividad e interacción de los animales, aumento en los niveles de los compuestos nitrogenados, bajos niveles de oxígeno y largos periodos de emersión (Schwarz, 1995). Uno de los problemas más comunes, es que se desconoce ampliamente la fisiología de estos organismos durante estos procesos.

4) Concepto de estrés

El concepto de estrés aplicado a sistemas biológicos ha provocado muchas discusiones, sin que se haya concretado un concepto único de aplicación general. Sin embargo, todas las definiciones de estrés parten de la premisa de la presencia de un estímulo que actúa sobre un sistema biológico o fisiológico y la subsecuente reacción del sistema (Lignot, *et al.*, 2000).

El estrés es el efecto de cualquier alteración que extiende procesos homeostáticos o estabilizadores más allá de sus límites normales, a cualquier nivel de organización biológica. Representa la suma de cambios morfológicos, fisiológico, bioquímicos y de comportamiento por los cuales un organismo trata de mantener o restablecer un metabolismo normal frente a una fuerza física o química (Lignot, *et al.*, 2000).

CUICPA

4

5) Fisiología

Branquias

En las langostas el órgano principal donde se realiza el proceso respiratorio son las branquias tricobranqueadas. Esencialmente, las branquias consisten de un eje central y una serie de ramificaciones laterales, en el eje central se encuentran canales sanguíneos aferentes y eferentes (McLaughlin, 1983). Las branquias proveen una superficie delgada, húmeda y permeable entre los ambientes externo e interno. Para que este órgano sea eficiente, se debe mantener un flujo continuo de agua. En el caso de los decápodos, las branquias se encuentran dentro de una cámara branquial. Esta cámara provee protección a los frágiles filamentos, pero la abertura es generalmente pequeña lo que reduce el flujo de agua. Sin embargo, estos organismos poseen estructuras especializadas llamados escafnatitos, que vibran para crear corrientes de agua dentro de las cámaras branquiales. Esta adaptación los protege de la desecación, e incluso les permite vivir en zonas intermareales, donde se encuentran expuestos al aire. (Brusca y Brusca, 1991; Díaz, 1988)

El aire y el agua son dos medios diferentes en cuanto a respiración. El oxígeno, comparado con el dióxido de carbono está disponible en suficientes cantidades en el aire y los animales con órganos de respiración adecuados no sufren una hipoventilación marcada. Sin embargo, el dióxido de carbono se torna problemático en cuanto a excreción por lo que los crustáceos acuáticos los acumulan cuando han emergido. las branquias se colapsan y se reduce por lo tanto la superficie respiratoria (Morris y Oliver, 1999).

La morfología, el tamaño y espacio interlamelar de las branquias de crustáceos pueden estar relacionadas con el hábitat y además con el nivel de actividad y la capacidad de regulación iónica; y en términos de eficiencia las branquias de crustáceos más avanzados pueden ser comparadas con las de peces. El oxígeno tomado por las branquias depende del siguiente proceso: ventilación de la cámara branquial

(escafogantitos), perfusión de las branquias y transporte del oxígeno a través del sistema circulatorio (Schwarz, 1995).

En los crustáceos decápodos que emergen la respiración y en general el intercambio gaseoso es altamente limitado y esto causa hipoventilación, una capacidad limitada de difusión del tejido branquial, una perfusión limitada de las branquias o el colapso y la desecación de las lamelas branquiales. Sin embargo, las especies intermareales, pueden mostrar cierto grado de adaptación en el consumo de oxígeno durante periodos de emersión, que están ausentes en especies completamente acuáticas. Estas adaptaciones incluyen el desarrollo de ciertas estructuras y cambios morfológicos para prevenir el colapso de las lamelas branquiales fuera del agua (Schwarz, 1995).

Hepatopáncreas

El hepatopáncreas es la glándula digestiva de los crustáceos, el cual se involucra en diversas actividades metabólicas, es el principal responsable de la síntesis y secreción de enzimas digestivas y la consecuente toma de nutrientes, pero también se involucra en la excreción, en el ciclo de muda, en el almacenamiento de reservas inorgánicas, en el metabolismo de lípidos y carbohidratos y por lo menos una porción de sus funciones están bajo control neuroendócrino (Gibson & Barker, 1979).

El hepatopáncreas en la mayoría de los decápodos, forma una masa glandular grande y compacta que ocupa gran parte de la cavidad cefalotorácica, se encuentra a un lado del estómago y del intestino medio y anterior. Observaciones acerca del tamaño del hepatopáncreas sugieren que el peso del órgano constituye del 2 al 6% del peso corporal del organismo. Este peso relativo es ligeramente mayor en machos que en hembras, encontrándose también diferencias dependiendo del estadio de muda. El color del hepatopáncreas varía desde blanco hasta verde olivo en diferentes especies de crustáceos y frecuentemente varía en organismos de la misma especie. Se pueden distinguir cuatro tipos principales de células, éstas son: células E (embrionarias o indiferenciadas), éstas dan origen a las células R y F. Las células F (fibrilares) tienen una función secretora y las células R (de absorción o reabsorción) cuya función es almacenar nutrientes. Las

células F aparentemente se desarrollan convirtiéndose en células B que se caracterizan por contener una gran vacuola que se cree contiene enzimas digestivas. Estas células muestran una distribución diferencial a lo largo de los túbulos (Dall y Moriarty, 1983; Gibson y Barker, 1979). Debido a que el hepatopáncreas está constituido por un gran número de túbulos simples y frágiles donde cada túbulo está cubierto tan sólo por una capa delgada de tejido conectivo, la estructura entera puede ser dañada fácilmente por el manejo y la autólisis es muy rápida. Es por esto que estudios clásicos de la estructura y la función del órgano intacto son virtualmente imposible (Dall y Moriarty, 1983).

Aparentemente existe una vasta información acerca de este órgano, sin embargo muchas preguntas fundamentales acerca de su estructura y función aún están sin respuesta o están sujetas a discusión (Gibson y Barker, 1979).

Antecedentes

Existe diversa información que relaciona las capacidades de adaptación que permite a los crustáceos moverse dentro y fuera del agua. Los estudios iniciales se enfocaron sobre las adaptaciones morfológicas de las branquias (Gray, 1957; Bliss, 1968). Posteriormente se investigaron las adaptaciones respiratorias durante la exposición aérea (emersión) (Truchot, 1990; Johnson y Uglow, 1985; Taylor y Weathly, 1989; Batterton y Cameron, 1978) y su efecto en el balance ácido-base (Varley Greenaway, 1992; McMahon y Burnett, 1990). En relación a las adaptaciones respiratorias de los crustáceos consecuencia de la emersión, De Fur (1988) concluye que existe una amplia gama de respuestas especie-específicas que se encuentran íntimamente relacionadas con las condiciones particulares de la emersión de acuerdo a las siguientes posibilidades: modificaciones en la ventilación (vgr. *Calinectes sapidus*), adaptaciones morfológicas (vgr. *Serarma reticulatum*) y cambios en la toma de oxígeno (vgr. *Carcinus maenas*).

Luquet *et al.* (2000, 1995) han realizado diversos estudios histológicos de branquias de *Chasmagnathus granulatus* y *Uga uruguayensis* concluyendo que existen adaptaciones morfológicas en los tejidos que permiten a este cangrejo sobrevivir periodos de emersión. Luquet *et al.* (2000) reportan que al someter al cangrejo a 4 h de emersión el pH de hemolinfa tiene una caída significativa a los 15 min de emersión para posteriormente compensar a valores alrededor de 7.68. Rebelo *et al.* (2000), hacen estudios histopatológicos en branquias de *Chasmagnathus granulatus* expuesto a altos niveles de amonio donde observan daños en las branquias que afecta el intercambio gaseoso.

Sobre transporte en vivo de langosta se han realizado diversos estudios en varias especies. Vijayakumaran *et al.* (1997) realizan un trabajo acerca de la pesquería y del proceso del transporte en vivo de langostas espinosas, haciendo un análisis de la mortalidad y de las tallas comúnmente transportadas, haciendo énfasis en que el éxito de transportar a la langosta viva ha propiciado que la talla de captura de la langosta sea

menor. Por otra parte Taylor *et al* (1997), hacen estudios fisiológicos en relación al estrés causado por el transporte en vivo de langosta, específicamente monitorea y cuantifica el estrés ocasionado por el continuo coleteo, la excreción y acumulación de amonio, la temperatura y el tiempo de exposición aérea. Respecto a este último punto, mencionan que la baja difusión de gases en las branquias es responsable de la elevación de dióxido de carbono en la sangre y de acidosis progresiva. En *Jasus edwardsii* se ha estudiado el efecto de la temperatura y de la emersión en el metabolismo respiratorio mediante la simulación de transporte en vivo (Morris y Oliver 1999), y en esta misma especie Taylor y Waldron (1997) encuentran que al inicio de la emersión el intercambio gaseoso se ve perjudicado, sin embargo existe un aumento en la toma de oxígeno durante extensos periodos de exposición aérea posiblemente relacionado a un incremento en el área de superficie y por lo tanto en la difusión de las branquias y reportan que durante la emersión el pH de la hemolinfa se vuelve progresivamente más ácida con un valor medio de 7.62 después de 5 h y de 7.54 después de 8 h.

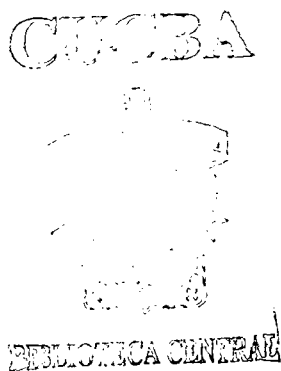
Stillman y Somero (1996) realizaron un estudio de adaptación a temperaturas estresantes y exposición aérea con dos especies de cangrejo del género *Petrolisthes*, haciendo una correlación de su fisiología, bioquímica y morfología con su distribución vertical en la zona intermareal. En cuanto a la morfología encontraron que una de las especies posee una membrana en las patas que son estructuras respiratorias las cuales son utilizadas en situaciones de alta demanda metabólica durante la emersión, es decir una estructura adaptativa a largos periodos de emersión.

Astall *et al.*, (1997) hacen un estudio comparativo en la morfología, área y ultraestructura de branquias de algunos camarones de lodo (Thalassinidea) que generalmente se entierran y se exponen a periodos de hipoxia. Ellos encontraron que las especies que se enfrentan a mayores periodos de hipoxia tienen el área branquial notoriamente más grande debido a un aplanamiento de los filamentos de la branquia tricobranquiada dando lugar a una forma pilosa, aparte de un adelgazamiento de la cutícula acortando la distancia de difusión entre el agua y la hemolinfa. Sugieren que a

esto se debe la eficiencia en la transferencia de gas y por lo tanto de la capacidad de difusión durante largos periodos de hipoxia.

De Fur *et al.* (1988) sugiere que el colapso de las branquias puede causar un incremento en la resistencia al flujo de la hemolinfa a través de la estructura respiratoria. Estudios de las branquias de *Callinectes sapidus* mostraron que las lamelas se adhieren por succión cuando la ventilación cesa. Sin ventilación el espacio interlamelar se vuelve espacio muerto y limita el intercambio gaseoso. Johnson y Uglow (1985) observaron que las lamelas de *Carcinus maenas* poseen ciertas estructuras interlamelares que les dan firmeza y previenen su colapso durante la emersión.

Estudios acerca del hepatopáncreas son escasos, donde la mayoría se basan en descripciones morfológicas y de función; sin embargo ninguno hace estudios relacionados al estrés. Gibson y Barker (1979), hacen un estudio completo del hepatopáncreas en decápodos incluyendo morfología, citología y fisiología del órgano, haciendo una amplia revisión bibliográfica al respecto. Heffington (1967), hace un estudio ultraestructural del hepatopáncreas de *Procambarus clarkii*, enfocándose en la función de los tipos celulares que se encuentran en este órgano; por otra parte, Stainer *et al.* (1966), realiza un estudio similar en *Carcinus maenas* utilizando técnicas de microscopía electrónica, de fases y de luz, haciendo también un estudio de la función de los tipos celulares.



Justificación

En Baja California Sur se lleva a cabo la mayor producción de langosta roja, *P. interruptus*. Tan sólo en 1999 la producción fue de 1,047 ton (SEPESCA, 2000). La langosta roja es muy apreciada por su volumen de captura y las divisas que genera, además ha demostrado gran resistencia al transporte en vivo por lo que ha logrado entrar en este mercado siendo uno de los productos de exportación más importantes. En presentación viva se ha comercializado de \$15 a 22 dólares norteamericanos el kg y en presentación de cola de \$8 a 12 dólares norteamericanos por kg. Esto ha propiciado que la actividad del transporte en vivo se halla incrementado en los últimos años (Vega *et al.*, 1996).

En Baja California Sur el total de la langosta capturada es transportada viva independientemente de su destino final. en la explotación de este recurso participa exclusivamente el sector conformado por las distintas cooperativas. En Baja California Sur existen 23 cooperativas. La problemática a la que se enfrentan estas cooperativas es que existe sólo una carretera que las comunica con la capital del estado, lo que provoca que el traslado de las langostas hacia la empresa que funge como canal de comercialización sea más tardado, lo que incrementa el tiempo en que las langostas están expuestas al aire y lo que puede provocar un deterioro en la calidad del producto que entregan (Vega *et al.*, 1996).

La localización geográfica de Baja California Sur, ha propiciado que las condiciones medioambientales del estado sean muy particulares existiendo una variación de temperatura del agua de mar que en promedio va desde 18 a 27 °C a lo largo de la temporada de captura, por lo que las condiciones en que las langostas son capturadas son diferentes a lo largo del año (Vargas, 1999).

En otras especies de langostas existen evidencias de daños fisiológicos como consecuencia del estrés (Taylor y Waldron, 1997; Taylor y Whiteley 1989). Estos daños están relacionados con el colapso de branquias y acidosis en hemolinfa, sin embargo no

existen estudios que involucren al hepatopáncreas como un indicador de estrés. El objetivo de esta investigación es conocer los cambios que se presentan en la morfología de las branquias y del hepatopáncreas en *Panulirus interruptus* cuando es sometida a diferentes tiempos de emersión aclimatada a dos temperaturas. La información obtenida servirá para entender las posibles adaptaciones morfológicas y las posibles especializaciones estructurales que le permiten a la langosta roja sobrevivir largos periodos de emersión.

Objetivo

Objetivo general

Evaluar la morfología de branquias y hepatopáncreas de la langosta roja, *Panulirus interruptus*, expuesta a cuatro tiempos de emersión y a dos temperaturas.

Objetivos Particulares

- Determinar el número y el área de los hemocitos encontrados en hepatopáncreas de la langosta *Panulirus interruptus* después de ser expuesta a cuatro tiempos de emersión a dos temperaturas.
- Determinar el área de las lamelas branquiales de la langosta *Panulirus interruptus* después de ser expuesta a cuatro tiempos de emersión a dos temperaturas.
- Determinar el pH de hemolinfa de langosta *Panulirus interruptus* después de ser expuesta a cuatro tiempos de emersión a dos temperaturas.

Hipótesis de trabajo

H₀: No existen diferencias en la cantidad y área de los hemocitos en el hepatopáncreas, en el área de las lamelas branquiales, y en el pH de la langosta *Panulirus interruptus* después de ser sometida a cuatro tiempos de emersión a dos temperaturas.

H_a: Existen diferencias en la cantidad y área de los hemocitos en el hepatopáncreas, en el área de las lamelas branquiales, y en el pH de la langosta *Panulirus interruptus* después de ser sometida a cuatro tiempos de emersión a dos temperaturas

Metodología

1. Colecta de organismos experimentales

Se colectaron 50 langostas rojas *Panulirus interruptus* provenientes de la comunidad El Conejo, que se localiza en la costa del Pacífico a 28° 30' latitud norte y 115° 30' longitud oeste en Baja California Sur, de aproximadamente 600 g de peso cada uno, de ambos sexos y de talla comercial y se transportaron vivas al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR).

2. Mantenimiento de los organismos experimentales

Las langostas permanecieron en una tina ovalada de fibra de vidrio con una capacidad de 1,000 L que se llenó con agua de mar a 38 ppmii en flujo continuo y aereación constante. A lo largo de la tina se les colocaron refugios. Se realizaron mantenimientos diarios que consistían en retirarles el alimento no ingerido y las heces a través de sifoneo. Se alimentaban *ad libitum* una vez al día con calamar picado.

3. Pruebas preliminares

Se realizaron una serie de experimentos para probar el medio de preservación para histología y la concentración que se debería de usar en el experimento, se probó con 100, 80, 70 y 60% de fijador, obteniendo la mejor preservación con el 100% de fijador. El fijador que se utilizó fue Davidson's AFA que de acuerdo con Bell y Lightner (1988) es el fijador que mejores resultados ha dado en la preservación de muestras de crustáceos decápodos especialmente camarón. En el laboratorio de histología e histoquímica del CIBNOR, se ha utilizado este fijador en diversos organismos así como jaiba, langosta de agua dulce, *Artemia* y camarón.

4. Aclimatación a la temperatura experimental

Después de que las langostas pasaron el periodo de acondicionamiento, se aclimataron por 24 h a la temperatura experimental.

Se seleccionaron dos temperaturas experimentales:

- 1) $T_1 = 26 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.5$, que corresponde a la temperatura del agua al inicio de la temporada de captura.
- 2) $T_2 = 20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.5$, que corresponde a la temperatura del agua a la mitad de la temporada de captura.

T_1 se mantuvo con un calentador sumergible de 500 watts, mientras que para T_2 se utilizó aire acondicionado. Durante este periodo se les retiraron los refugios y el alimento no ingerido y se mantuvo a las langostas en inanición.

5. Tiempos de emersión experimentales

Se seleccionaron periodos de 3, 6, 12 y 24 h que corresponden a 4 tiempos experimentales donde las langostas permanecen fuera del agua (emersión).

6. Trabajo experimental

Los experimentos (20 y 26 °C) se realizaron con 15 días de diferencia para cada temperatura. Iniciaron a la misma hora del día (9 am) para evitar variación debido al ritmo circadiano. Se bajó el nivel de la tina para facilitar el manejo de las langostas y se colocaron 32 langostas al azar en grupos de ocho en cuatro hieleras de poliuretano para posteriormente ser cubiertas con aserrín. Se les colocó un registrador de temperatura y humedad relativa (HOBO Pro Series RH/TEMP modelo BC3.6-DL) y hielo seco en gel para mantener la temperatura en la hielera. Finalmente las hieleras se sellaron con cinta canela. Cada una de las hieleras representó un tiempo de emersión.

A tres langostas elegidas al azar que se mantuvieron en flujo continuo, en agua de mar a 38 ppmil, aireación constante y que no fueron expuestas a emersión se les realizaron los mismos análisis (pre-emersión).

7. Medición del pH

Pasado el tiempo de emersión, de cada hielera se seleccionaron tres langostas al azar. Se registró peso, sexo y características morfológicas de importancia. Se tomaron 3 ml de hemolinfa de la región pericárdica con una jeringa hipodérmica usando agua

deionizada enfriada como anticoagulante e inmediatamente después se registró el pH con un pHímetro previamente calibrado (Lazar Research Lab. Inc. Modelo MP-12).

8. Análisis histológico

Las langostas se disecaron para tomar muestras de branquias y hepatopáncreas. Las muestras se fijaron en solución Davidson (Bell y Lightner, 1988), donde permanecieron por un periodo no mayor a 48 h. Posteriormente pasaron a la fase de deshidratación que consta en su inmersión en una serie de alcoholes de graduación ascendente, una vez deshidratadas, se incluyeron las muestras en PARAPLAST en un centro de inclusión (Leica) y se hicieron cortes longitudinales y transversales de 5 micras con ayuda de un microtomo (Leica RM 2025). Estos cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina y los tejidos se montaron en resina sintética.

Los cortes histológicos fueron analizados con ayuda de un software para análisis de imágenes (Image Pro Plus) que permitió tomar imágenes digitales de los cortes y se obtuvieron las siguientes medidas:

- En hepatopáncreas, se hizo un conteo de los hemocitos y se midió el área (μ^2) y el diámetro (μ) de los mismos y se obtuvieron las características morfológicas para evidenciar posibles daños.
- En branquias, se midió el área de las lamelas branquiales (μ^2) y se observaron las características morfológicas para evidenciar posibles daños.

9. Análisis estadístico

A los datos se les aplicaron pruebas de normalidad y homocedasticidad de varianzas. Se realizó una ANOVA de 2 vías con dos efectos fijos (emersión y temperatura). Para detectar las diferencias significativas se corrió una prueba de honestidad de Tukey con nivel de significancia de 0.05. Estos análisis se realizaron con el programa Statistica/Windows.

Resultados

Supervivencia

Se obtuvo el 100% de supervivencia en ambas temperaturas y todos los tiempos de emersión.

Potencial hidrógeno, pH

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en la medición del pH en hemolinfa. A 20 °C el pH varió de 7.34 a 7.97. A 26 °C el pH osciló entre 7.37 y 7.66. El tiempo de emersión tiene un efecto significativo en el pH ($P < 0.05$), en donde a 20 °C el pH aumenta significativamente a las 24 h de emersión. Sin embargo la temperatura no tuvo un efecto significativo en el pH ($P > 0.05$).

Tabla 1. Variación del pH en hemolinfa (media \pm desviación estándar) en *P. interruptus* expuesta a 4 tiempos de emersión y dos temperaturas. N=3

Temperatura (°C)	Tiempo de emersión (h)	pH	Grupos Homogéneos
20	Pre-emersión	7.54 \pm 0.33	
20	3	7.34 \pm 0.31	A
20	6	7.32 \pm 0.15	A
20	12	7.46 \pm 0.10	AB
20	24	7.97 \pm 0.20	B
26	Pre-emersión	7.69 \pm 0.13	
26	3	7.37 \pm 0.14	A
26	6	7.52 \pm 0.12	AB
26	12	7.42 \pm 0.12	A
26	24	7.66 \pm 0.23	AB

CUBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Branquias

En la tabla 2 se muestran la media y la desviación estándar del área (μ^2) y del perímetro (μ) de las lamelas branquiales en todos los tiempos de emersión y en ambas temperaturas experimentales.

El tiempo de emersión y la temperatura tuvieron efecto significativo en el perímetro de las lamelas branquiales ($P < 0.05$), en donde la tendencia fue que a medida que el tiempo de emersión aumentó, el perímetro de las lamelas branquiales disminuyó significativamente. La temperatura tiene un efecto contrario sobre el perímetro de las lamelas branquiales ya que al aumentar la temperatura el perímetro tiende a incrementarse significativamente ($P < 0.05$).

Tabla 2. Variación en el área y en el perímetro (media \pm desviación estándar) de las lamelas branquiales en *P. interruptus* expuesta a 4 tiempos de emersión y dos temperaturas. N=3

Temp (°C)	Tiempo de emersión (h)	Perímetro de las lamelas branquiales (μ)	Grupos Homog	Área de las lamelas branquiales (μ^2)	Grupos Homog
20	Pre-emersión	569.04 \pm 27.77		19 657.97 \pm 1 798.38	
20	3	625.85 \pm 57.83	C	20 696.71 \pm 4 001.90	BCD
20	6	506.49 \pm 115.09	B	15 786.47 \pm 6 802.75	B
20	12	620.28 \pm 144.89	C	18 761.68 \pm 7 444.08	BC
20	24	332.78 \pm 15.26	A	4 493.55 \pm 797.51	A
26	Pre-emersión	591.53 \pm 51.11		22 536.99 \pm 3 724.08	
26	3	601.86 \pm 92.21	C	23 844.88 \pm 7884.12	D
26	6	508.57 \pm 114.84	B	17 204.91 \pm 7 278.89	B
26	12	600.25 \pm 113.72	C	22 253.30 \pm 6 524.38	CD
26	24	511.44 \pm 136.58	B	16 520.13 \pm 7 663.41	B

El área de las lamelas branquiales fue afectada por ambos factores (temperatura y emersión). A medida que el tiempo de emersión aumenta el área de las lamelas branquiales disminuye significativamente ($P < 0.05$). Respecto a la temperatura se observó un incremento significativo en el área de las lamelas branquiales con incrementos en la temperatura ($P < 0.05$) (Figura 1).

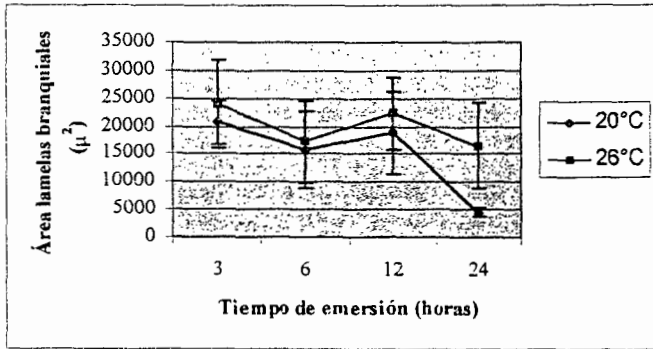


Figura 1. Variación en el área (media \pm desviación estándar) de las lamelas branquiales en *P. interruptus* expuesta a 4 tiempos de emersión y dos temperaturas

Hepatopáncreas

En la tabla 3 se muestran la media y la desviación estándar del área (μ^2) y del perímetro (μ) de los hemocitos encontrados en hepatopáncreas en todos los tiempos de emersión y en ambas temperaturas experimentales.

Tabla 3. Variación en el perímetro (μ), área (μ^2) y diámetro (μ) (media \pm desviación estándar) de hemocitos de hepatopáncreas de *P. interruptus* expuesta a 4 tiempos de emersión y dos temperaturas. N=3.

Temp. (°C)	Emersión (h)	Perímetro hemocito (μ)	Grupos Hemo	Área hemocito (μ^2)	Grupos Hemo	Φ hemocito (μ)	Grupos Hemo
20	Pre-emersión	84.22 ± 32.25		451.67 ± 176.22		15.04 ± 3.09	
20	3	45.30 ± 9.10	A	141.88 ± 58.93	A	6.60 ± 1.32	A
20	6	70.12 ± 11.39	D	336.42 ± 101.81	D	7.20 ± 1.67	D
20	12	49.34 ± 10.81	AB	170.27 ± 69.11	AB	7.68 ± 1.55	AB
20	24	52.28 ± 9.91	B	192.10 ± 71.39	AB	7.96 ± 1.47	B
26	Pre-emersión	54.96 ± 8.40		213.50 ± 63.35		8.15 ± 1.27	
26	3	62.58 ± 10.72	C	274.76 ± 94.94	C	9.21 ± 1.61	C
26	6	68.49 ± 10.02	D	326.76 ± 97.19	D	9.93 ± 1.49	D
26	12	67.84 ± 16.12	D	327.00 ± 157.26	D	10.10 ± 2.35	D
26	24	54.13 ± 12.31	B	205.73 ± 75.22	B	10.21 ± 1.44	B

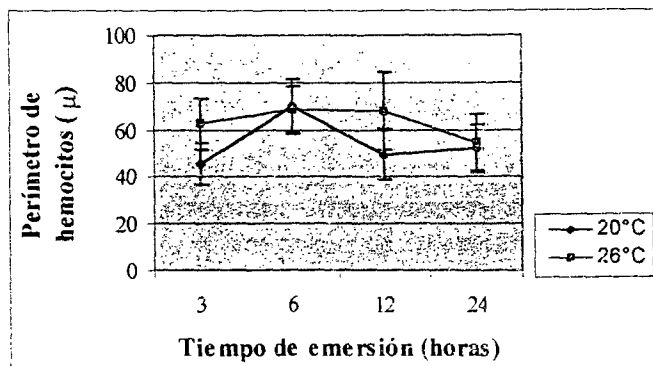


Figura 2. Variación en el perimetro (media \pm desviación estándar) de hemocitos de hepatopáncreas en *P. interruptus* expuesta a 4 tiempos de emersión y dos temperaturas. N=3

De manera similar el área de los hemocitos se ve afectada por el tiempo de emersión y la temperatura ($P < 0.05$). Al aumentar la temperatura el área de los hemocitos tiende a aumentar, sin embargo la tendencia por efecto de emersión no es clara (Figura 3).

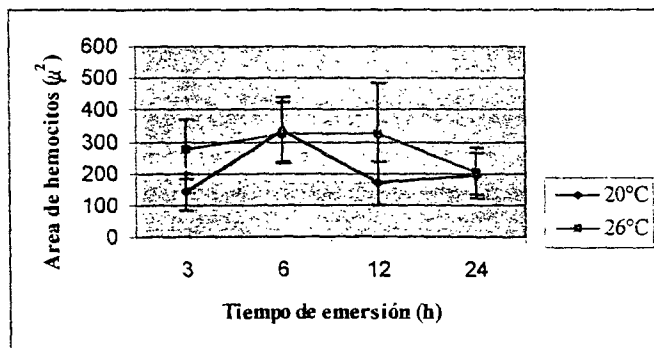


Figura 3. Variación del área de los hemocitos (media \pm desviación estándar) de *P. interruptus* expuesta a 4 tiempos de emersión y dos temperaturas. N=3.

En relación al diámetro de los hemocitos se encontró que existe un efecto debido al tiempo de emersión ($P < 0.05$). El diámetro de los hemocitos tiende a aumentar con incrementos en la temperatura ($P < 0.05$) (Figura 4).

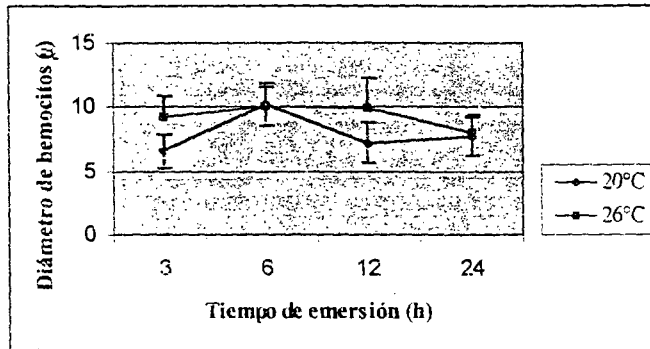


Figura 4. Variación en el diámetro de los hemocitos (media \pm desviación estándar) de *P. interruptus* expuesta a 4 tiempos de emersión y a dos temperaturas. N=3.

Ambos factores (temperatura y emersión) tuvieron efecto sobre el número de hemocitos ya que a medida que el tiempo de emersión aumentó el número de los hemocitos tiende a disminuir ($P < 0.05$). Sin embargo cuando se aumentó la temperatura el número de hemocitos aumentó significativamente ($p < 0.05$) (Figura 5).

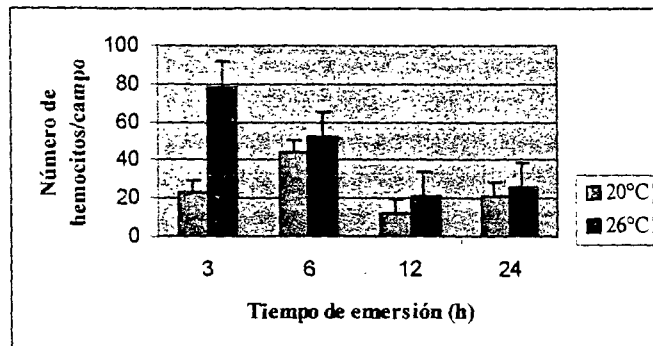


Figura 5. Variación del número de hemocitos/campo (media \pm desviación estándar) de *P. interruptus* expuesta a 4 tiempos de emersión y a dos temperaturas. N=3. *Diferencia significativa ($P < 0.05$). 1 campo equivale a $79,027 \mu^2$

Histología.

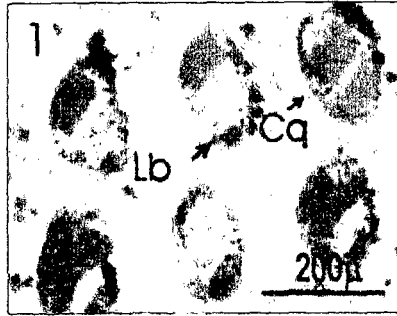
Los datos anteriores representan los resultados cuantitativos, pero una parte muy importante del trabajo fueron los resultados que se obtuvieron de las observaciones realizadas a los cortes histológicos.

En la figura 6 se presentan imágenes digitalizadas de las lamelas branquiales a 20 °C en donde se puede observar señales de deshidratación como es el desprendimiento de la capa de quitina que recubre a la lamela branquial y que a su vez le da rigidez, esto es notorio sobre todo en el primer tratamiento a 20 °C. Se puede observar que las lamelas branquiales se van recuperando a medida que el tiempo de emersión aumenta, ya que no se presenta de nuevo este desprendimiento de la capa de quitina. Sin embargo se nota una deformación en la estructura de las lamelas conforme el tiempo de emersión se incrementa.

A 26 °C (figura 7), la deshidratación de las lamelas branquiales también es notorio puesto que en todos los tiempos de emersión se observa ese desprendimiento de la capa de quitina, sin embargo, la integridad de las lamelas branquiales se conserva más que a 20 °C excepto a las 24 horas de emersión, donde las lamelas branquiales han perdido su forma.

En la figura 7 y 8 se presentan imágenes digitalizadas obtenidas de hepatopáncreas para 20 y 26 °C respectivamente. En éstas se puede notar como la estructura de los túbulos hepatopancreáticos se ve afectada gradualmente conforme el tiempo de emersión aumenta, además es notorio un incremento en el espacio entre los túbulos hepatopancreáticos, siendo ocupado por abundantes fluidos infiltrándose en el tejido conectivo intertubular. En estos fluidos se observaron abundantes hemocitos inmersos.

La deformación de los túbulos hepatopancreáticos no solo se ve influida por el tiempo de emersión sino también por la temperatura, ya que estas alteraciones de los



C. A.



BIBLIOTECA CENTRAL

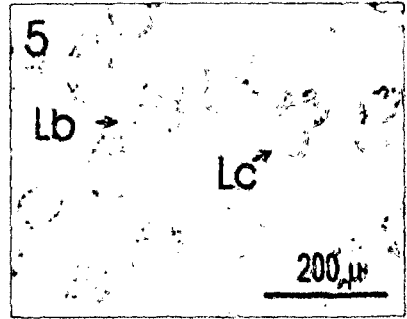
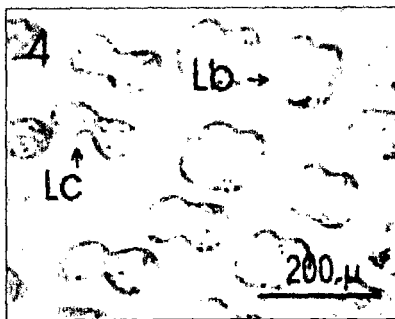
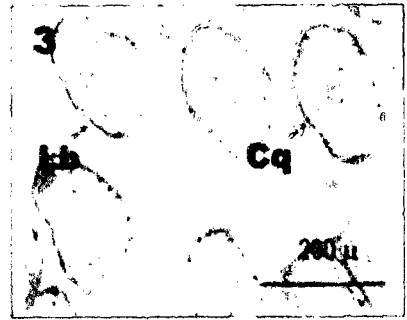
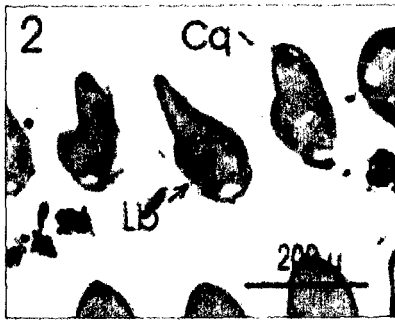


Figura 6. Cortes longitudinales de branquias (10x) de *P. interruptus* expuesta a emersión a 20°C. 1) pre-emersión 2) 3 h de emersión 3) 6 h de emersión 4) 12 h de emersión 5) 24 h de emersión. Lamela branquial (Lb), lamela colapsada (Lc), capa de quitina (Cq).

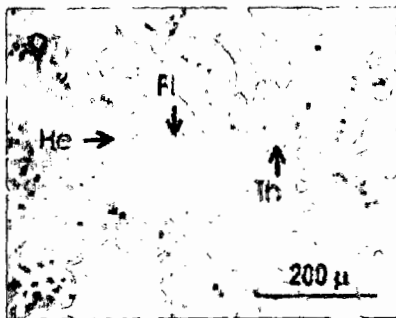
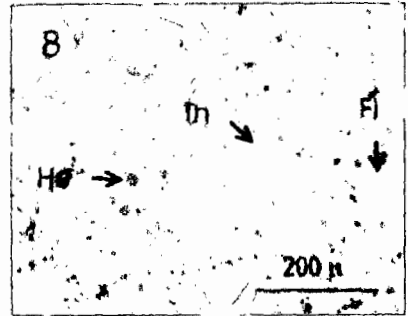
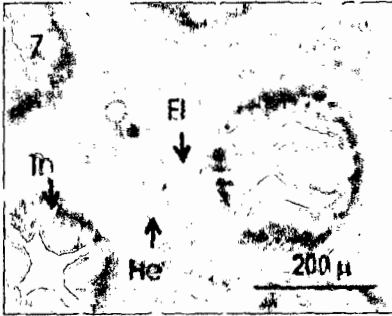
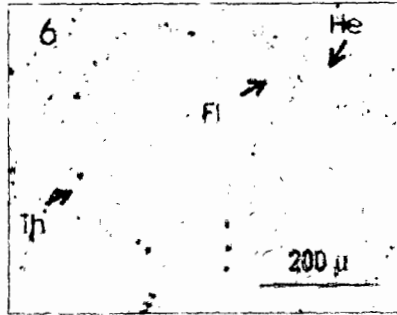


Figura 9. Cortes longitudinales de hepatopáncreas (10x) *P. interruptus* expuesta a emersión a 26°C. 1) pre-emersión 2) 3 h de emersión 3) 6 h de emersión 4) 12 h de emersión 5) 24 h de emersión. Túbulo hepatopancreático (Th), hemocito (He), tejido conectivo (Tc), fluido (FI).

Discusión

Supervivencia

En ambos experimentos se obtuvo una supervivencia del 100%. Esto indica que *Panulirus interruptus* posee algunos mecanismos que le permiten sobrevivir por lo menos 24 h. fuera de su medio natural. En ninguno de los tratamientos las langostas mostraron signos de debilidad. Cuando las hieleras se destaparon se encontró que algunas langostas estaban volteadas y ya no estaban cubiertas de aserrín, lo cual demuestra que tuvieron cierta actividad durante el tiempo de emersión. En particular en el tratamiento que corresponde a 12 h de emersión a 20 °C se observó que la langosta que se iba a diseccionar al ser colocada en la mesa de disección intentó ingerir un trozo de músculo de una langosta anteriormente sacrificada. Esto indica la vitalidad que pueden presentar algunos ejemplares.

Vijayakumaran (1997) reporta que la mortalidad en el transporte en vivo de las langostas *P. ornatus* y *P. hommarus* en India depende del tipo de empaque utilizado y del tiempo de transporte. El reporta mortalidades de $2.60 \pm 2.07\%$ a $5.25 \pm 2.317\%$ entre 18 y 24 h de transporte respectivamente y señala que las muertes se presentaron en organismos de tallas pequeñas debido a empaques inadecuados.

Los resultados del presente trabajo indican que la langosta roja puede soportar largos periodos de emersión al igual que otras especies de langostas espinosas como *P. ornatus* y *P. hommarus*. Se ha reportado que el uso de aserrín en el transporte en vivo de una serie de crustáceos ofrece los mejores resultados (Sugita y Deguchi, 2000; Vijayakumaran *et al.*, 1997; Schwarz, 1995). El uso de aserrín en este trabajo pudo haber contribuido para obtener buenos resultados en términos de supervivencia. Los trabajos posteriores deberán identificar el tiempo máximo de emersión y el tipo de empaque para obtener supervivencias y rendimientos adecuados

OTICBA



Potencial hidrógeno, pH

En diversos trabajos se ha demostrado que tanto organismos intermareales como submareales al ser expuestos a emersión reducen su actividad o sufren una marcada acidosis láctica o respiratoria debido a una baja ventilación y perfusión (Luquet *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 1997; Taylor y Waldron, 1997; Stillman y Somero, 1996; Taylor y Whiteley 1989). Aunque el oxígeno contenido en el aire es mayor al contenido en el agua, no se sabe si los escafognatitos puedan suministrar oxígeno a las branquias bombeando aire. Además, al inicio de la emersión, las branquias retienen una capa delgada de agua que ocasiona que los filamentos se colapsen por tensión superficial. Aunque las langostas son capaces de mover esta mínima cantidad de agua, el bajo coeficiente de difusión de oxígeno en agua limita el intercambio gaseoso (Taylor y Waldron, 1997). Este impedimento de difusión gaseosa en branquias, es responsable de un incremento de dióxido de carbono en sangre y una acidosis respiratoria progresiva. Además el metabolismo se sostiene por un cambio a vías anaerobias lo que ocasiona un incremento en las concentraciones de ácido láctico en sangre y tejido aparte de acidosis metabólica (Taylor *et al.*, 1997).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo para el pH de hemolinfa en *Panulirus interruptus* (Tabla 1), demuestran que existe un efecto debido al tiempo de emersión, sin embargo la diferencia significativa se presenta a 20 °C después de 24 h de emersión, siendo el resto de los tratamientos estadísticamente iguales. Esto puede indicar que *P. interruptus* tiene la capacidad para mantener el equilibrio ácido-base tendiendo a mantener condiciones básicas lo cual no coincide con lo reportado por otros autores en el que el pH en hemolinfa tiende a acidificarse a medida que el tiempo de emersión aumenta.

Luquet *et al* (2000) realizan un estudio similar pero con un cangrejo intermareal, *Chasmagnathus granulata*. Este organismo fue expuesto a 4 h de emersión. Durante los primeros 15 min el pH muestra una caída, después de 60 min, el pH se compensa llegando a valores similares al control a los 240 min. Estos autores sugieren que esto es

posible a través de un incremento en la diferencia en las concentraciones de Na y Cl por medio de intercambio iónico en branquias, además de que estos organismos poseen la capacidad de almacenar y recircular agua dentro de la cámara branquial que les ayuda a lidiar con esta acidosis.

Estudios previos sobre exposición aérea en *Panulirus argus* (Vermeer, citado en Taylor & Waldron, 1997), *Homarus gammarus* (Taylor y Whiteley 1989) y en *Jasus edwardsii* (Taylor y Waldron, 1997) sugieren que a pesar del diseño similar tricobranqueado de las branquias, estas langostas pueden diferir en su habilidad de enfrentarse con la acidosis asociada a la emersión.

Jasus edwardsii muestra una capacidad de compensar la acidosis durante 8 h de emersión a 17 °C. Durante las primeras 4 h una adición de bases (bicarbonatos) en la hemolinfa superó las concentraciones de ácido láctico. Lo que llevó a un exceso de bases, esto compensó la acidosis respiratoria y el pH se mantuvo aproximadamente constante con una media de 7.54 ± 0.03 . Después de 4 h de emersión la capacidad de compensar la acidosis de la langosta se agotó y el pH bajó a valores de 7.34 ± 0.03 (Taylor y Waldron, 1997). Una mayor capacidad para compensar la acidosis la muestra *Homarus gammarus* (Taylor y Whiteley 1989), donde esta langosta a 15 °C durante emersión presentó un decremento en el pH de hemolinfa pero fue capaz de mantenerlo estable por lo menos 14 h con un incremento en bicarbonatos, lo que le permitió mantener esta estabilidad. Por otra parte *Panulirus argus* no mostró esta habilidad ya que el pH cayó más de 0.5 unidades en tan sólo 2 h entre 22-30 °C. La capacidad para compensar la acidosis asociada a la emersión varía ampliamente entre especies y con la temperatura (Taylor *et al.*, 1997). Con el presente estudio, se puede asumir que *Panulirus interruptus* muestra una capacidad para compensar la acidosis que puede ser similar a la reportada para *Jasus edwardsii* y *Homarus gammarus*, sin embargo, en ésta especie no se encontró efecto debido a la temperatura de aclimatación previa a la emersión. Futuras investigaciones deberán incorporar estudios del balance en el equilibrio hídrico-iónico y gaseoso en hemolinfa de la langosta roja para poder entender mejor este mecanismo. Es importante considerar el efecto debido a las variaciones

registradas en la temperatura durante el periodo de emersión para poder asociarlos a los posibles cambios bioquímicos y metabólicos que experimenta la langosta roja consecuencia de la emersión. Los cambios en la bioquímica metabólica están afectados por el estadio de muda y otros factores como sexo, estado nutricional, densidad, lesiones, pérdida de miembros, enfermedades, entre otros por lo que es importante incrementar el tamaño de muestra y considerar estos factores en el futuro (Dall y Smith, 1977; Gracia y Kensler, 1980).

Branquias

La respiración y en general el intercambio gaseoso en los crustáceos decápodos está altamente limitado en el aire lo que causa hipoventilación, una capacidad limitada de difusión del tejido branquial, una perfusión limitada de las branquias o el colapso y la desecación de las lamelas branquiales debido a la exposición aérea (Schwarz, 1995).

Cuando las langostas son expuestas al aire, el consumo de oxígeno disminuye a pesar que su tasa de ventilación se ve incrementada al doble y a que el contenido de oxígeno es aproximadamente 35 veces mayor en el aire que en el agua. La caída en el consumo de oxígeno se debe a que la difusión en las branquias se ve perjudicada ya que el agua adherida a las branquias provoca que éstas se colapsen constituyendo una barrera impenetrable a la difusión del oxígeno, ya que se presenta una reducción del área de superficie branquial. (Taylor *et al.*, 1997). Este colapsamiento de las branquias asociada a la emersión y a otros agentes estresantes como amonio, ha sido reportado por diversos autores. (Luquet *et al.* 2000, 1995; Rebelo, 2000; Taylor *et al.*, 1997; Taylor & Waldron, 1997).

Luquet *et al.*, 2000 y Taylor y Waldron, 1997; reportan que durante una exposición aérea prolongada, el consumo de oxígeno se incrementa significativamente. Este incremento en el consumo de oxígeno sugiere que a medida que el tiempo de emersión aumenta, las branquias se van secando progresivamente, desapareciendo la capa

de agua que provoca el colapsamiento. Gracias a esto se incrementa el área de superficie branquial y por consiguiente aumenta la capacidad de difusión.

Sin embargo los resultados reportados en el presente trabajo no coinciden con los anteriormente citados, ya que la tendencia que siguen tanto el área como el perímetro de las lamelas branquiales es a disminuir conforme el tiempo de emersión aumenta, es decir, hay evidencia de colapsamiento conforme el tiempo de emersión es mayor. Estos resultados se corroboran con las imágenes digitalizadas que se obtuvieron ya que éstas nos muestran que la deshidratación se presenta a las 3 horas de emersión, evidenciado por el desprendimiento de quitina que recubre la lamela branquial, pero no muestra signos de colapsamiento. Además se nota una aparente recuperación, ya que en los siguientes tratamientos no se observa este desprendimiento. Sin embargo, es hasta las 24 horas de emersión donde las lamelas branquiales pierden su integridad, es decir, se colapsan lo que coincide con la disminución significativa del área y del perímetro de las lamelas branquiales.

Al comparar los experimentos se encontraron diferencias significativas, lo que nos indica un efecto debido a la temperatura, en donde tanto el área como el perímetro tienden a aumentar ligeramente a 26 °C, esta puede ser la razón por la cual en las imágenes digitalizadas de la Figura 6 es notable que las lamelas no pierden su integridad a lo largo del experimento hasta las 24 h, debido probablemente a que el incremento en la superficie branquial, propició un incremento en la difusión de las branquias impidiendo que las lamelas perdieran su integridad.

La aparente recuperación que presentan las lamelas branquiales a la deshidratación nos hace pensar que *P. interruptus* posee ciertos mecanismos que responden ante la falta de agua impidiendo la deshidratación de mismas y probablemente poseer estructuras o modificaciones morfológicas que impidan su colapsamiento.

Existen trabajos que se han realizado con organismos intermareales donde se estudian las adaptaciones que les permiten a estos organismos moverse libremente dentro y fuera del agua (Luquet *et al.*, 2000; 1995, Stillman & Somero, 1996), entre las diversas adaptaciones que presentan estos organismos Luquet *et al.*, 2000 señala que las adaptaciones respiratorias que permiten al cangrejo estuarino *Chasmagnathus granulata* vivir en ambientes intermareales consisten en un tamaño relativamente grande de las branquias con pequeñas estructuras de refuerzo para evitar el colapsamiento, además de la habilidad de almacenar y recircular grandes cantidades de agua dentro de la cámara branquial, manteniendo así hidratadas las branquias permitiendo el intercambio gaseoso, por varias horas. Por otra parte Luquet *et al.*, 2000, mencionan que *C. granulata* posee otras adaptaciones morfológicas en las branquias tales como un epitelio que rodea los canales marginales de las branquias, el cual probablemente juega un papel importante durante la respiración aérea, cuando la reserva de agua en las branquias se reduce por evaporación y las branquias se colapsan impidiendo tanto la ventilación como la perfusión de las lamelas. Sin embargo, también posee la habilidad de mantener sus cámaras branquiales casi completamente llenas de agua, manteniendo las branquias funcionales en lugar de poseer un soporte mecánico.

Para corroborar que *P. interruptus* posee adaptaciones similares a las que poseen organismos intermareales sería necesario hacer un estudio más detallado tanto histológico, hisotoquímico y fisiológico de las branquias. Se requiere establecer la cantidad y la composición del agua de la cámara branquial para entender mejor el papel que juega ésta durante los periodos de emersión tanto para la respiración como para la excreción de compuestos nitrogenados.

Hepatopáncreas

El hepatopáncreas es un órgano vital en los crustáceos que se involucra en múltiples actividades metabólicas; es el principal responsable de la síntesis y secreción de enzimas digestivas y la consecuente toma de nutrientes, se involucra en la excreción,

en el ciclo de muda, en el almacenamiento de reservas inorgánicas y en el metabolismo de lípidos y carbohidratos (Gibson & Barker, 1979).

El hepatopáncreas es un órgano blanco que se ve afectado de manera más acentuada por los factores estresantes aplicados en este trabajo (temperatura y emersión) ya que los daños morfológicos encontradas fueron mayores que en las branquias (figuras 7 y 8).

Al ser un órgano con múltiples funciones su requerimiento energético es muy alto, por lo que una gran cantidad de oxígeno debe de hacerse llegar a este órgano. Un incremento en el número de hemocitos, significaría una alta demanda de oxígeno, ya que estos son células sanguíneas especializadas en el acarreamiento de este gas; también pueden evidenciar estrés en el organismo ya que implica un aumento en la tasa metabólica. Es bien sabido que en organismos poiquiloterms, la tasa metabólica aumenta o disminuye dependiendo de la temperatura ambiental (Díaz, 1988).

Es posible que debido a esto, el número de hemocitos en hepatopáncreas aumenta a 26 °C. Sin embargo conforme el tiempo de emersión aumenta, el número de hemocitos disminuye significativamente debido a la falta de entrada de oxígeno por medio de las branquias.

La histología del hepatopáncreas de la langosta coincide con la histología descrita para otras especies de decápodos marinos como el camarón, presentando las mismas estructuras anatómicas y funcionales. Sin embargo es importante señalar que la talla de los hemocitos es mayor que en otros decápodos como en los peneidos. Debido a esta gran diferencia en el tamaño de los hemocitos, se realizó una técnica de tinción de DNA, Feulgen Picromethyl Blue (FPM) (Farley, 1969), con el fin de tener la certeza de que efectivamente eran hemocitos. Con esta técnica se encontró que los hemocitos presentaban severos daños a consecuencia del estrés, ya que el núcleo de éstos se encontraba excéntrico, es decir fuera del centro, lo que indica que la célula estaba a punto de "estallar".

Es interesante resaltar que la falta de integridad de los túbulos hepatopancreáticos y la forma de rompecabezas que adquieren, así como el aumento en el espacio intratubular seguido de la infiltración de fluidos, aumenta conforme el tiempo de emersión es mayor, sin mostrar ninguna evidencia de recuperación en ninguno de los experimentos, por lo que se pueden considerar estos daños irreversibles. Estos daños resultado del estrés fueron más notorios a 26 °C. Esto coincide con trabajos similares anteriormente realizados en este laboratorio, en donde el porcentaje de supervivencia obtenido fue del 75% y las muertes se registraron a 26 °C (Ramírez & Ocampo, 2001). Esta mortandad pudiera ser debida a los daños irreversibles que se presentan en el hepatopáncreas como se señalan en el presente trabajo. El efecto que tuvo la temperatura en el hepatopáncreas no coincide con el de las branquias ya que las branquias muestran mayores daños a 20 °C y el hepatopáncreas a 26 °C. Es importante señalar que el daño tisular provocado por el estrés debido a la emersión y la temperatura en la langosta roja es más evidente en el hepatopáncreas. Esto pudiera indicar que el sistema circulatorio y excretor de la langosta roja tiene mayor plasticidad para enfrentar situaciones de estrés fisiológico que el sistema digestivo y endocrino.

CENIBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Conclusiones

- La temperatura y el tiempo de emersión tienen un efecto significativo en los cambios morfológicos en branquias y hepatopáncreas de *P. interruptus*.
- La langosta es capaz de sobrevivir periodos de emersión de por lo menos 24 h sin daños irreversibles evidentes en branquias probablemente por adaptaciones morfológicas o fisiológicas similares a las que presentan especies intermareales. Sin embargo esta capacidad se pierde en el hepatopáncreas a 26 °C.
- El sistema circulatorio y excretor de la langosta roja tiene mayor plasticidad para enfrentar situaciones de estrés fisiológico que el sistema digestivo y endocrino.
- La langosta roja puede mantener el equilibrio ácido-base en hemolinfa independientemente de la temperatura probablemente por mecanismos de compensación similares a los que presentan crustáceos intermareales.

Glosario

1. **Emersión:** de emerger, salir del agua u otro líquido.
2. **Fijador:** medio de preservación para histología.
3. **Hepatopáncreas:** glándula digestiva de crustáceos decápodos.
4. **Hipoxia:** condiciones muy bajas de oxígeno, por debajo del 30% de saturación de oxígeno.
5. **Lamelas branquiales:** ramificaciones laterales en forma de lámina que se prolongan a partir del eje branquial, por los cuales corre una red de vasos sanguíneos para el transporte de oxígeno.
6. **Túbulos hepatopancráticos:** estructuras que forman el hepatopáncreas y que convergen en dos cámaras simétricas que se abren en la parte pilórica del estómago. Cada túbulo posee una doble capa de células musculares longitudinales y circulares que permiten movimientos peristálticos y de contracción, permitiendo el movimiento de fluidos dentro de estos.

Bibliografía citada

1. Astall, C.A., Anderson, A.C., 1997. Comparative studies of the branhial morphology, gill area and gill ultrastructure of some thalassinidean mud-shrimps (Crustacea: Decapoda: Thalassinidea). *J. Zool., Lond.* 241, 665-688.
2. Batterton, C.V., Cameron, J.N. 1978. Characteristics of resting ventilation and response to hypoxia, hypercapnia, and emersion in the blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun). *J. Exp. Zool.* 203, 403-418
3. Bell, A.T., Lightner D.V. 1988. A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. World Acuaculture Society. Allen Press Inc. USA. 114 pp.
4. Bliss, D.E. 1968. Transition from water to land in decapod crustaceans. *Am. Zool.* 8, 355-392.
5. Briones, F. P., Lozano, A. E. 2000. The Spiny Lobster Fisheries in Mexico. *In* Spiny Lobsters: Fisheries and Culture. Edited by Phillips, B. F., Kitakka, J. 2000. Second Edition. Fishing News Books. London. 673 pp.
6. Brusca, R.C.: Brusca, G. J. 1990. invertebrates. Ed SINAUER. USA. 922 pp.
7. Dall, W., Moriarty, D. J. W. 1983. Functional aspects of nutrition and digestion. *In* The biology of Crustacea. Volume 5: Internal Anatomy and Physiological regulation. Edited by Mantel, L.H.. Editor in Chief Bliss, D. E.. Academic Press. London. 471 pp.
8. Dall, W.; Smith, D. 1977. Water uptake at moulting in the Western Rock Lobster. *In* Phillips, B.F.; Cobb, J.S. (Eds). Workshop on Lobster Ecology and Physiology. Division of Fisheries and Oceanography. Commonwealth Scientific and Industrial Research -Organization. Melbourne: 12-13.
9. DeFur, P.L. 1988. Systemic respiratory adaptations to air exposure in intertidal decapod crustaceans. *Amer. Zool.* 28, 115-124.
10. Díaz, I. E. 1988. aspectos de la Fisiología de Animales acuáticos. Editorial Pueblo y Educación. Cuba. Pp 119
11. Díaz, M.A., Guzmán, S. P. 1995. Hábitos alimentarios de la langosta roja *Panulirus interruptus* (Randall, 1840), en Bahía Tortugas, Baja California Sur. *Ciencias Marinas* 21 (4): 439-462

12. Farley, C.A. 1969. Cancer Institute Monogr. 31:541-555. *In* Howard, D. W.; Smith, C. S. 1983. Histological techniques for Marine Bivalve Mollusks NOAA Technical Memorandum. USA.
13. Gracia, A., Kensler, C.B., 1980. Las langostas de México: su biología y pesquería. Centro de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México 7(2):111-128
14. Gibson, R., Barker, P.L. 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanograf. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 17, 285-346.
15. Gray, I.E. 1957. A comparative study of the gill area of crabs. *Biol. Bull.* 112, 34-42.
16. Guzmán, S. 1992. Taller México-Australia sobre reclutamiento de recursos bentónicos de Baja California. SEPESCA-IPN. México. 202-220 pp.
17. Heffington B. A. 1967. An ultrastructure study of the hepatopancreas of *Procambarus clarkii* (Girard) (Decapoda: Astacidea).
18. Johnson, I. Uglow, R.F. 1985. Some effects of aerial exposure on the respiratory physiology and blood chemistry of *Carcinus maenas* (L.) and *Liocarcinus puber* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 94, 151-165.
19. Kanciruk, P. 1980. Ecology of Juvenile and Adult Palinuridae (Spiny Lobster) *In* The biology and Management of Lobsters Volume II Ecology and Management. Edited by Phillips, B.; Stanley, C. J. Academic Press. London. 390 pp.
20. Lignot, J. H.; Spannings-Pierrot, C. ; Charmantier, G. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191 (2000) 209-245.
21. Lipcius R. N., Egleston, D. B. 2000. Introduction: Ecology and Fishery Biology of Spiny Lobsters. *In* Spiny Lobsters: Fisheries and Culture. Edited by Phillips, B. F., Kitakka, J. 2000. Second Edition. Fishing News Books. London. 673 pp.
22. Luquet, C.M., Cervino, C. O., Ansaldo, M., Carrera, V.P., Kocmur, S., Dezi, R.E. 2000. Physiological response to emersion in the amphibious crab *Chasmagnathus granulata* Dana (DecapodamGrapsidae): biochemical and ventilatory adaptations.

CUCBA



23. Luquet, C.M., Rosa, G. A., Ferrari, C.C., Genovesa, G., Pellerano, G. N. 2000. Gill morphology of the intertidal estuarine Crab *Chasmagnathus granulatus* Dana, 1851 (Decapoda, Grapsidae in relation to habitat and respiratory habits.
24. Luquet, C. M., Pellerano, G. De Carlo, J. 1995. Gill Morphology and terrestrial adaptation in the estuarine Crab *Uga uruguayensis* Nobili, 1901 (Decapoda, Brachyura). *Crustaceana* 68 (7): 882-892.
25. McLaughlin, P.A., 1983. Internal Anatomy. *In* The biology of Crustacea. Volume 5: Internal Anatomy and Physiological regulation. Edited by Mantel, L.H. Editor in Chief Bliss, D. E.. Academic Press. London. 471 pp.
26. McMahon, B.R., Burnet, L.B. 1990. The crustacean open circulatory system: a reexamination. *Physiological Zoology*. 63(1), 35-71.
27. Morris, S., Oliver, S. 1999. Circulatory, respiratory and metabolic response to emersion and low temperature of *Jasus edwardsii*: simulation studies of commercial shipping methods. *Comparative Biochemistry Physiology*. 122, 299-321
28. Morris, S., Oliver, S. 1999. Respiratory gas transport, haemocyanin function and acid-base balance in *Jasus edwardsii* during emersion and chilling: simulation studies of commercial shipping methods. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 122, 299-308.
29. Phillips, B. F., Kittaka, J. 2000. Spiny Lobsters: Fisheries and Culture. Second Edition. Fishing News Books. London. 673 pp.
30. Ramirez, C.; Ocampo, L. 2001. Transporte en vivo de la langosta *Panulirus interruptus*: efecto en el metabolismo respiratorio durante reinmersión. VIII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología del Mar. pags 85-86.
31. Rebelo, M.F., Rodríguez, E. M., Santos, E. A., Ansaldo, M. 2000. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 157-164.
32. Stanier, J. E., Woodhouse, M.A., Griffin, R. L. 1966. The fine structure of hepatopancreas of *Carcinus maenas* (L.) (Decapoda: Brachyura).
33. SEPESCA 2000. Anuario estadístico de Pesca 1999. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y pesca. México. 224 pp.

34. Stillman, J.H., Somero, G.N. 1996. Adaptation to temperature stress and aerial exposure in congeneric species of intertidal porcelain crab (genus *Petrolisthes*): correlation of physiology, biochemistry and morphology with vertical distribution. *The Journal of experimental biology* 199, 1845-1855.
35. Sugita, H., Deguchi, Y. 2000. Shipping. Chapter 35 *In Spiny Lobsters: Fisheries and Culture*. Edited by Phillips, B. F., Kitakka, J. 2000. Second Edition. Fishing News Books. London. 673 pp.
36. Schwarz, A. 1995. Aspects of the physiology of some crustacean species with particular reference to their live marketing. PhD Thesis. University of Hull. 109 pp.
37. Taylor, E.W., Whiteley, N.M. 1989. Oxygen transport and acid-base balance in resubmersion. *J. Exp. Biol.* 144, 417-436.
38. Taylor, H. H., Paterson, B. D., Wong, R. J., Wells, R. M. G. 1997. Physiology and live transport of lobsters: report from a workshop. *Mar. Freshwater Res.*, 48, 817-822.
39. Taylor H. H., Waldron, F. M. 1997. Respiratory responses to air exposure in the southern rock lobster, *Jasus edwardsii* (Hutton) (Decapoda: Palinuridae). *Mar. freshwater Res.*, 48, 889-897.
40. Truchot, J.P. 1990. Respiratory and ionic regulation in invertebrates exposed to both water and air. *Annu. Rev. Physiol.* 52, 61-76.
41. Vargas, G. M. 1999. Estudio comparativo de fecundidad de la langosta roja *Panulirus interruptus* (Randall, 1840) entre zonas oceánicas y costeras de la plataforma centro occidental de Baja California Sur, durante 1992. Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS) (Ed.), La Paz, México, 41 p.
42. Varley, D.G., Greenway, P. 1992. The effect of emersion on haemolymph acid-base balance and oxygen levels in *Scylla serrata* Forskand (Brachyura: Portunidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 163, 1-12.
43. Vega, V. A.; Espinoza, C. G.; Gómez, R. C. 1996. Pesquería de Langosta *Panulirus* spp. *En Estudio del Potencial Pesquero y Acuicola de Baja California Sur*. Editado por Ponce, D. G.; Valdez, M.

44. Vijayakumaran, M., Radhakrisnan, V. E. 1997 Live transport and marketing of spiny lobsters in India. *Marine and Freshwater Research* 48 (8): 823-828.