



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL
NOROESTE, S. C.

Programa de Estudios de Posgrado

**Tratamiento postcaptura y desempeño de la
langosta roja *Panulirus interruptus* durante
emersión**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos
Naturales

(Orientación en: Biología Marina)

p r e s e n t a

Rafael Ortiz Rodríguez

La Paz, B. C. S., Diciembre-2003

**Tesis de Maestría en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los
Recursos naturales con Orientación en Biología Marina.**

Rafael Ortiz Rodríguez

Comité Tutorial y Evaluador.

Director de tesis: Dra. Lucía Ocampo Victoria

Co-tutor: Dr. Dariel Tovar Ramírez

Co-tutor: Dr. Illie S. Racotta Dimitrov

Comisión Revisora de Tesis.

Dra. Lucía Ocampo Victoria

Dr. Dariel Tovar Ramírez

Dr. Illie S. Racotta Dimitrov

Miembros del Jurado de Exámen.

Dra. Lucía Ocampo Victoria

Dr. Dariel Tovar Ramírez

Dr. Illie S. Racotta Dimitrov

Dr. Pedro Saucedo Lastra

Resumen

Se evaluó el desempeño fisiológico de la langosta roja, *Panulirus interruptus*, durante dos tiempos de emersión simulando condiciones de transporte vivo. Un grupo de 60 langostas fue sometido a un tratamiento postcaptura de shock térmico que consiste en la inmersión por un minuto en agua de mar a 5°C. Se colocaron grupos de 30 langostas con shock térmico y sin shock en un cajón de madera con costales húmedos y un paquete de hielo seco en gel donde permanecieron por 24 y 48h. Un grupo de langostas recién desembarcadas fue considerado como referencia. Se tomaron muestras de hemolinfa, músculo y hepatopáncreas en 15 langostas de cada tratamiento y se determinaron las concentraciones de glucosa, lactato, glucógeno, carbohidratos totales, proteína, hemocianina, amonio, trimetilamina y sustancias positivas al ácido tiobarbitúrico como indicadores del desempeño fisiológico. La supervivencia fue superior a 90% en todos los tratamientos. El tiempo de emersión ocasiona una hiperglicemia en hemolinfa la cual es reducida cuando el tratamiento postcaptura es aplicado. La acumulación de amonio en hemolinfa está directamente relacionada con el tiempo de emersión. En músculo y en hepatopáncreas se observa una disminución en la concentración de glucosa y en músculo se incrementa la concentración de glucógeno mientras que en hepatopáncreas disminuye por efecto del tiempo de emersión. A partir de estos resultados se concluye que la glucosa el lactato y el amonio son buenos indicadores del desempeño fisiológico. La relación de estas variables durante emersión y el tratamiento postcaptura se discuten dentro del contexto del transporte para la comercialización viva de esta especie.

Palabras clave: langosta roja, emersión, shock térmico

Abstract

The physiological performance of *Panulirus interruptus* during simulated commercial handling was investigated. Lobsters were dipped in 5°C seawater for 1 min and exposed to air for 24 and 48 h in wooden shipping boxes containing “blue ice,” or packed without chilling. Controls were taken before the chilling or packing. Haemolymph, muscle, and digestive gland were extracted. Survival was above 90%. Physiological performance was determined by measuring glucose, lactate, glycogen, total carbohydrates, protein, ammonia, trimethylamine, and Thiobarbituric acid reactive substances. Results show that chilling ameliorated hyperglycemia and lactate production in the hemolymph, which was accompanied by decreased glycogen stores in the digestive gland and increased in muscle. A direct relation between ammonia production and emersion period was established. These results show that chilling before packing reduces stress from emersion. This treatment in commercial shipping practices is recommended.

Key words: red lobster, emersion, chilling

Esta tesis esta dedicada a mi familia que está, la que ya no está y la que estará, por que su amor es mas que el aliento necesario para disfrutar la vida cada día de una mejor manera, pero amiga y amigo, también está dedicada a ti y en realidad a todos, incluyendo a mí.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca (registro 166399) otorgada para la realización del posgrado.

Al programa de posgrado, en especial a la Dra. Thelma Castellanos, al Dr. Sergio Hernández, a Leticia Rubio, Osvelia Ibarra, Betty Gálvez y Claudia Olachea.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste y a todo su personal del área administrativa, técnica, académica, mantenimiento, etc. por el apoyo otorgado de muchas maneras.

A mi directora de tesis Lucía Ocampo por su amistad y profesionalismo.

A mis asesores Daríel Tovar y Elías Racotta por su tiempo, trabajo y amistad que empeñaron en la realización de esta tesis.

A Roberto Hernández por sus innumerables intervenciones en el trabajo de laboratorio.

A mis padres y a mi hermano y amigo David por darme apoyo en muchos ámbitos diferentes.

A mis amigas y amigos por compartir momentos preciados.

Al Amor que me motivó a disfrutar cada uno de los momentos de este trabajo.

A mis compañeros de la maestría que hicieron de esta la experiencia académica más agradable.

A las langostas.

A todos los que de una u otra manera participaron.

Gracias

Contenido

Introducción	1
Adaptaciones a la emersión	4
Metabolismo energético y anaerobiosis	5
Excreción nitrogenada	6
Estrés oxidativo	7
Tratamientos postcaptura	9
Antecedentes	10
Hipótesis	13
Objetivo	14
Objetivos específicos	14
Materiales y métodos	15
Origen de las langostas	15
Tratamientos experimentales	15
Obtención de la muestra	16
Procesamiento y homogenización de las muestras	17
Determinación del estado de muda	20
Diseño experimental	21
Análisis estadístico	21
Resultados	23
Hemolinfa	24
Músculo	30
Hepatopáncreas	37
Discusión	42
Variables metabólicas	42
Excreción nitrogenada	49
Estrés oxidativo	53
Tratamiento postcaptura y desempeño fisiológico	53
Conclusiones	57
Referencias citadas	58
Anexo	68

Lista de figuras

Figura 1. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucosa (mg/dL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico	24
Figura 2. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de lactato (mg/dL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico	25
Figura 3. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de proteína (mg/mL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico	26
Figura 4. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de hemocianina (mg/mL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico	27
Figura 5. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de amonio (mmol/mL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico	28
Figura 6. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de trimetilamina ($\mu\text{mol/mL}$) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico	29
Figura 7. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucosa (mg/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico	30
Figura 8. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de lactato (mg/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico	31
Figura 9. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucógeno (mg/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico	32
Figura 10. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de carbohidratos totales (mg/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico	33
Figura 11. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de bases volátiles totales (BVT) en músculo de langostas con y sin shock térmico	34
Figura 12. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de trimetilamina ($\mu\text{mol/g}$) en músculo de langostas con y sin shock térmico	35
Figura 13. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de TBARS (nmol/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico	36
Figura 14. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucosa (mg/g) en hepatopáncreas de langostas con y sin shock térmico	37

Figura 15. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de lactato (mg/g) en hepatopáncreas de langostas con y sin shock térmico	39
Figura 16. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucógeno (mg/g) en hepatopáncreas de langostas con y sin shock térmico	40
Figura 17. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de carbohidratos totales (mg/g) en hepatopáncreas de langostas con y sin shock térmico	41
Figura 18. Concentración de lactato (mmol/L) en hemolinfa de decápodos sometidos a diferentes tratamientos	49
Figura 19. Concentración de amonio (mmol/L) en hemolinfa de especies de decápodos sometidos a diferentes tratamientos	52
Figura 20. Colocación de langostas en recibas después de la captura	68
Figura 21. Inmersión de langostas por 1 minuto en agua marina a 5°C (Shock térmico)	68
Figura 22. Cajones de madera utilizados para la simulación del transporte	68

Abreviaturas

CL	Cefalotórax
ATP	Adenosin trifosfato
AMP	Adenosin monofosfato
IMP	Inosina monofosfato
SOD	Superóxido dismutasa
TMA	Trimetilamina
TMAO	Óxido de trimetilamina
MDA	Malondialdehído
CHH	Hormona hiperglicémica de crustáceos
EOR	Especies oxigenadas reactivas
PCA	Ácido perclórico
NADH	Nicotinamida-adenin dinucleótido reducido
CL	Cefalotórax
ATP	Adenosin trifosfato
AMP	Adenosin monofosfato
IMP	Inosina monofosfato
SOD	Superóxido dismutasa
TMA	Trimetilamina
TMAO	Óxido de trimetilamina
MDA	Malondialdehído
HNE	Hidroxinonenal
EDTA	Ácido etileno-diaminotetraacético
SIC	Solución isotónica de crustáceos
BVT	Bases volátiles totales
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
ANOVA	Análisis de variancia

Introducción

La langosta roja *Panulirus interruptus* (Randall, 1840) es una especie habitante de aguas templadas a subtropicales que se distribuye en el ecosistema de la corriente de California desde Santa Bárbara, California hasta Isla Margarita, Baja California Sur (Pérez-Enríquez et al., 2001). Usualmente habita de los 2 a los 30 m de profundidad y ocasionalmente se le encuentra hasta 100 m (Ortiz, 1996).

La pesquería de langosta es una de las más importantes en el país reportando ganancias en exportaciones solo por debajo del camarón y el atún (Vega et al., 1997), por lo cual se le considera un producto altamente valuado en el mercado nacional e internacional.

La regulación de la pesca se ha basado principalmente en una temporada de veda donde el tamaño mínimo legal es de 82.5 mm de longitud de cefalotórax (CL) y la prohibición permanente de capturar hembras grávidas. Hasta 1993, la temporada de veda era la misma para la costa occidental de la península. Sin embargo debido a las variaciones latitudinales en el ciclo reproductivo de *P. interruptus* la costa se ha dividido en 4 zonas que empiezan la temporada de capturas escalonadamente, empezando en Septiembre en la zona 1 (mas norteña) hasta la zona 4 (mas sureña) la cual empieza en Diciembre (Briones-Fourzán y Lozano-Álvarez, 2000).

La captura de esta especie se comercializa en varias presentaciones como langosta entera congelada, cola congelada, carne de langosta y viva, siendo la presentación viva la que alcanza precios significativamente mayores. Esto ha

llevado a que desde 1996 las sociedades cooperativas incrementen su esfuerzo a procesar la captura de manera que la mayor parte de esta se comercialice viva. La exportación de esta presentación es posible gracias a que las langostas pueden sobrevivir grandes periodos fuera del agua y de esta manera ser transportados hasta mercados distantes. El mercado asiático es el principal consumidor de esta especie. La comercialización se lleva a cabo por empresas privadas que compran la captura a las sociedades cooperativas.

La langosta roja es capturada generalmente con trampas rectangulares de alambre galvanizado recubierto de plástico. Las trampas de madera y de red son menos comunes y sólo son usadas en la parte sur de la Península. Normalmente se usan pangas con motor fuera de borda y en el centro y norte de la Península están equipadas con cabrestantes hidráulicos. Las trampas se colocan con pescado o moluscos como carnada por la mañana y se recuperan hasta la mañana del día siguiente o posteriormente. Una vez capturadas las langostas se mantienen dentro de la embarcación en recipientes de plástico de 50 o 100 litros expuestas tanto al aire como a la luz solar hasta que son llevadas a contenedores o jaulas submarinas llamadas "recibas" hasta que el transporte las recoge y las lleva a centros de procesamiento. Este transporte desde las recibas hasta el centro de procesamiento se lleva a cabo dependiendo de la captura y de los recursos de la cooperativa, una o varias veces por semana (Briones-Fourzán y Lozano-Álvarez, 2000; Ortiz-Rodríguez, 2002). Una vez que son procesados en la cooperativa se llevan a centros de procesamiento de las empresas privadas que se encuentran distribuidos en el norte de la Península de Baja California. En este

transporte las langostas se llevan en cajones de madera yaciendo en y cubiertas con costales de fibra vegetal humedecidos con agua de mar en camiones refrigerados. Una vez que llegan hasta los centros de procesamiento de las empresas privadas se distribuyen hasta el mercado de destino. Durante su comercialización y particularmente cuando son transportadas por avión, las langostas se llevan en recipientes termo aislados sin agua (hieleras de poli estireno) y llevan hielo en recipientes (de manera que no haya derrames de líquidos) para mantener baja la temperatura. Sin embargo, durante estos transportes las langostas se encuentran expuestas al aire. El aire ocasiona que los organismos con branquias adaptadas para la respiración acuática no puedan llevar a cabo esta función y el intercambio de gases y la excreción de nitrógeno se vean afectados, lo que amenaza la calidad y/o la sobrevivencia del producto. Esta situación se hace notoria cuando se observa la geografía de la península y la localización de las zonas de captura de las cooperativas que poseen la concesión de este recurso. Estas se encuentran en la costa occidental, alejadas por decenas de kilómetros de caminos en malas condiciones de la carretera principal lo que aumenta el tiempo de traslado de las zonas de captura a sus centros de procesamiento. Por otro lado, hay cierto maltrato de los organismos por una manipulación inadecuada de los mismos en cada uno de los procesos y a la falta de conocimiento acerca de las condiciones idóneas para el transporte expuestas al aire. Con lo anterior se compromete la calidad y/o sobrevivencia del producto, lo que a su vez compromete la comercialización en función de la percepción de calidad en el mercado de destino.

Adaptaciones a la emersión.

Se han realizado numerosas investigaciones para determinar el efecto que tiene la emersión en la fisiología de los crustáceos ya que el agua y el aire son dos medios muy diferentes. Es importante conocer el desempeño de un organismo que respira y excreta a través de las branquias cuando es retirado del medio acuático y emergido o expuesto al aire. Aunque el oxígeno es muy abundante en el aire es difícilmente tomado de éste por un organismo que no tenga órganos especializados para este medio. Durante la emersión, la cámara branquial se encuentra limitada de un constante flujo de agua, las branquias pueden colapsarse y reducir la superficie de intercambio gaseoso, o pueden perder humedad y con esto imposibilitar la difusión del oxígeno al epitelio branquial. Así mismo la excreción de dióxido de carbono y compuestos nitrogenados de desecho se interrumpe debido a la falta de un gradiente de concentración que permita la difusión hacia el exterior. Esto provoca que durante la emersión la incorporación de oxígeno y la eliminación de dióxido de carbono y compuestos nitrogenados se tornen problemáticas y los problemas fisiológicos asociados sean acumulativos. Los crustáceos intermareales, semi-terrestres y terrestres tienen ciertas adaptaciones que les permiten continuar con la incorporación de oxígeno y la excreción de desechos a diferencia de las submareales (Farrelly y Greenaway, 1993; Farrelly y Greenaway, 1994; Schmitt y Uglow, 1997b; Durand et al., 2000). Existe una relación directa entre la frecuencia de la exposición aérea o emersión en el medio natural y la capacidad fisiológica de soportar largos periodos de emersión.

Metabolismo energético y anaerobiosis.

La energía que necesitan las células para los procesos bioquímicos se encuentra presente en la forma de moléculas de adenosin trifosfato (ATP) que generalmente son producidas por la oxidación de moléculas combustibles a CO_2 y H_2O por vía del ciclo del ácido cítrico o de la ruta Embden-Meyerhof (glucólisis, anaerobia). En los crustáceos, al igual que en los vertebrados, cuando existe una deficiencia de oxígeno, la reoxidación del NADH formado durante la glucólisis se ve imposibilitada y es en estas circunstancias en las que la reducción de piruvato a lactato se lleva a cabo para la reoxidación del NADH, permitiendo que la glucólisis proceda. Sin embargo, la glucólisis anaerobia no es un medio eficiente para la producción de ATP ya que solo genera 2 ATP por molécula de glucosa fermentada a lactato, mientras que la oxidación completa hasta CO_2 en conjunto con la fosforilación oxidativa genera 38. Como consecuencia, cuando los mecanismos aeróbicos se ven limitados por la deficiencia de oxígeno, mas glucosa debe ser sometida a la glucólisis para mantener la producción energética. Cuando estas condiciones de anaerobiosis se mantienen constantes en un periodo de tiempo y el organismo no llega a una depresión metabólica en la que la energía requerida sea menor entonces ocurre un progresivo decremento de las reservas energéticas directamente disponibles para la célula (fosfágeno y ATP) (Gade, 1983). La dinámica de los combustibles metabólicos como parámetros fisiológicos ha sido utilizada en las siguientes especies de Crustáceos: *Jasus edwardsii* (Taylor y Waldron, 1997; Morris y Oliver, 1999ab), *Nephrops norvegicus* (Schmitt y Uglow, 1997b), *Panulirus ornatus* (Paterson et al., 1997), *Panulirus cygnus* (Spanoghe,

1996), *Panulirus japonicus* (Huang y Chen, 2001), *Austrapotamobius pallipes* (Jackson et al., 2001), *Niphargus virei* (Hervant et al., 1999), *Liocarcinus depurator*, *Munida rugosa* (Bergmann et al., 2001), *Petrolisthes* spp. (Stillman y Somero, 1996), *Maia squinado* (Durand et al., 2000), *Callinectes sapidus*, *Cardisoma guanhumi* y *Geocarcinus lateralis* (Henry et al., 1994).

Excreción nitrogenada.

La mayoría de los Crustáceos decápodos son organismos amoniotélicos aunque excretan aminoácidos, urea y ácido úrico en muy pequeñas cantidades (Regnault, 1987). La principal ruta de formación de amonio es mediante el catabolismo de aminoácidos provenientes de la dieta o del metabolismo. Se obtiene por oxidación directa o deaminación de los aminoácidos o reacciones de transaminación. También se puede obtener por la deaminación de adenilato siguiendo el ciclo de degradación de purinas y nucleótidos de Lowenstein (Tornheim y Lowenstein, 1973) por medio de la enzima AMP deaminasa lo que a su vez influye sobre la carga energética de adenilatos con la consecuente formación de inosina monofosfato (IMP) (Chapman y Atkinson, 1973). El amonio se encuentra disuelto en la hemolinfa en solución como NH_3 y NH_4^+ , la proporción de éstos depende del pH y de la temperatura (Wright, 1993). Las branquias son el principal sitio de excreción de amonio y la glándula antenal también participa pero en menor proporción. Se han sugerido varios mecanismos de eliminación del amonio como: a) difusión pasiva a través del gradiente de presión parcial del NH_3 , b) difusión a través de un gradiente electroquímico del ion NH_4^+ y c) intercambio de NH_4^+ por

Na⁺ en la membrana apical o baso lateral del epitelio branquial (Varley y Greenaway, 1994). Ya que la excreción de amonio depende de un gradiente de concentración, la exposición aérea imposibilita la eliminación y por lo tanto se acumula en la hemolinfa (Durand y Regnault, 1998). La toxicidad por la acumulación de esta molécula en crustáceos esta ligada al balance ácido-base y afecta varios procesos fisiológicos que se reflejan principalmente en una mortalidad incrementada y un bajo crecimiento (Schmitt y Uglow, 1997a; Racotta y Hernández-Herrera, 2000). Entre los compuestos nitrogenados que han sido utilizados como indicadores de calidad postmortem en productos pesqueros está el amonio y la Trimetilamina (TMA). Éste último es el responsable del olor característico de los peces en descomposición. La acumulación de trimetilamina en peces como resultado de la degradación bacteriana de la colina y de la reducción del óxido de trimetilamina (TMAO) ha sido eficientemente utilizada como un indicador de descomposición (Sadok, et al., 1996; Seibel y Walsh, 2002). Sin embargo su uso en crustáceos ha sido muy limitado. El TMAO esta considerado como un soluto estabilizador de proteínas, común en animales marinos (Yancey, et al., 1982).

Estrés oxidativo.

El descubrimiento del radical superóxido por Gershman et al., (1954) y la enzima superóxido dismutasa (SOD) por McCord y Fridovich (1969) abrió el camino a un amplio campo de estudio que comprende la detección, caracterización y análisis

del papel que llevan a cabo los radicales libres de oxígeno en procesos normales y patológicos del metabolismo celular (Ortiz-Rodríguez, 2002).

Los radicales libres de oxígeno son especies químicas que poseen un electrón no apareado en su orbital más externo que, como regla, hace que se incremente la reactividad de un compuesto especialmente en reacciones de sustracción de átomos de hidrógeno y en la adición de dobles enlaces de compuestos orgánicos (Tovar, 1998). Estos se generan durante el transporte electrónico al oxígeno molecular a través de la cadena respiratoria mitocondrial, así como en diversas reacciones de hidroxilación y de oxigenación (Lehninger, 1994). El concepto conocido como estrés oxidativo, se considera como aquel estado fisiológico donde la tasa de generación de especies oxigenadas reactivas (EOR) sobrepasa la capacidad del sistema antioxidante para amortiguar esta oxidación (Joanisse y Storey, 1996) que afecta principalmente biomoléculas como proteínas, lípidos (principalmente ácidos grasos poliinsaturados) y ácidos nucleicos, quienes son modificados en su estructura perdiendo funcionalidad. Las reacciones ocasionadas por las EOR pueden dar como resultado productos citotóxicos de bajo peso molecular, estos ocasionan daño a nivel molecular, celular y tisular. Pueden producir inactivación de enzimas, daño al genoma por mutaciones, despolimerización de polisacáridos y pérdida de función membranal debido al daño a lípidos de membrana (Beckman y Ames, 1997). La abundancia de fosfolípidos en los sitios de formación de radicales (membranas) provoca que sean afectados en mayor proporción por éstos, siendo así la peroxidación de lípidos el proceso mediado por radicales libres más estudiado. La oxidación de estos lípidos

provoca a su vez una cascada de reacciones que producen alquenos y compuestos carbonados (Hermes-Lima et al., 1998). Entre estos compuestos encontramos a algunos severamente tóxicos como los hidroxialquenos. Por esta razón los productos derivados de la peroxidación de lípidos son parámetros eficaces para monitorear el daño por EOR, los más usados son el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxi-2(E)-nonenal (4-HNE) (Pannunzio y Storey, 1998; De Zwart et al., 1999; Winterbourn et al., 2000; Downs et al., 2001).

Tratamientos postcaptura

Como hemos visto, cuando los crustáceos son expuestos al aire como resultado de su comercialización en la presentación viva sufren una desviación detrimental (estrés) de el equilibrio fisiológico en el que se encuentran en su hábitat natural. Al observar las diferentes estrategias que se han utilizado para disminuir esta desviación encontramos una serie de tratamientos que se aplican después de que el animal ha sido capturado y antes de ser empaquetado o procesado para su transporte y/o comercialización en vivo y que de esta manera tenga una buena calidad y sobrevivencia y por lo tanto una buena aceptación en el mercado. Entre los tratamientos postcaptura o pre-emersión que se han utilizado y que son reportados en la literatura para incrementar la calidad y/o la supervivencia de crustáceos que son sometidos a emersión por transporte vivo podemos mencionar:

- a) Inyecciones de soluciones amortiguadoras para disminuir los cambios en el balance ácido-base de la hemolinfa que ocurre por la acumulación de NH_4 y CO_2 (Riley et al., 1996);
- b) acondicionamiento en viveros previo al transporte, en donde la alimentación y la temperatura de aclimatación son controladas estrictamente (Riley et al., 1996);
- c) disminuciones graduales de la temperatura (Gómez-Jiménez et al., 2000);
- d) shock térmico en donde se reduce súbitamente la temperatura del organismo en agua marina previamente enfriada (Morris y Oliver, 1999a)

Estos procedimientos han demostrado variabilidad en su efectividad y en la factibilidad técnica y/o económica comercialmente. Debido a los factores técnicos y económicos en la presente tesis se estudió el efecto del shock térmico como tratamiento post-captura para optimizar la comercialización viva de la langosta roja *Panulirus interruptus*.

Antecedentes

Se han utilizado una gran variedad de parámetros para describir las respuestas fisiológicas de los crustáceos sometidos a la emersión, entre ellos los más pertinentes han sido: a) el estudio del metabolismo energético y proteico que incluye, la utilización del sustrato energético (MacMillen y Greenaway, 1978; Furusho et al., 1988; Paterson, 1993; Stillman y Somero, 1996; Morris y Oliver, 1999a; Paterson et al., 1999a; Bergmann et al., 2001; Hsing-Chen et al., 2002)

formación de desechos metabólicos (Greenaway y Morris, 1989; Linton y Greenaway, 1995; Paterson et al., 1997; Paterson y Spanoghe, 1997; Schmitt y Uglow, 1997ab; Chen y Chen, 1998; Durand y Regnault, 1998; Huang y Chen, 2001; Danford et al., 2002) y la actividad enzimática (Stillman y Somero, 2001); b) la fisiología respiratoria (Samet et al., 1996; Luquet et al., 1998; circulatoria (Kuramoto, 1994; Airries y McMahon, 1996;) y el balance ácido-base (Varley y Greenaway, 1992; Chen y Chen, 1998; Morris y Oliver 1999b); c) la regulación osmótica e iónica (Schmitt y Santos, 1993; Morris, 2001), d) la regulación endocrina (Spanoghe, 1996; Webster, 1996) y e) el sistema inmune (Jussila et al., 1997; Gómez-Jiménez et al., 2000; Fotedar et al., 2001; Jussila et al., 2001; Ortiz-Rodríguez, 2002).

En particular la langosta roja *P. interruptus* ha sido objeto de varios estudios poblacionales (Vega et al., 1996; Vargas-Romero, 1999; Briones-Fourzán y Lozano-Álvarez, 2000; Pérez-Enríquez et al., 2001), de hábitos alimenticios (Díaz-Arredondo y Guzmán del Proo, 1995), del sistema nervioso (Sullivan et al., 1977; Russell y Hartline, 1982), el sistema inmune (Hernández-López, et al., 2003), producción de fuerza durante el escape (Nauen y Shadwick, 2001) y fisiología (Patiño-Gutiérrez, 2002; Ramírez-Aburto, 2002; Ocampo et al., 2003). En relación al transporte vivo fue estudiada en el 2000 por Gómez-Jiménez et al. en el que determinó el efecto de la tasa de enfriamiento pre-emersión en los conteos totales de hemocitos y la actividad fenoloxidasa, encontrando elevadas concentraciones de ambas variables por efecto de la emersión, Ortiz-Rodríguez (2002) estudia el efecto de varios tiempos de emersión y dos temperaturas de aclimatación (20 y

27°C) en simulaciones de transporte vivo sobre los conteos totales de hemocitos, actividad de fenoloxidasa, de enzimas antioxidantes y la peroxidación de lípidos en las fases humoral y celular de la hemolinfa determinando que en extractos lisados de hemocitos la concentración de productos derivados de la peroxidación de lípidos tiene una relación directa con el período de emersión y que es más elevada en organismos aclimatados a 20°C. Sifuentes-Romero (2002) determina la morfología de las branquias durante periodos de emersión hasta de 24h, encontrando que el área de la lamela branquial no sufre cambios durante emersión lo que sugiere que la branquia no se colapsa con la exposición aérea.

Hipótesis

El periodo de emersión ocasionará una desviación de las concentraciones basales o de referencia de metabolitos (parámetros fisiológicos) asociados con la anaerobiosis, excreción nitrogenada y estrés oxidativo. La aplicación del tratamiento postcaptura antes del periodo de emersión disminuirá esta desviación.

Objetivo

- Evaluar el desempeño durante emersión por 24 y 48 horas por medio de la determinación de parámetros fisiológicos y
- Evaluar el efecto de un tratamiento postcaptura en estos parámetros fisiológicos durante estos periodos de emersión

Objetivos específicos

1. Determinar la concentración de glucosa, lactato, glucógeno, carbohidratos totales y proteína (combustibles metabólicos) en muestras de hemolinfa, músculo y hepatopáncreas de langosta roja sometida a dos periodos de transporte vivo y a un tratamiento postcaptura.
2. Determinar la concentración de amonio, trimetilamina y malondialdehído en muestras de hemolinfa y músculo de langosta roja sometida a dos periodos de transporte vivo y a un tratamiento postcaptura.

Materiales y métodos

Origen de las langostas

Se utilizaron 120 langostas roja de talla comercial (82.5 cm. CL) y de peso promedio 614.93 ± 121.05 g que fueron capturadas por la Sociedad Cooperativa Pesquera Punta Abrejos. Las langostas fueron mantenidas en ayuno en recibas de madera por 3 días. La temperatura superficial del mar donde se encontraban las recibas fue de 21°C. Después de este periodo las langostas fueron transportadas a las instalaciones de la cooperativa en recipientes plásticos sin agua.

Tratamientos experimentales.

En la cooperativa se seleccionaron al azar 120 langostas. Los cajones que se utilizaron como recipientes de las langostas están elaborados de madera y son los que se utilizan normalmente por la cooperativa para el traslado de las langostas hasta los centros de procesamiento de las empresas privadas que compran la captura. Dos grupos de 30 langostas fueron colocados directamente en cada cajón. Los dos grupos de 30 langostas restantes se le sometió a un tratamiento postcaptura que consistió en la inmersión por 1 minuto en agua de mar (35‰) a 5°C previamente enfriada en los congeladores de la planta procesadora. Inmediatamente después de este tratamiento se les colocó en otro cajón de manera similar al primer grupo de langostas. Los cuatro cajones fueron transportados al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste vía terrestre.

Al transcurrir 24 horas se abrieron dos cajones y se tomaron 15 langostas al azar a las cuales se les obtuvo muestras de hemolinfa y tejido de acuerdo a los procedimientos que se describen en el apartado de obtención y preservación de las muestras. Al transcurrir 48h se abrieron los dos cajones restantes y se procedió a tomar las muestras de la misma manera. Un tercer grupo de 15 langostas fue seleccionado al azar del grupo de langostas recién desembarcadas en la cooperativa. Estas langostas tenían aproximadamente una hora de haber sido obtenidas de las recibas. De este grupo de langostas se obtuvieron muestras de la misma manera que los dos grupos anteriores y se consideraron como langostas de referencia, los datos provenientes de este grupo se encuentran en los resultados agrupados con la etiqueta de 1 hora de emersión.

Obtención de la muestra.

Después de haber tomado el peso, sexo y observaciones generales de cada langosta se le extrajeron 9 mL de hemolinfa de la cámara pericárdica con 3 jeringas hipodérmicas de 3 mL introducidas a través de la membrana dorsal que se encuentra entre el abdomen y el cefalotórax. Se utilizaron tres anticoagulantes, uno para cada jeringa, el primero fue EDTA al 5% en proporción 1:5 (EDTA: hemolinfa) con la hemolinfa, otro fue agua destilada en proporción 1:1 y otro fue solución isotónica de crustáceos (SIC) con oxalato de potasio al 10%. El contenido de las jeringas fue depositado en tubos para microcentrífuga y en el caso de las muestras extraídas con EDTA fueron centrifugadas a 840 x g por 5 minutos en una microcentrífuga VWR, posteriormente se separó el precipitado y el sobrenadante y

ambas fueron congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido. Posteriormente se separó la cabeza del abdomen por torsión y fue removido una porción del músculo, el hepatopáncreas y un pedazo de urópodo y fueron colocados en tubos para microcentrifuga (excepto el hepatopáncreas que fue almacenado en bolsas de plástico) y congelados en nitrógeno líquido. Posteriormente estas muestras fueron almacenadas a -80°C para análisis posterior.

Procesamiento y homogeneización de las muestras.

Las muestras de hemolinfa fueron deproteinizadas con ácido perclórico (PCA) al 6% para la determinación de glucosa y lactato, para la determinación de proteína, hemocianina, amonio y trimetilamina no se les aplicó ningún tratamiento previo excepto la centrifugación al momento de ser extraídas.

Una porción de las muestras de músculo fue pesada y liofilizada por 44 horas, al cabo del cual se volvieron a pesar para obtener el peso del tejido seco y del agua perdida. Una fracción del tejido liofilizado (100mg) fue homogenizado mediante una espátula en 1mL de PCA al 6%. Después se dejaron reposar las muestras por 17 horas a 4°C , se agitaron y se centrifugaron en una centrifuga refrigerada Sorvall Legend RT a $2294 \times g$ por 10 minutos. Las muestras de hepatopáncreas no fueron liofilizadas y fueron sometidas al mismo proceso de homogeneización y solo se dejaron reposar por una hora, al cabo del cual se sometieron al mismo proceso de centrifugación. Se determinaron las concentraciones de glucosa, lactato, glucógeno, y carbohidratos totales en el sobrenadante. Para el caso de la determinación de malondialdehído en músculo se homogenizaron 100 mg de este

tejido liofilizado en 1.75 mL de solución isotónica de crustáceos (composición: NaCl 450mM, KCl 10mM, Hepes 10mM, EDTA, 10mM, oxalato 5%).

Glucosa.

La concentración de glucosa se determinó mediante el kit Boehringer Mannheim Cat No. 1099 558 en un lector de microplaca a 490nm (Racotta y Palacios, 1998) utilizando glucosa como estándar. Dicha técnica consiste en la oxidación de la glucosa por la enzima glucosa oxidasa, con la liberación del peróxido de hidrógeno. Este reacciona con fenol y 4 amino fenazona en presencia de una peroxidasa, dando un colorante rojo violeta de antipirilquinonimina, que es proporcional a la cantidad de glucosa presente de la muestra.

Lactato

La concentración de lactato se determinó mediante el kit RANDOX Cat No. LC2389 en un lector de microplaca a 540nm (Racotta y Palacios, 1998) utilizando lactato como estándar. Dicha técnica se basa en que el ácido láctico es convertido en piruvato con formación de peróxido de hidrógeno por la enzima lactato oxidasa, el cual es oxidado por una peroxidasa formando un compuesto colorido, directamente proporcional a la concentración de lactato en la muestra.

Proteína.

La concentración de proteína soluble total extraída se determinó mediante la técnica propuesta por Bradford (1976) utilizando como estándar albúmina sérica

bovina. La técnica se basa en que los grupos aminos reaccionan con el azul comassie, ácido fosfórico y metanol. El compuesto colorido formado por la reacción es proporcional a la concentración de proteína en la muestra. .

Hemocianina.

Esta determinación se realizó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 335nm. La absorbancia fue multiplicada por 10 y posteriormente por 2.83 para obtener la concentración en mg/mL de acuerdo a Racotta et al., (2002).

Glucógeno.

El glucógeno se separó de carbohidratos totales mediante la acción del etanol y posteriormente se le agregó anthrona y se determinó su absorbancia en un espectrofotómetro a 620nm (Racotta y Hernández-Herrera, 2000). Se obtuvo la concentración mediante una curva tipo utilizando glucógeno como estándar.

Carbohidratos totales.

Se determinaron mediante el método de anthrona y se determinó su absorbancia en un espectrofotómetro a 620nm (Palacios et al., 2000). Se obtuvo la concentración mediante una curva tipo utilizando dextrosa como estándar.

Amonia y Bases volátiles totales (BVT).

Se determinó mediante una técnica de flujo-inyección de acuerdo a Hunter y Uglow (1993). Esta técnica cuantifica amonia total (NH_4^+ + NH_3). Se obtuvo la

concentración usando curva tipo con sulfato de amonio como estándar. Aplicada esta técnica a las muestras de músculo los resultados se expresan en bases volátiles totales.

Trimetil amina (TMA)

Se determinó mediante una técnica de flujo-inyección de acuerdo a Sadok et al. (1996) Se obtuvo la concentración usando una curva tipo utilizando TMA como estándar (SIGMA T-7630).

Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Se determinó de acuerdo al método propuesto por Persky et al., (2000). Este está basado en el ligamiento del MDA y otras sustancias con el ácido tiobarbitúrico y su posterior lectura a 540nm. Los resultados se expresan en sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). La concentración fue calculada con una curva tipo preparada con 1, 1,3, 3-tetraetoxipropano (SIGMA T9889) como estándar.

Determinación del estado de muda.

La determinación del estado de muda se realizó de acuerdo a Lyle y MacDonald (1983). Esta se llevo a cabo colocando y humedeciendo una porción del urópodo en un portaobjetos y observando sus características en un microscopio óptico.

Diseño experimental

Como se menciona en un apartado anterior se seleccionaron dos tiempos de emersión (24 y 48h), para cada uno de estos tiempos se utilizaron dos cajones con 30 langostas cada uno, uno de ellos contenía langostas expuestas al shock térmico y el otro no tenía ningún tratamiento previo. De tal manera el diseño experimental consistió en 2 tiempos de emersión y 2 condiciones de transporte (con shock térmico y sin shock) en el que se utilizaron 15 langostas por cada tratamiento para un total de 60 langostas. El grupo de 15 langostas denominado referencia sirvió para comparar los resultados obtenidos.

Análisis estadístico.

Los datos fueron sometidos al análisis exploratorio para determinar el procedimiento estadístico a utilizar. Para determinar si existió diferencia por el sexo, el efecto de la emersión y el shock térmico se procedió a realizar un análisis de variancia (ANOVA) de 3 vías con un $P < 0.05$ (emersión*shock*sexo). En los casos en los cuales no se obtuvo un efecto significativo del sexo los datos de hembras y machos se agruparon y fueron analizados por ANOVA bifactorial (emersión*shock). En caso de haber diferencia significativa por algún factor se realizó la comparación de medias mediante la prueba de Tukey con un $P < 0.05$. Para comparar los resultados después de la emersión con y sin shock térmico con los datos de las langostas de referencia (1h), se realizaron pruebas *t* de Student con un $P < 0.05$.

En la sección de resultados los datos se encuentran graficados como media \pm error estándar. Los datos provenientes del músculo y el hepatopáncreas se encuentran expresados en peso húmedo. Las columnas representan la media y las líneas el error estándar.

Resultados

La supervivencia en todos los tratamientos fue superior al 90%, incluyendo durante la reinmersión y en días posteriores a ésta.

Proveniente de los cálculos realizado al liofilizar las muestras de músculo y hepatopáncreas se obtuvo el porcentaje de agua que contenían estos tejidos. El promedio de estos datos del músculo es de 76.08% y del hepatopáncreas es 67.36%. No hubo diferencia significativa en el porcentaje de agua de ambos tejidos en ninguno de los tratamientos utilizados.

En esta sección se presentan las variables determinadas en la hemolinfa, seguida por las determinadas en tejido muscular y después las del hepatopáncreas.

Hemolinfa

Glucosa

En la concentración de glucosa hubo efecto significativo por el tratamiento postcaptura (shock térmico) $F_{(1, 35)} = 13.165$, $P = 0.0009$ siendo menor la concentración de langostas que fueron sometidas a este tratamiento, no hubo efecto por el tiempo de emersión o el sexo. La concentración de glucosa varió de 15.4 a 40.2 mg/dL. Las langostas que no fueron sometidas al shock térmico tienen concentraciones significativamente mayores que las de referencia ($P < 0.05$).

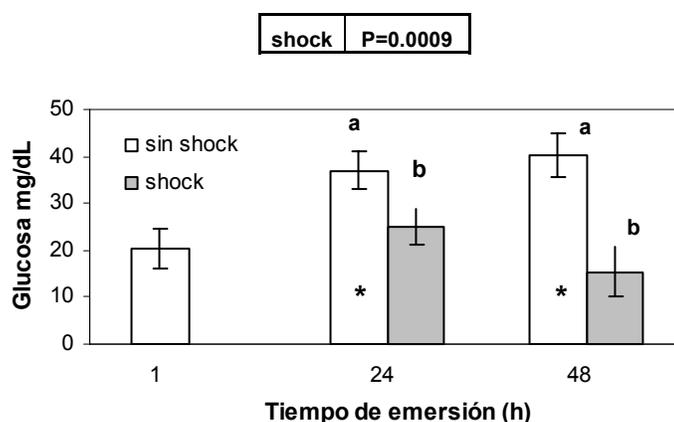


Figura 1. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucosa (mg/dL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico. A partir de la prueba *a posteriori* Tukey ($\alpha < .05$), las medias con letras diferentes son significativamente diferentes entre sí. En los casos en que los datos de los tratamientos fueron diferentes significativamente (t de student, $P < 0.05$) de los de las langostas de referencia (1h) se indica con un asterisco en la columna.

Lactato

En la concentración de lactato hubo efecto significativo por el tratamiento postcaptura $F_{(1, 37)} = 3.8172$, $P=0.049$ siendo menor la concentración de langostas que fueron sometidas a este tratamiento, no hubo efecto por el tiempo de emersión o el sexo. La concentración de lactato varió de 12.3 a 24.5mg/dL. Las langostas que no recibieron el shock térmico tienen concentraciones significativamente mayores que las de referencia ($P<0.05$).

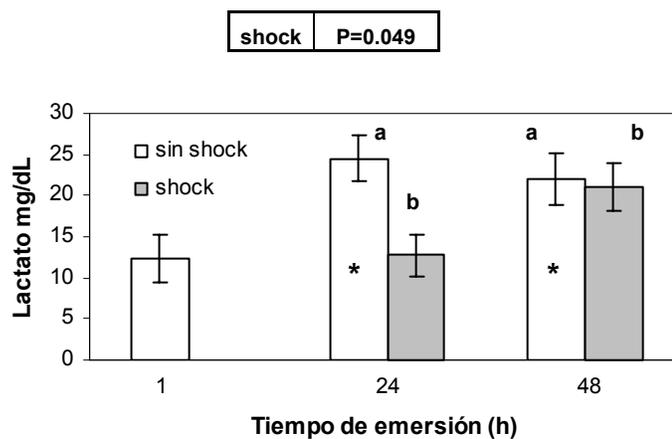


Figura 2. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de lactato (mg/dL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones en pie de figura 1.

Proteína

En la concentración de proteína hubo efecto significativo por el sexo $F_{(1, 37)}=17.735$, $P= 0.0001$ siendo mayor la concentración de los machos, no hubo efecto por el tiempo de emersión o el tratamiento postcaptura. La concentración de proteína en hembras varió de 88.1 a 101.2, y la de machos varió de 105.9 a 138.5mg/ml. En los machos, los tratamientos de 48h de emersión con y sin shock térmico son significativamente menores que los de referencia ($P<0.05$). En las hembras no hubo diferencia significativa entre la concentración de referencia y la de los tratamientos ($P<0.05$).

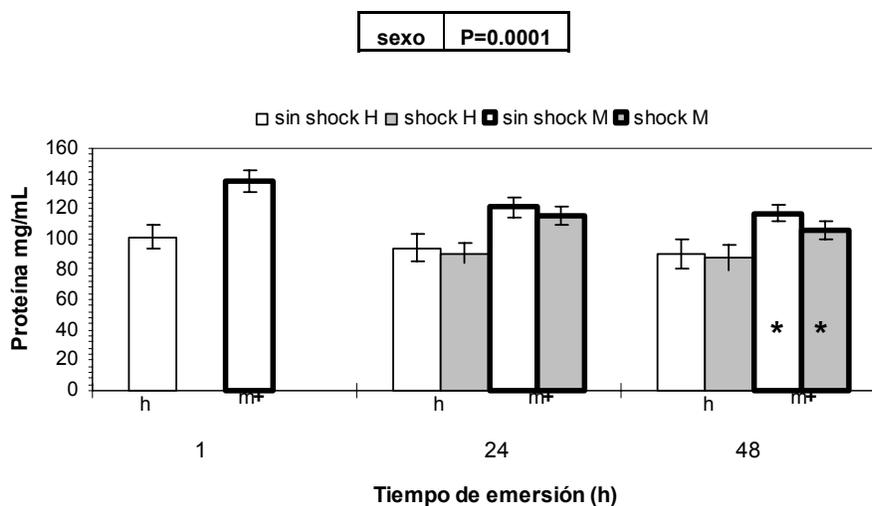


Figura 3. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de proteína (mg/mL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico. Se indica con un signo positivo cual fue el mayor valor significativamente entre hembras y machos. Ver indicaciones en pie de figura 1.

Hemocianina

En la concentración de hemocianina no hubo efecto significativo por el tiempo de emersión, tratamiento postcaptura o sexo. La concentración de hemocianina varió de 8.3 a 10.8mg/ml. No hubo diferencia significativa entre la concentración de referencia y la de los tratamientos ($P < 0.05$).

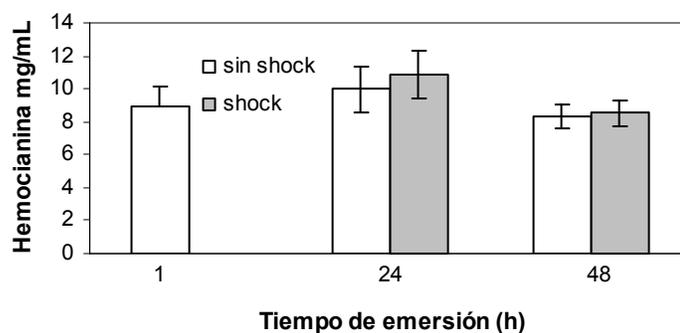


Figura 4. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de hemocianina (mg/mL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico.

Amonio total

En la concentración de amonio hubo efecto significativo por el tiempo de emersión $F_{(1, 40)} = 25.0266$, $P = 0.00001$, siendo mayor la concentración de langostas expuestas a 48h de emersión, no hubo efecto por el tratamiento postcaptura o el sexo. La concentración de amonio total varió de 0.135 a 0.853mmol/L. Las concentraciones provenientes de todos los tratamientos son mayores que los de referencia ($P < 0.05$).

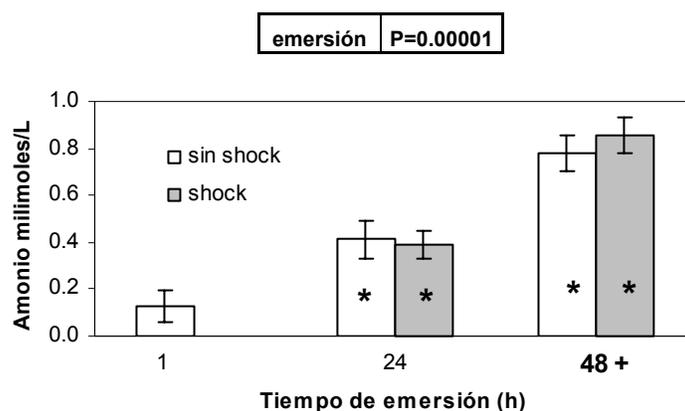


Figura 5. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de amonio (mmol/mL) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico. Se indica con un signo positivo que los valores de 48h fueron significativamente más altos que los de 24 horas. Ver indicaciones en pie de figura 1.

Trimetilamina (TMA)

En la concentración de TMA no hubo efecto significativo por el tiempo de emersión, el tratamiento postcaptura o el sexo. La concentración de TMA varió de 0.016 a 0.023 $\mu\text{mol/L}$. No hubo diferencia significativa entre la concentración de referencia y la de los tratamientos ($P < 0.05$).

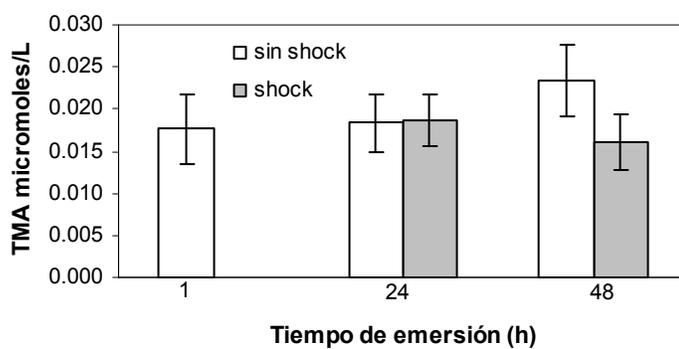


Figura 6. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de trimetilamina ($\mu\text{mol/mL}$) en hemolinfa de langostas con y sin shock térmico.

Músculo

Glucosa

En la concentración de glucosa hubo efecto significativo por el tiempo de emersión $F_{(1, 40)}=10.2862$, $P=.0026$ siendo menor la concentración de langostas expuestas a 48h, hubo efecto significativo por el tratamiento postcaptura $F(1, 40)=4.3408$, $P=0.043$ siendo menor la concentración de langostas sometidas a este tratamiento, no hubo efecto por el sexo. La concentración varió de 0.210 a 0.635mg/g. Las concentraciones provenientes de todos los tratamientos son menores que la de referencia ($P<0.05$) excepto la de langostas sometidas a 24 h de emersión sin shock térmico.

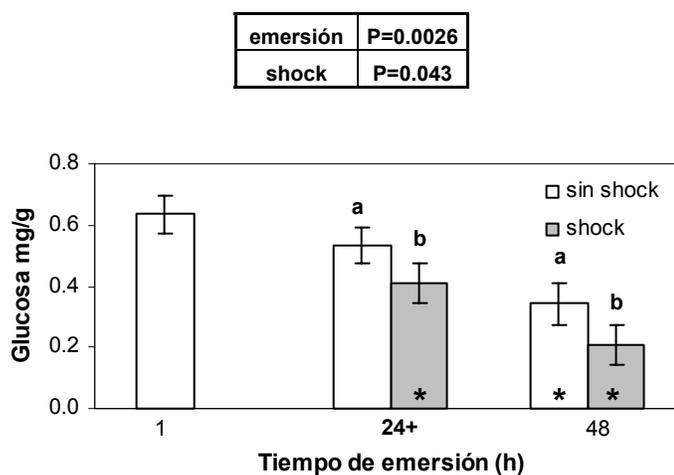


Figura 7. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucosa (mg/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones en pie de figura

5.

Lactato

En la concentración de lactato hubo efecto significativo por el tratamiento poscaptura $F_{(1, 41)} = 5.6130$, $P = 0.022$ siendo menor la concentración de langostas sometidas a este tratamiento, no hubo efecto por el tiempo de emersión o el sexo. La concentración de lactato varió de 1.6 a 2.7 mg/g. No hubo diferencia significativa entre la concentración de referencia y la de los tratamientos ($P < 0.05$).

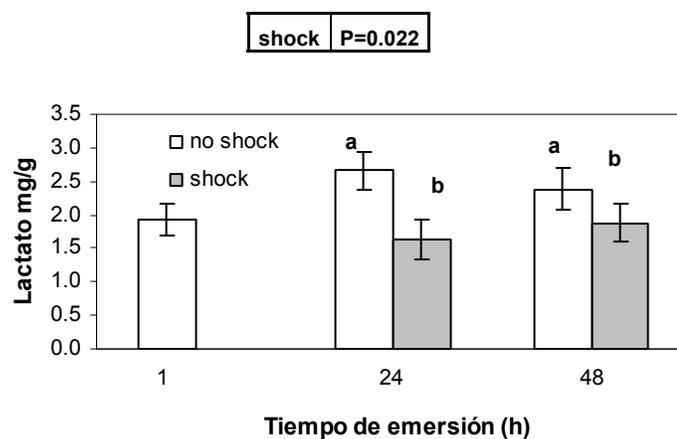


Figura 8. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de lactato (mg/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones en pie de figura 1.

Glucógeno

En la concentración de glucógeno hubo efecto significativo por el tiempo de emersión $F_{(1, 38)}=5.2840$, $P=0.027$ siendo mayor la concentración de langostas expuestas a 48h de emersión, no hubo efecto por el tratamiento postcaptura o el sexo. La concentración de glucógeno varió de 1.4 a 2.1mg/g. La concentración de langostas expuestas a 48h con y sin shock térmico es significativamente mayor que la de referencia ($P<0.05$).

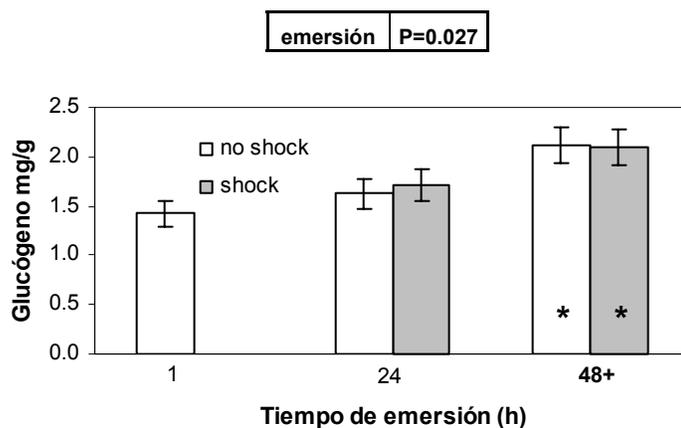


Figura 9. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucógeno (mg/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones de figura 5.

Carbohidratos totales

En la concentración de carbohidratos totales hubo efecto significativo por el sexo $F_{(1, 41)}=17.9557$, $P=.0001$ siendo mayor la concentración de los machos, no hubo efecto por el tiempo de emersión o el tratamiento postcaptura. La concentración de carbohidratos totales en hembras varió de 4.8 a 7.1 y la de machos de 7.4 a 11.0mg/g. En ambos sexos no hubo diferencia significativa entre la concentración de referencia y la de los tratamientos ($P<0.05$).

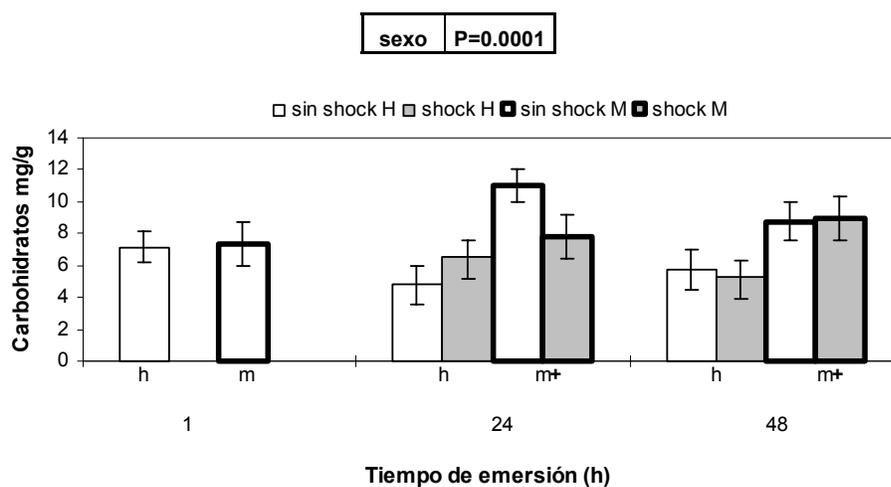


Figura 10. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de carbohidratos totales (mg/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones en pie de figura 3.

Bases volátiles totales (BVT)

En la concentración de BVT hubo efecto por el tratamiento postcaptura $F_{(1, 14)}=4.8389$, $P=0.045$, siendo menor la concentración de langostas sometidas a este tratamiento, no hubo efecto por el tiempo de emersión o el sexo. La concentración de BVT varió de 686.5 a 925.9 $\mu\text{mol/g}$. La concentración de BVT en langostas sometidas al shock térmico es significativamente menor que la de referencia ($P<0.05$).

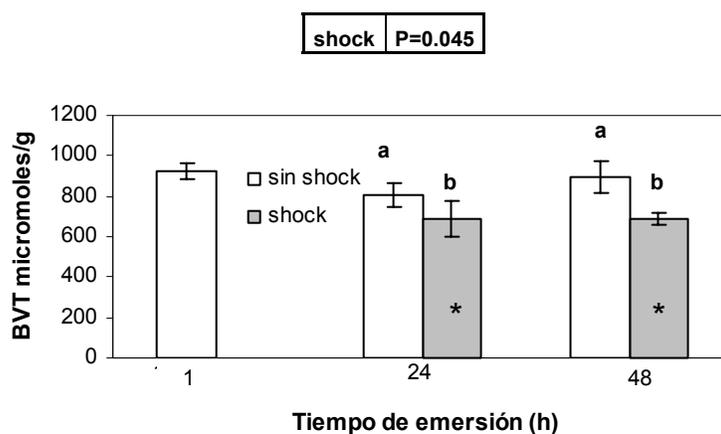


Figura 11. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de bases volátiles totales (BVT) en músculo de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones en pie de figura 1.

Trimetilamina (TMA)

En la concentración de TMA no hubo efecto por el tiempo de emersión, el tratamiento postcaptura o el sexo. La concentración varió de 13.8 a 14.5 $\mu\text{mol/g}$. No hubo diferencia significativa entre la concentración de referencia y la de los tratamientos ($P < 0.05$).

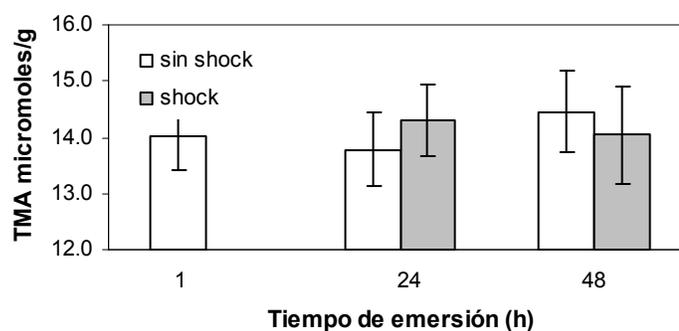


Figura 12. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de trimetilamina ($\mu\text{mol/g}$) en músculo de langostas con y sin shock térmico.

Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

En la concentración de TBARS no hubo efecto significativo por el tiempo de emersión, el tratamiento postcaptura o el sexo. La concentración de TBARS varió de 14.6 a 23.4nanomoles/g. No hubo diferencia significativa entre la concentración de los tratamientos y la de referencia excepto en la de langostas expuestas a 48 h de emersión sin shock térmico que fue menor ($P<0.05$).

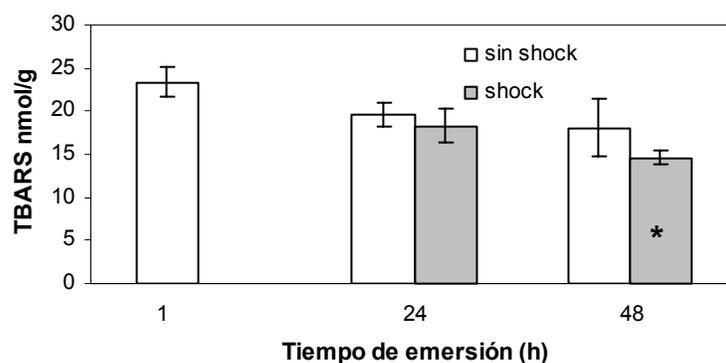


Figura 13. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (nmol/g) en músculo de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones en pie de figura 1.

Hepatopáncreas

Glucosa

En la concentración de glucosa hubo efecto significativo por el tiempo de emersión $F(1, 33)=4.90290$, $P=0.033$, siendo menor la concentración de langostas expuestas a 48h de emersión, hubo efecto por el sexo $F(1, 33)=15.85464$, $P=0.0003$ siendo menor la concentración de las hembras, no hubo efecto por el tratamiento postcaptura. La concentración de glucosa en hembras varió de 0.2 a 2.2 y en machos de 0.4 a 1.8mg/g. En las hembras, las concentraciones provenientes de las langostas sometidas a los tratamientos experimentales son menores que aquella de referencia, en los machos no hubo diferencia significativa entre la concentración proveniente de la referencia y la de los tratamientos ($P<0.05$).

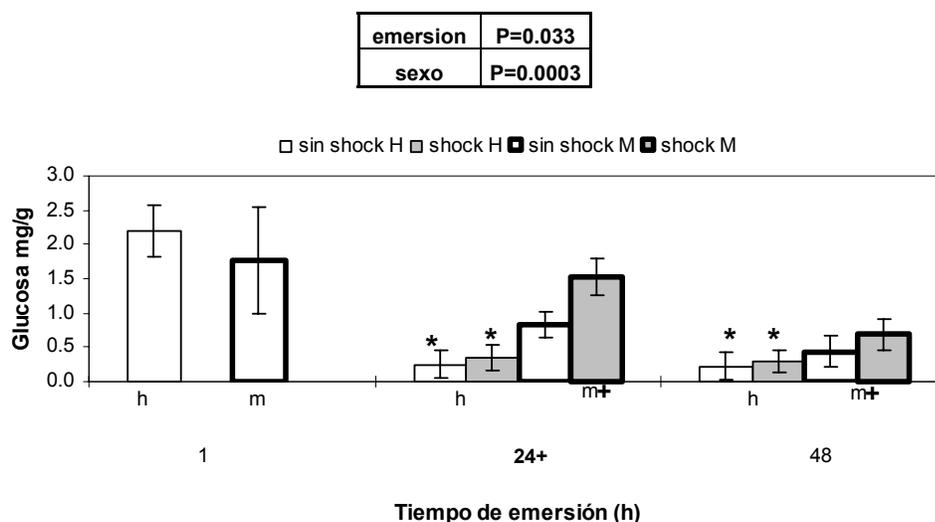


Figura 14. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucosa (mg/g) en hepatopáncreas de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones en pie de figura 3.

Lactato

En la concentración de lactato hubo efecto por el tratamiento postcaptura $F_{(1,32)}=8.14059$, $P=0.007$, hubo efecto por el sexo $F_{(1,32)}=9.71162$, $P=0.003$, hubo efecto por la interacción del tiempo de emersión y el tratamiento postcaptura $F_{(1,32)}=10.22545$, $P=0.003$ y hubo efecto por la interacción del tiempo de emersión, el tratamiento postcaptura y el sexo $F_{(1,32)}=21.06411$, $P=0.000$, siendo menor la concentración de machos sometidos al shock térmico solo cuando han sido expuestos a 24h de emersión, así mismo es menor la concentración proveniente de hembras que de machos en los 4 tratamientos. La concentración de lactato en hembras varió de 0.05 a 0.16 y en machos de 0.05 a 0.45mg/g. En las hembras, solo la concentración de langostas expuestas a 48h de emersión es significativamente mayor que la referencia, en los machos, no hubo diferencia significativa entre la concentración de referencia y la de los tratamientos ($P<0.05$).

shock	P=0.007
sexo	P=0.003
emersión & shock	P=0.003
emersión & shock & sexo	P=0.000

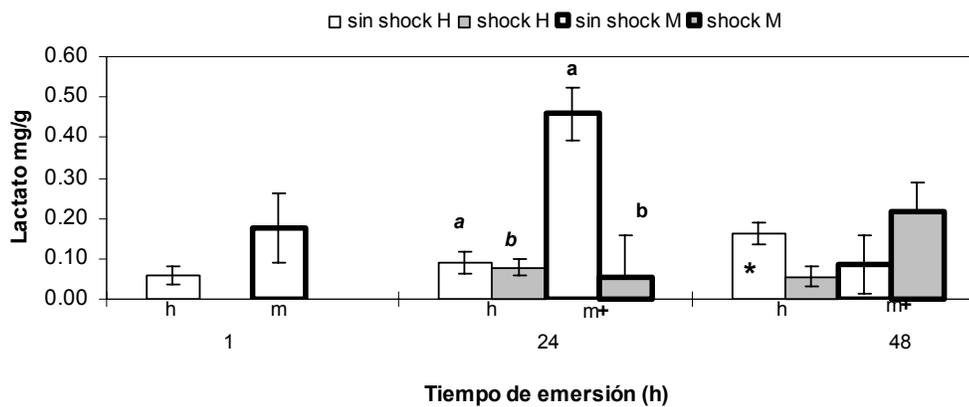


Figura 15. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de lactato (mg/g) en hepatopáncreas de langostas con y sin shock térmico. Indicaciones en pie de figura 3.

Glucógeno

En la concentración de glucógeno hubo efecto por la interacción entre el tiempo de emersión y el sexo $F_{(1, 37)}=4.711$, $P=0.036$ siendo mayor la concentración de langostas expuestas a 24h de emersión solo en hembras, no hubo efecto por el tratamiento postcaptura. La concentración de glucógeno varió de 2.5 a 3.5mg/g. La concentración de referencia es significativamente mayor que la proveniente de los tratamientos excepto aquella de langostas expuestas a 24h de emersión con el shock térmico ($P<0.05$).

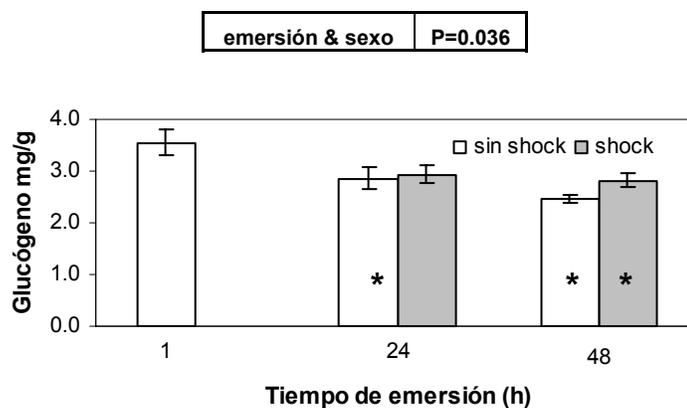


Figura 16. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de glucógeno (mg/g) en hepatopáncreas de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones en pie de figura 1.

Carbohidratos totales.

En la concentración de carbohidratos totales hubo efecto por el tiempo de emersión $F_{(1, 37)}=10.3604$, $P=0.002$ siendo menor la concentración de langostas expuestas a 48h de emersión, no hubo efecto por el tratamiento postcaptura o el sexo. La concentración de carbohidratos totales varió de 4.8 a 10.1mg/g. La concentración de referencia es significativamente mayor que la de los tratamientos excepto la de langostas expuestas a 24h de emersión con el shock térmico.

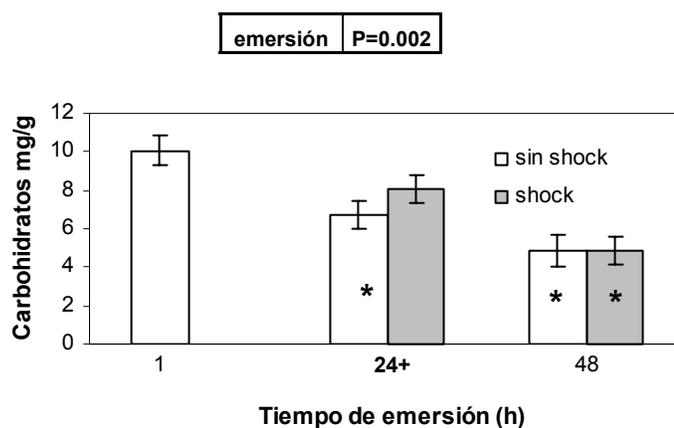


Figura 17. Efecto del tiempo de emersión sobre la concentración de carbohidratos totales (mg/g) en hepatopáncreas de langostas con y sin shock térmico. Ver indicaciones en pie de figura 5.

Discusión

Las variables fisiológicas utilizadas en este estudio comprenden una amplia gama de respuestas que intervienen en diversas funciones fisiológicas de la langosta roja. La discusión de estas variables primero se hace de manera aislada para posteriormente relacionarlas en el contexto de los demás resultados y la importancia de éstas en el contexto de la comercialización viva de *P. interruptus*.

Variables metabólicas

La concentración de glucosa (Figura 1) y lactato (Figura 2) en hemolinfa se incrementan por la emersión implicada en el transporte. Sin embargo el shock térmico atenuó esta respuesta dado que ya no se observan diferencias significativas con los valores de referencia y que si existen diferencias entre organismos con y sin shock térmico. Las langostas que no fueron sometidas al shock térmico sufrieron una hiperglicemia de 1.81 y 1.96 veces (24 y 48h respectivamente) comparadas con la referencia y las que si fueron sometidas al shock térmico de 1.2 veces cuando fueron emergidas por 24h y a 48h se observa un decremento del 25%. Este patrón, mas no la magnitud, concuerda con lo encontrado por Morris y Oliver (1999a) en *J. edwardsii* en donde utilizan un shock térmico similar (2 minutos en agua de mar a 5°C) y encuentran que las concentraciones de lactato y glucosa en hemolinfa durante 30h de emersión tienen un incremento de 0.07 a 1.5mmol/L (21.42 veces) de lactato y de 0.37 a 0.9mmol/L (2.43 veces) de glucosa, mientras que las langostas que no fueron

sometidas al tratamiento postcaptura no sobrevivieron más de 10h de emersión teniendo al término de este periodo una concentración promedio de lactato de 4mmol/L (57.14 veces) y de glucosa 1.3mmol/L (3.51 veces). Cabe señalar que *J. edwardsii* es una langosta espinosa muy similar en sus aspectos biológicos a *P. interruptus*. Los incrementos de glucosa en hemolinfa que se observan en los resultados (Fig. 1) sometidos a 24 y 48h emersión sin tratamiento postcaptura concuerdan con la hiperglicemia reportada en la literatura como consecuencia de la emersión y/o la manipulación o estrés para las especies de decápodos *P. ornatus* (Paterson et al., 1997), *P. cygnus* (Paterson y Spanoghe, 1997), *N. norvegicus* (Schmitt y Uglow, 1997b), *J. edwardsii* (Morris y Oliver, 1999a), *Maia squinado* (Durand et al., 2000), *Liocarcinus depurator* y *Munida rugosa* (Bergmann et al., 2001). Webster (1996) reporta niveles elevados de la hormona hiperglicémica (CHH) en respuesta a la emersión en hemolinfa de *Cancer pagurus*, excepto en aquellos animales previamente ablacionados y sugiere al igual que otros autores (Racotta y Palacios, 1998; Hall y Van Ham, 1998) la determinación de glucosa como un indicador de estrés. Durand et al., (2000) reportan que la hiperglicemia que se presenta en *Maia squinado* no es afectada por el sexo, la condición previa a la emersión, o la duración del periodo de emersión, y sugieren el uso de este metabolito como un buen indicador de estrés. Dentro de este contexto y a partir de las concentraciones de glucosa obtenidas en la hemolinfa en esta tesis se plantea que la hiperglicemia registrada en la hemolinfa de *P. interruptus* puede ser utilizada como un indicador de estrés por emersión y al tratamiento postcaptura como un método de minimizarlo. La

concentración de lactato en hemolinfa ha sido utilizada como un buen indicador de estrés o de emersión en una serie de crustáceos (Figura 18). Paterson et al., (1999a) relacionaron la concentración de lactato en hemolinfa con la supervivencia posterior de *Panulirus cygnus* después de haber sido sometidas a una simulación de transporte vivo encontrando que las langostas con concentraciones por arriba de 14mmol/L morían invariablemente, y que la mayoría de las sobrevivientes tenían concentraciones por debajo de los 4mmol/L. En esta tesis sólo se encontraron 5 langostas con una concentración por arriba de este valor (4mmol/L), de estas 2 fueron hembras en el tratamiento de 24h de emersión, otras 2 hembras en el de 48h y un macho en el de 48h, y no corresponden a animales que murieron posteriormente. Henry et al., (1994) mencionan que la concentración de lactato en hemolinfa de crustáceos “en descanso” es de 1mmol/L y que va de 2 a 25mmol/L cuando han sido ejercitados. Taylor y Waldron (1997) encuentran 1mmol/L de lactato en la hemolinfa de la langosta espinosa *Jasus edwardsii* a 17°C, dato que fue utilizado como control, elevándose este valor hasta 4.21mmol/L cuando han sido emergidas por 8 horas, siendo la mayor tasa de incremento de este metabolito entre 4 y 8h. Schmitt y Uglow (1997b) encontraron una mayor concentración de amonía, glucosa y lactato en la hemolinfa de *Nephrops norvegicus* cuando ha sido sometida a emersión y encontraron que el lactato y la amonía eran todavía mayores en aquellos organismos emergidos con baja humedad relativa durante 8 horas (lactato de 0.12 a 12.54mmol/L, 104.5 veces). La concentración de lactato en hemolinfa de *P. interruptus* disminuyó significativamente por efecto del shock térmico pero no se incrementó de manera

significativa por efecto del tiempo de emersión. Esto coincide con lo reportado por Morris y Oliver (1999a) en relación al efecto del shock térmico en este metabolito pero contrasta con el efecto debido a la emersión reportado para una serie de crustáceos (Figura 18). Las concentraciones de lactato encontradas en esta tesis son menores a la mayoría de los valores reportados para diferentes especies de langostas y para una serie de crustáceos bajo diversas condiciones experimentales. Esto indica que la langosta roja tiene la capacidad fisiológica para soportar mayores periodos de emersión que otras especies de langostas por lo que el uso de la concentración de lactato en hemolinfa como un indicador de estrés por emersión no es representativo para esta especie. En la Figura 18 se puede observar como la concentración de lactato en hemolinfa de *Panulirus interruptus* durante hipoxia progresiva (Ocampo et al., 2003) es mayor que la que se encontró en langostas con 48h de emersión en esta tesis y puede sugerir que la langosta roja posee algunos mecanismos y estrategias que le permiten sobrellevar el estrés mejor fuera del agua que en agua hipóxica. En el músculo (Figura 8) el efecto del shock térmico se puede apreciar claramente mostrando el mismo patrón que en la hemolinfa, esto es, el tratamiento postcaptura tiende a contrarrestar el incremento producido por la emersión. La acumulación de lactato puede ser muy variable entre especies muy parecidas filogenéticamente, por ejemplo, *Petrolisthes eriormerus* acumula lactato con 5h de emersión sin embargo *Petrolisthes cinctipes* decrece su lactato en el mismo periodo de tiempo, la diferencia radica en que en el hábitat de *P. eriormerus* sólo es expuesto al aire durante las mareas mas bajas de primavera y *P. cinctipes* se encuentra en la zona

intermareal en donde es expuesto cada marea baja (en ambas especies la concentración de lactato fue determinada en homogenizados de cuerpo completo) (Stillman y Somero, 1996). Morris y Oliver (1999a) mencionan que la tasa de incremento de lactato esta inversamente relacionada con la capacidad de tolerar la exposición aérea, sin embargo contrasta con los resultados encontrados en esta tesis ya que *P. interruptus* siendo un organismo submareal que no se encuentra expuesto al aire en su hábitat natural en su fase adulta, no acumuló lactato significativamente en el músculo ni el hepatopáncreas, incluso con 48h de emersión. Varley y Greenaway (1992) sometieron al portúnido *Scylla serrata* a 7 días de emersión y no encontraron incremento en la concentración de lactato por lo que sugieren que el animal mantuvo el metabolismo aeróbico. El mantenimiento de una concentración de lactato a pesar de la exposición aérea en *P. interruptus* se puede dar debido a diferentes razones: a que las langostas mantuvieron un intercambio de oxígeno en el aire y por lo tanto el metabolismo anaerobio no fue requerido para satisfacer sus necesidades energéticas; a que fue reciclado como sustrato gluconeogénico; a un secuestro de esta molécula por el exoesqueleto como en *Austropotamobius pallipes* (Jackson et al., 2001); o que la acumulación de éste se haya dado en algún tejido en alguna región de tejido no muestreada. Esto sugiere una movilización de glucosa que se observa en la concentración a 24h de emersión en el hepatopáncreas y posteriormente a 48h en el músculo. Henry et al., (1994) sugieren múltiples destinos metabólicos del lactato producido por el metabolismo anaerobio, menciona la gluconeogénesis a partir del lactato lo que es ventajoso funcionalmente pues reutiliza los esqueletos

carbonados ricos en energía para sintetizar glucosa, sin embargo el papel de esta ruta metabólica en el reciclamiento de lactato en crustáceos aun no es claro (Phillips et al., 1977; Oliveira y Da Silva, 1997; Hervant et al., 1999). Las reservas de glucógeno en el hepatopáncreas (Figura 16) disminuyen por efecto del periodo de emersión en relación a la referencia (31% de disminución en aquellas sin tratamiento postcaptura y 28% en aquellas con tratamiento postcaptura), sin embargo en músculo se observa el patrón inverso aumentando estas reservas (Figura 9). Cabe señalar que incluso en los datos provenientes de las concentraciones de glucosa en la hemolinfa de langostas sometidas al shock térmico y posteriormente al periodo de emersión en las que no hubo una hiperglicemia, también se observa un decremento de glucosa en el hepatopáncreas y el músculo de la misma magnitud que aquellas que no fueron sometidas al shock térmico previa emersión y que tuvieron una hiperglicemia. Paralelamente a la hiperglicemia encontrada en hemolinfa podemos observar un decremento significativo en la concentración de glucosa en músculo por efecto del tratamiento postcaptura y por el tiempo de emersión siendo menor la concentración a 48h. La concentración de proteína en la hemolinfa de *P. interruptus* no sufrió un efecto significativo por el periodo de emersión ni por el tratamiento postcaptura. En *Panulirus japonicus* se demostró un incremento en la concentración de proteínas por efecto de la emersión, independientemente de la temperatura a la que se lleva a cabo (Huang y Chen, 2001). En esta tesis se observa una diferencia significativa entre los machos y hembras que se atribuye a que cuando se realizó el experimento acababa de finalizar la temporada de

reproducción por lo que es de suponerse que las hembras no se encontraban en la misma condición nutricional que los machos debido al gasto energético reproductivo, considerando en este sentido a la concentración de proteína como un indicador de estado nutricional como se ha manejado en *Panulirus cygnus* y *Jasus edwardsii* (Paterson et al., 1999b; Musgrove, 2001). Sin embargo las concentraciones de proteína son elevadas (machos $119.55 \pm 20.62\text{mg/mL}$, hembras $92.93 \pm 11.81\text{mg/mL}$,) en comparación con *Jasus edwardsii* ($57.06 \pm 0.747\text{mg/mL}$) y *Panulirus japonicus* (60mg/mL) y de la misma magnitud que *Panulirus cygnus* ($93.2 \pm 5.5\text{mg/mL}$) (Huang y Chen, 2001; Jussila et al., 2001; Musgrove, 2001). Jussila et al., (2001) correlaciona el tiempo de coagulación y la concentración de proteína en la hemolinfa de *Panulirus cygnus* con el estrés (ejercicio provocado por manipulación en un tanque de agua) encontrando que a mayor estrés la concentración de proteína disminuye y el tiempo de coagulación aumenta. En ese estudio la concentración promedio de proteína en organismos cuya hemolinfa si coaguló en un periodo menor de 120 segundos fue de $92.93 \pm 11.81\text{mg/mL}$ y aquellos cuya hemolinfa no coaguló fue de $48.2 \pm 3.4\text{mg/mL}$. En este caso y en aquel de *Panulirus japonicus* (Huang y Chen, 2001) en el que la concentración de proteína aumenta se puede observar un efecto por la manipulación o emersión, sin embargo esto contrasta con lo reportado en camarones penéidos por Pascual et al., (2003) en el que concluye que los niveles de proteína en hemolinfa son afectados por el estado nutricional y no por la manipulación. En este sentido, los resultados obtenidos en *P. interruptus* en esta tesis apoyan la conclusión de Pascual et al., (2003) ya que no se encontró un

efecto significativo por ningún tratamiento en los niveles de proteína en la hemolinfa. Así mismo no se determinó ningún efecto sobre la concentración de hemocianina. En cuanto a los carbohidratos totales no se determinó un efecto o patrón significativo en ningún tejido.

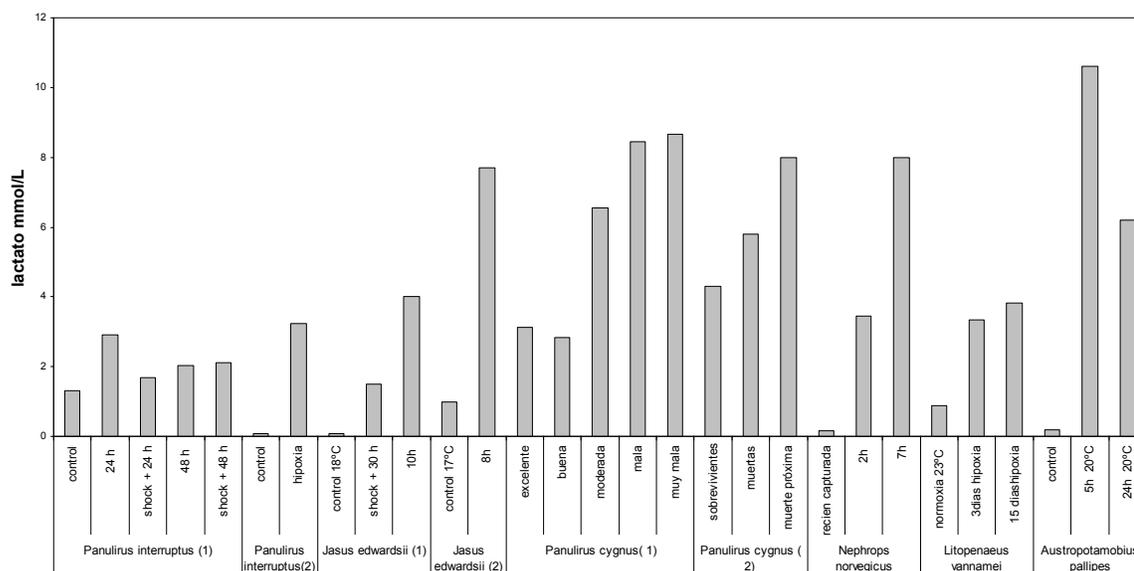


Figura 18. Concentración de lactato (mmol/L) en hemolinfa de decápodos sometidos a diferentes tratamientos. Se especifica la especie, el tiempo de emersión (h) y/o temperatura (°C). *Panulirus interruptus* (1) (este trabajo); *Panulirus interruptus* (2) (Ocampo et al., 2003); *Jasus edwardsii* (1) (Morris y Oliver, 1999a); *Jasus edwardsii* (2) (Taylor y Waldron, 1997); *Panulirus cygnus* (1) (Spanoghe y Bourne, 1999); *Panulirus cygnus* (2) (Paterson et al., 1999a); *Nephrops norvegicus* (Schmitt y Uglow, 1997b); *Litopenaeus vannamei* (Racotta et al., 2002); *Austropotamobius pallipes* (Jackson et al., 2001).

Excreción nitrogenada

La concentración de amonio en la hemolinfa de *P. interruptus* está directamente relacionada con el periodo de emersión, esto es, al aumentar el tiempo de emersión se incrementa la concentración de amonio en hemolinfa. Esta relación

ha sido observada en varias especies de crustáceos submareales que con fines de comercializarlos vivos son transportados sin agua. Este incremento se debe principalmente a la limitación en la excreción de amonio que sufren las branquias cuando son expuestas al aire. Esta limitante no se afectó por el tratamiento postcaptura ni por efecto del sexo lo que indica que la acumulación de este metabolito en hemolinfa está relacionado con la incapacidad que tiene la langosta roja para excretarlo consecuencia de la emersión y apoya su uso como un indicador fisiológico del estrés por efecto de emersión. La tasa de incremento en la acumulación de este metabolito para las langostas que no fueron sometidos al shock térmico fue de $10.97\mu\text{mol/L/h}$ (periodo de 0 a 24h) y de $19.29\mu\text{mol/L/h}$ (periodo entre las 24 y 48h). La tasa de incremento en las langostas que si fueron sometidas al shock térmico fue de $11.86\mu\text{mol/L/h}$ (periodo de 0 a 24h) y de $15.23\mu\text{mol/L/h}$ para el segundo periodo. Las concentraciones de NH_4 encontradas en hemolinfa de *P. interruptus* son similares en magnitud y tendencias a las que se reportan para una serie de crustáceos que han sido expuestos al aire bajo diferentes condiciones (Figura 19). Se puede observar que aquellas especies como *Carcinus maenas* que en su hábitat natural se encuentran expuestos periódicamente a la emersión no acumulan amonio. En cambio, existen otras especies de la zona submareal como *Necora puber* que cuando es emergida acumula elevadas cantidades de amonio de manera significativa, alcanzando tasas de acumulación hasta de $136\mu\text{mol/L/h}$ entre 4 y 8h de emersión (Durand y Regnault, 1998). Si bien ambas especies son portúnidos muy similares, excepto en su distribución vertical dentro de la zona costera, cabe señalar que *C. maenas*

sobrevive a periodos de 72h en emersión, mientras que *N. puber* no sobrepasa las 18h. Otra especie submareal que presenta tasas similares y que tiene una estrecha relación con la temperatura es el cangrejo araña *Maia squinado*. Este cangrejo submareal que es comercializado vivo tiene una tasa de acumulación de amonio en hemolinfa de $146\mu\text{mol/L/h}$ de 0 a 12h a 20°C llegando hasta a una concentración de $1850\mu\text{mol/L}$. Sin embargo la acumulación de amonio es prácticamente suprimida (tasa de $5\mu\text{mol/L/h}$) al disminuir la temperatura a 10°C en el mismo periodo de 12h de emersión, lo que le permite sobrevivir hasta 48h en emersión con una concentración de amonio menor de $1100\mu\text{mol/L}$ al término de ese periodo y una tasa de acumulación entre 12 y 48h de $23\mu\text{mol/L/h}$ (Durand et al., 2000). Con esto podemos pensar que la tasa de incremento de amonio está inversamente relacionada con la capacidad de tolerar la exposición aérea, excepto en aquellos cangrejos terrestres que tienen una alta tolerancia al amonio como estrategia adaptativa para sobrevivir en ese medio. Hay que considerar que la cantidad de amonio que pueda estar presente en la forma tóxica depende de la temperatura y del pH. La acidosis metabólica que se reporta para una serie de crustáceos consecuencia de la emersión puede tener efecto en la acumulación de esta tóxica molécula en la hemolinfa y por lo tanto influir en la supervivencia posterior del animal (Scmitt y Uglow, 1997a). En el caso de *P. interruptus* no se observa una disminución en la acumulación amonio a lo largo de los periodos de emersión lo que indica que probablemente no se formen otros compuestos nitrogenados como estrategia de desintoxicación por amonio, como puede ser urea, urato o ácido úrico (Regnault, 1987). Éste último proviene de la reacción

catalizada por la enzima xantina oxidasa que no se encuentra presente en la hemolinfa de *P. interruptus* (Ortiz-Rodríguez, 2002).

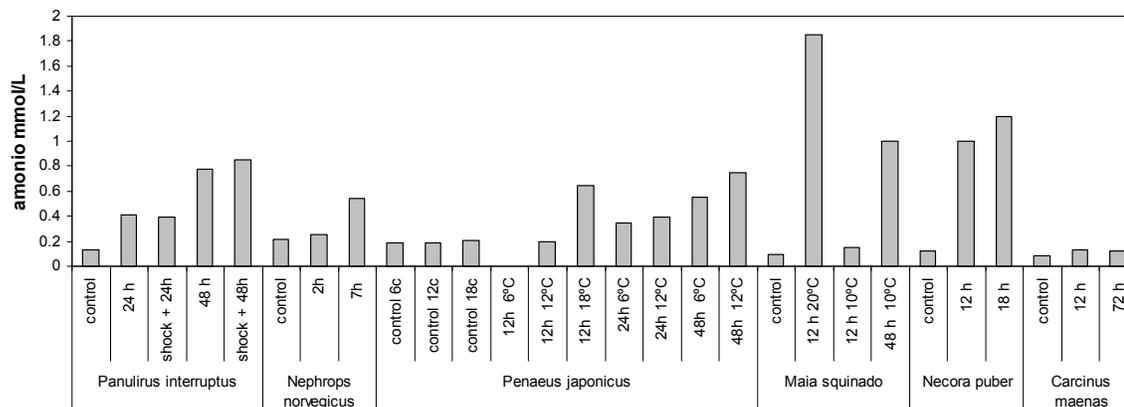


Figura 19. Concentración de amonio (mmol/L) en hemolinfa de especies de decápodos sometidos a diferentes tratamientos. Se especifica la especie, el tiempo de emersión (h) y/o la temperatura (°C) *Panulirus interruptus* (este trabajo); *Nephrops norvegicus* (Schmitt y Uglow, 1997b); *Penaeus japonicus* (Chen y Chen, 1998); *Maia squinado* (Durand et al., 2000); *Necora puber* y *Carcinus maenas* (Durand y Regnault, 1998).

A diferencia del comportamiento del amonio en la hemolinfa, la concentración de bases volátiles totales en músculo no tuvo un efecto por el tiempo de emersión sin embargo si sufrió un efecto debido al shock térmico siendo menor la concentración de las langostas sometidas a éste. Considerando que las BVT son consideradas como un indicador de frescura en mariscos, estos resultados apoyan el uso del tratamiento postcaptura. Las concentraciones de TMA tanto en músculo como en hemolinfa no están afectadas por los tratamientos experimentales. Esta molécula ha sido un indicador de calidad ampliamente utilizado en peces ya que tiene una relación directa con la descomposición además de ser la que provee un mal olor al producto. Su principal ruta de formación es mediante la acción de la TMAOasa

que no ha sido detectada en langostas, camarones o moluscos pectínicos (Shenouda, 1980), por lo que al menos su formación por esta ruta no es favorecida.

Estrés oxidativo

Las concentraciones de TBARS en el músculo no sufrieron un efecto ni por el periodo de emersión ni por el tratamiento postcaptura. Se puede observar un ligero decremento con respecto al periodo de emersión, sin embargo no estadísticamente significativo. Estos resultados no apoyan el uso de esta variable en músculo como un indicador de los tratamientos utilizados y concuerda con la correlación encontrada entre el tiempo de emersión y la concentración de esta molécula en extractos lisados de hemocitos de langostas rojas que fueron aclimatadas a 26°C antes de ser expuestas a 24h de emersión (Ortiz-Rodríguez, 2002). Las concentraciones encontradas en tejido muscular en esta tesis son relativamente bajas (media: 0.017nmol/mg) cuando son comparadas con aquellas provenientes de camarones (*L. vannamei*) que oscilan entre 26.93 ± 11.48 nmol/mg en condiciones normales y 60.63 ± 22.46 nmol/mg en condiciones de hipoxia (Ahuejote, comm. Pers).

Tratamiento postcaptura y desempeño fisiológico

En este estudio se determinó el efecto de un tratamiento postcaptura en el desempeño fisiológico determinado a partir de la supervivencia y variables metabólicas, de compuestos nitrogenados y de estrés oxidativo. A partir de los

resultados podemos observar que el tratamiento postcaptura que se utilizó permitió mantener algunas variables cercanas a los valores de referencia, lo que indicaría un menor grado de alteraciones fisiológicas que eventualmente se pueden traducir en menor deterioro de los sistemas biológicos del animal. Si consideramos al estrés como una alteración de la homeostasis fisiológica ejercida por algún factor entonces podemos considerar que el tratamiento postcaptura atenuó esta alteración y por lo tanto el estrés. Sin embargo el tratamiento postcaptura no incrementó la supervivencia de manera significativa como se había planteado. Esto puede indicar que la langosta roja posee algunos mecanismos fisiológicos que le permiten tolerar estas alteraciones en su homeostasis y poder soportar el estrés provocado por largos periodos de emersión. A partir de los resultados obtenidos en esta tesis podemos afirmar que la langosta roja *Panulirus interruptus* tiene la capacidad de soportar la exposición de aérea de manera eficiente. Sifuentes-Romero (2002) señala que la langosta roja puede mantener el equilibrio ácido-base en hemolinfa independientemente de la temperatura y sobrevivir periodos de emersión de por lo menos 24h sin daños irreversibles evidentes en branquias. Reiber y McMahon (1998) encontraron que la langosta *Homarus americanus* puede mantener el suministro de oxígeno durante condiciones de estrés como la hipoxia bombeando la hemolinfa exclusivamente a órganos vitales y disminuyendo el ritmo cardíaco y la actividad. Bouchet y Truchot (1985) plantean que el lactato puede funcionar como un modulador fisiológico para incrementar la afinidad de la hemocianina por el oxígeno en langostas bajo condiciones de hipoxia y Morris et al. (1985) señalan que existen factores de bajo

peso molecular que incrementan la afinidad de oxígeno independientemente de la concentración de lactato. En este trabajo no se observaron cambios en la concentración de hemocianina de la langosta roja, aunque se requiere determinar si cambios en la afinidad de este pigmento representan una estrategia para poder soportar largos periodos de emersión.

Acerca de la relación que tuvieron las diferentes variables estudiadas con el desempeño durante emersión y el efecto del tratamiento postcaptura podemos resumir que los efectos de estos factores tienen una incidencia marcada en algunas variables y que estas variables pueden ser utilizadas como indicadores de estos factores, ya sea de manera cualitativa o cuantitativa. Bajo el contexto del desempeño fisiológico podemos decir que este fue bueno ya que existió más del 90% de supervivencia de los organismos incluso en la reinmersión lo que nos dice que al menos pueden sobrevivir los tratamientos aplicados. Dentro del contexto de la comercialización en vivo estos parámetros pueden representar un mejor manejo de los organismos y por ende una mejor calidad y/o supervivencia que se puede ver reflejado en mayores divisas. El tratamiento postcaptura disminuye en un 100% el movimiento de las langostas de manera instantánea lo que favorece su manipulación para el embarque. Este tipo de tratamiento postcaptura es fácil y económicamente viable realizarlo en las cooperativas, ya que en sus instalaciones poseen cuartos fríos que les permiten enfriar el agua a 5°C, por lo que su uso es recomendado. Cabe señalar que algunas cooperativas ya manejan un tratamiento postcaptura que consiste en la inmersión por 3-5 segundos en agua a 5°C, sin embargo el agua utilizada no es marina por lo que es posible que exista un efecto

osmótico. Este estudio marca la pauta para el desarrollo de parámetros adecuados para realizar investigación acerca de diferentes técnicas de captura, almacenamiento en el mar, manejo, aclimatación, tratamientos postcaptura o pre-emersión, empaquetamiento, reinmersión.

Conclusiones

- La concentración de amonio en hemolinfa, la de glucosa y de lactato en hemolinfa y músculo son buenos indicadores del desempeño fisiológico bajo estas condiciones experimentales y se recomienda su aplicación a nivel comercial en el contexto de mejorar la calidad
- La concentración de glucosa, lactato y amonio en hemolinfa son buenos indicadores de estrés por emersión. El tratamiento postcaptura suprime por completo la hiperglicemia inducida por la emersión. En el caso del lactato la supresión se observó a las 24h pero no a las 48h. La concentración de amonio tiene una relación muy estrecha con el periodo de emersión. Sin embargo la concentración de amonio no fue afectada por el tratamiento postcaptura.
- La concentración de trimetilamina, hemocianina, proteína y TBARS no son buenos indicadores fisiológicos bajo las condiciones experimentales manejadas.
- La langosta roja no sufre un incremento en sustancias relacionadas con la peroxidación de lípidos (TBARS) en músculo bajo las condiciones experimentales a las cuales se le sometió en este trabajo.
- El shock térmico como tratamiento postcaptura es recomendado para disminuir la desviación de las concentraciones basales o estrés ocasionado por el transporte vivo y para facilitar el empaquetamiento.

Literatura citada

- Airries, C. y B.R. McMahon. 1996. Short-term emersion affects cardiac function and regional haemolymph distribution in the crab *Cancer magister*. *Journal of Experimental Biology* 199: 569-578
- Bergmann, M., A.C. Taylor y P.G. Moore. 2001. Physiological stress in decapod crustaceans (*Munida rugosa* and *Liocarcinus depurator*) discarded in the Clyde *Nephrops* fishery. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 193: 21-39
- Beckman, K.B. y B.N. Ames. 1997. Oxidative Decay of DNA. *Journal of Biological Chemistry* 272 (32): 19633-19636
- Bouchet, J.Y. y J.P. Truchot. 1985. Effects of hypoxia and L-lactate on the haemocyanin-oxygen affinity of the lobster, *Homarus vulgaris*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 80(1): 69-73
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254
- Briones-Fourzán, P. y E. Lozano-Alvarez, 2000. The Spiny lobster fisheries in México. En: *Spiny Lobsters Fisheries and Culture*. (Eds. B.F Phillips y J. Kittaka). Gran Bretaña. Fishing News Books. 677
- Chapman, A.G. y D.E. Atkinson. 1973. Stabilization of adenylate energy charge by the adenylate deaminase reaction. *Journal of Biological Chemistry* 248 (23): 8309-8312
- Chen, J.C. y J.S. Chen. 1998. Acid-base balance, ammonia and lactate levels in the haemolymph of *Penaeus japonicus* during aerial exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology* 121: 257-262
- Danford, A.R., L. Hagerman y R.F. Uglow. 2002. Effects of emersion and elevated haemolymph ammonia on haemocyanin-oxygen affinity of *Cancer pagurus*. *Marine Biology* 141: 1019-1027
- De Zwart, L.L., J.H.N. Meerman, J.N.M. Commandeur y N.P.E. Vermeulen. 1999. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 202-226

- Díaz-Arredondo, M.A. y S.A. Guzmán del Proo. 1995. Hábitos alimentarios de la langosta roja (*Panulirus interruptus* Randall, 1840) en Bahía Tortugas, Baja California Sur. *Ciencias Marinas* 21(4): 439-462
- Downs, C.A., J.E. Fauth y C.M. Woodley. 2001. Assessing the health of Grass shrimp (*Palaemonetes fungio*) exposed to Natural and Anthropogenic Stressors: A Molecular Biomarker System. *Journal of Marine Biotechnology* 3: 380-397
- Durand, F. y M. Regnault. 1998. Nitrogen metabolism of two portunid crabs, *Carcinus maenas* and *Necora puber*, during prolonged air exposure and subsequent recovery: a comparative study. *Journal of Experimental Biology* 201: 2515-2528
- Durand, F., N. Devillers, F.H. Lallier y M. Regnault. 2000. Nitrogen excretion and changes in blood components during emersion of the subtidal spider crab *Maia squinado* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology* 127: 259-271
- Farrelly C.A. y P. Greenaway. 1993. Land crabs with smooth lungs: Grapsidae, Gecarcinidae, and Sundathelphusidae ultrastructure and vasculature. *Journal of Morphology* 215: 245-260
- Farrelly, C.A. y P. Greenaway. 1994. Gas exchange through the lungs and gills in air-breathing crabs. *Journal of Experimental Biology* 187:113-130
- Fotedar, S., E. Tsvetenko y L.H. Evans. 2001. Effect of air exposure on the immune system of the rock lobster *Panulirus cygnus*. *Marine and Freshwater Research* 52: 1351-1355
- Furusho, S., Y. Umezaki, K. Isida y A. Honda. 1988. Changes in the concentration of ATP-related compounds and lactic acid in muscle of live prawn *Penaeus japonicus* during storage in sawdust. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54(7): 1209-1212
- Gade, G. 1983. Energy metabolism of arthropods and mollusks during environmental and functional anaerobiosis. *The Journal of Experimental Zoology* 228: 415-429
- Gerschman, R., D. Gilbert, S.W. Nye, P. Dwyer, y W.O. Fenn. 1954. Oxygen poisoning and X-irradiation: A mechanism in common. *Science* 119: 623-626

- Gómez-Jiménez, S., R.F. Uglow y T. Gollas-Galván. 2000. The effects of cooling and emersion on total haemocyte count and phenoloxidase activity of the spiny lobster *Panulirus interruptus*. *Fish and shellfish immunology* 10: 631-635
- Greenaway, P. y S. Morris. 1989. Adaptations to a terrestrial existence by the robber crab, *Birgus latro* L. III. Nitrogenous excretion. *Journal of Experimental Biology* 143: 333-346
- Hall, M.R. y E.H. Van Ham. 1998. The effects of different types of stress on blood glucose in the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. *Journal of the World Aquaculture Society* 29(3): 290-299
- Henry, R.P., C.E. Booth, F.H. Lallier y P.J. Walsh. 1994. Post-exercise lactate production and metabolism in three species of aquatic and terrestrial decapod crustaceans. *Journal of Experimental Biology* 186: 215-234
- Hermes-Lima, M., J.M. Storey y K.B. Storey. 1998. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. *Comparative Biochemistry and Physiology* 120: 437-448
- Hernández-López, J., T. Gollas-Galván, S. Gómez-Jiménez, G. Portillo-Clark y F. Vargas-Albores. 2003. In the spiny lobster (*Panulirus interruptus*) the prophenoloxidase is located in plasma not in haemocytes. *Fish and Shellfish Immunology* 14: 105-114
- Hervant, F., D. Garin, J. Mathieu y A. Freminet. 1999. Lactate metabolism and glucose turnover in the subterranean crustacean *Niphargus virei* during post-hypoxic recovery. *Journal of Experimental Biology* 202: 579-592
- Hsing-Chen, C., M.W. Moody y J. Shann-Tzong. 2002. Changes in biochemical and bacteriological quality of grass prawn during transportation by icing and oxygenating. *Journal of Food Science* 55(3): 670-673
- Huang, C.Y. y J.C. Chen. 2001. Effects of emersion on the haemolymph metabolites of the Japanese lobster, *Panulirus japonicus* (Decapoda:Palinuridea). *Crustaceana* 74(10):1041-1058
- Hunter, D.A. y R. F. Uglow. 1993. A technique for the measurement of total ammonia in small volumen of seawater and haemolymph. *Ophelia* 37(1): 31-40

- Jackson, D.C., T. Wang, P. Koldkjaer y E.W. Taylor. 2001. Lactate sequestration in the caparace of the crayfish *Austropotamobius pallipes* during exposure in air. *Journal of Experimental Biology* 204: 941-946
- Joanisse, D.R. y K.B. Storey. 1996. Oxidative stress and antioxidants in overwintering larvae of cold-hardy goldenrod gall insects. *Journal of Experimental Biology* 199: 1483-1491
- Jussila, J., J. Jago, E. Tsvetnenko, B. Dunstan y L.H. Evans. 1997. Total and differential haemocyte counts in western rock lobsters (*Panulirus Cygnus* George) under post-harvest stress. *Marine and Freshwater Research* 48: 863-867
- Jussila, J., S. McBride, J. Jago y L.H. Evans. 2001. Hemolymph clotting time as an indicator of stress in western rock lobster (*Panulirus cygnus* George). *Aquaculture* 199: 185-193
- Kuramoto, T. 1994. Spiking induced by cooling in the myocardium of the lobster *Panulirus japonicus*. *Journal of Experimental Biology* 197: 413-419
- Lehninger, A.L. 1994. Bioquímica. Omega. España. 2da. Edición. 1117
- Linton, S.M. y P. Greenaway. 1995. Nitrogenous excretion in the amphibious crab *Holthusiana transversa* under wet and dry conditions. *Journal of Crustacean Biology* 15(4): 633-644
- Luquet, C.M., C.O. Cervino, M. Ansaldo y V.C. Pereyra. 1998. Physiological response to emersion in the amphibious crab *Chasmagnathus granulata* Dana (Decapoda Grapsidae): Biochemical and ventilatory adaptations. *Comparative Biochemistry and Physiology* 121: 385-393
- Lyle, W.G. y C.D. MacDonald. 1983. Molt stage determination in the Hawaiian spiny lobster *Panulirus marginatus*. *Journal of Crustacean Biology* 3(2): 208-216
- MacMillen, R.E. y P. Greenaway. 1978. Adjustments of energy and water metabolism to drought in an Australian arid-zone crab. *Physiological zoology* 51(3): 230-239
- McCord, J.M. e I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry* 244: 6049-6055

- Morris, S., C.R. Bridges y M.K. Grieshaber. 1985. A new role for uric acid: modulator of haemocyanin oxygen affinity in crustaceans. *Journal of Experimental Zoology*. 235: 135-139
- Morris, S. 2001. Neuroendocrine regulation of osmoregulation and the evolution of air-breathing in decapod crustaceans. *Journal of Experimental Biology* 204: 979-989
- Morris, S. y S. Oliver. 1999a. Circulatory, respiratory and metabolic response to emersion and low temperature of *Jasus edwardsii*: Simulation studies of commercial shipping methods. *Comparative Biochemistry and Physiology* 122: 299-308
- Morris, S. y S. Oliver. 1999b. 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: 309-321
- Musgrove, R.J.B. 2001. Interactions between haemolymph chemistry and condition in the southern rock lobster, *Jasus edwardsii*. *Marine Biology* 139: 891-899
- Nauen, J.C. y R.E. Shadwick. 2001. The dynamic and scaling of force production during the tail-flip escape response of the California spiny lobster *Panulirus interruptus*. *Journal of Experimental Biology* 204: 1817-1830
- Ocampo, L., D. Patiño-Gutiérrez y C. Ramírez-Aburto. 2003. Effect of temperature on hemolymph lactate and glucose concentrations in spiny lobster *Panulirus interruptus* during progressive hypoxia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 296: 71-77
- Oliveira, G.T. y R.S.M. Da Silva. 1997. Gluconeogenesis in hepatopancreas of *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate-rich diets. *Comparative Biochemistry and Physiology* 118(4): 1429-1435
- Ortiz, D.V. 1996. Adaptaciones fisiológicas de la "Langosta roja" *Panulirus interruptus* para sobrevivir fuera del agua en relación al tiempo y temperatura de exposición aérea. Tesis de licenciatura. UABC. 70
- Ortiz-Rodríguez, R. 2002. Efecto del tiempo de emersión y de la temperatura de aclimatación en las adaptaciones fisiológicas del sistema inmune de *Panulirus interruptus*: Simulación de condiciones de transporte vivo. Tesis de licenciatura. UABCS. 62

- Palacios, E., A.M. Ibarra e I.S. Racotta. 2000. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 185: 353-371
- Pannunzio. T.M. y K.B. Storey. 1998. Antioxidant defenses and lipid peroxidation during anoxia stress and aerobic recovery in the marine gastropod *Littorina littorea*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 221: 277-292
- Pascual, C., G. Gaxiola y C. Rosas. 2003. Blood metabolites and hemocyanin of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. *Marine Biology* 142:735-745
- Paterson, B.D. 1993. The rise in inosine monophosphate and L-lactate concentrations in muscle of live penaeid prawns (*Penaeus japonicus*, *Penaeus monodon*) stressed by storage out of water. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 106(2): 395-400
- Paterson, B.D., G.W. Davidson y P.T. Spanoghe. 1999a. Identifying stress when western rock lobsters are stored out of water: the average and individual blood lactate concentration. Proc. International Symposium on lobster health management, Adelaide. Curtin University 35-41
- Paterson, B.D., G.W. Davidson y P.T. Spanoghe. 1999b. Measuring total protein concentration in blood of the western rock lobster (*Panulirus cygnus* George) by refractometry. Proc. International Symposium on lobster health management, Adelaide. Curtin University 110-115
- Paterson, B.D., S.G. Grauf y R.A. Smith. 1997. Haemolymph chemistry of tropical rock lobsters (*Panulirus ornatus*) brought onto a mother ship from a catching dinghy in Torres Strait. *Marine and Freshwater Research* 48: 835-838
- Paterson, B.D. y P.T. Spanoghe. 1997. Stress indicators in marine decapod crustaceans, with particular reference to the grading of western rock lobsters (*Panulirus cygnus*) during commercial handling. *Marine and Freshwater Research* 48: 829-834
- Patiño-Gutiérrez, D.G. 2002. Desempeño de la langosta roja, *Panulirus interruptus* Randall, 1840, durante hipoxia progresiva. Tesis de licenciatura. U. de G. 33

- Pérez-Enríquez, R., A. Vega, S. Avila y J.L. Sandoval. 2001. Population genetics of red spiny lobster (*Panulirus interruptus*) along the Baja California Peninsula, México. *Marine and Freshwater Research* 52: 1541-1549
- Persky, A.M., P.S. Green, L. Stublely, C.O. Howell, L. Zaulyanov, G.A. Brazeau, y J.W. Simpkins. 2000. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle *In Vivo* and *In Vitro*. *Proc. of the Society for Experimental Biology and Medicine* 223: 59-66
- Phillips, J.W., R.W. McKinney, F.J.R. Hird y D.L. MacMillan. 1977. Lactic acid formation in crustaceans and the liver function of the midgut gland questioned. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 56: 427-433
- Racotta, I.S. y R. Hernández-Herrera. 2000. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology* 125: 437-443
- Racotta, I.S. y E. Palacios. 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 29(3): 351-356
- Racotta, I.S., E. Palacios y L. Méndez. 2002. Metabolic response to short and long term exposure to hypoxia in white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Marine and Freshwater Behavior and Physiology* 35(4): 269-275
- Ramírez-Aburto, M.C. 2000. Metabolismo respiratorio y excreción de amonio de la langosta *Panulirus interruptus* Randall, 1840. Tesis de licenciatura. UAM. 32.
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and freshwater crustacea. *Biological Review* 62: 1-24
- Reiber, C.L. y B.R. McMahon. 1998. The effects of progressive hypoxia on the crustacean cardiovascular system: a comparison of the freshwater crayfish, (*Procambarus clarkii*), and the lobster (*Homarus americanus*). *Journal of Comparative Physiology B* 168:168-176
- Riley, J., D. Donahue, G. Ozbay y R. Bayer. 1996. Shipping and handling of live lobsters (*Homarus americanus*). En: *Marketing and shipping Live Aquatic Products*. E.U.A. 73-76

- Russell, D.F. y D.K. Hartline. 1982. Slow active potentials and bursting motor patterns in pyloric network of the lobster, *Panulirus interruptus*. *Journal of Neurophysiology* 48: 914-937
- Sadok, S., R.F. Uglow y S.J. Haswell. 1996. Determination of trimethylamine in fish by flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta* 321: 96-74
- Samet, M., K. Nakamura y T. Nagayama. 1996. Tolerance and respiration of the prawn (*Penaeus japonicus*) under cold air conditions. *Aquaculture* 143: 205-214
- Schmitt, A.S.C. y E.A. Santos. 1993. Behavior and haemolymphatic ionic composition of the intertidal crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea Decapoda) during emersion. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 106(2): 337-342
- Schmitt, A.S.C. y R.F. Uglow. 1997a. Effects of ambient ammonia levels on blood ammonia, ammonia excretion and heart and scaphognatite rates of *Nephrops norvegicus*. *Marine Biology* 127: 411-418
- Schmitt, A.S.C. y R.F. Uglow. 1997b. Haemolymph constituent levels and ammonia efflux rates of *Nephrops norvegicus* during emersion. *Marine Biology* 127: 403-410
- Seibel, B.A. y P.J. Walsh. 2002. Trimethylamine oxide accumulation in marine animals: relationship to acylglycerol storage. *Journal of Experimental Biology* 205: 297-306
- Shenouda, Y.K. 1980. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. *Advances in Food Research* 26: 275-311
- Sifuentes-Romero, I. 2002. Morfología de branquias y hepatopáncreas de la langosta roja *Panulirus interruptus* expuesta a emersión. Tesis de licenciatura. U. de G. 44
- Spanoghe, P.T. 1996. An investigation of the physiological and biochemical responses elicited by *Panulirus cygnus* to harvesting, holding and live transport. Ph d. Thesis. Curtin University. Australia. 378
- Spanoghe, P.T. y P.K. Bourne. 1999. Physiological profiles and vigour indices of lobsters (*Panulirus cygnus*) delivered to processing facilities. Proc. of the International Symposium on Lobster Health Management. Adelaide. Curtin University. 42-51

- Stillman J.H. y G.N. Somero. 2001. A comparative analysis of the evolutionary patterning and mechanistic bases of lactate dehydrogenase thermal stability in porcelain crabs, genus *Petrolisthes*. *Journal of Experimental Biology* 204: 767-776
- Stillman, J.H. y G.N. Somero. 1996. Adaptation to temperature stress and aerial exposure in congeneric species of intertidal porcelain crabs (genus *Petrolisthes*): correlation of physiology, biochemistry and morphology with vertical distribution. *Journal of experimental biology* 199: 1845-1855
- Sullivan, R.E., B.J. Friend, y D.L. Barker. 1977. Structure and function of spiny lobster ligamental nerve plexuses: evidence for synthesis, storage and secretion of biogenic amines. *Journal of Neurobiology* 8(6): 581-605
- Taylor, H.H. y F.M. Waldron. 1997. Respiratory responses to air-exposure in the southern rock lobster *Jasus edwardsii* (Hutton) (Decapoda:Palinuridae). *Marine and Freshwater Research* 48: 889-897
- Tornheim, K. y J.M. Lowenstein. 1973. The purine nucleotide cycle IV. Interaction with oscillations of the glycolytic pathways in muscle extracts. *Journal of Biological Chemistry* 248(8): 2670-2677
- Tovar, D. 1998. Estudio de la actividad superóxido dismutasa y peroxidasa de *Microcoleus chthonoplastes* (Oscillatoriaceae : Cianobacteria) Cepa SC7B9002-1 bajo estrés oxidativo. Tesis de Maestría. CICIMAR. 85
- Varley, D.G. y P. Greenaway. 1992. The effect of emersion on haemolymph acid-base balance and oxygen levels in *Scylla serrata* Forskal (Brachyura:Portunidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 163: 1-12
- Varley, D.G. y P. Greenaway. 1994. Nitrogenous excretion in the terrestrial carnivorous crab *Geograpsus grayi*: site and mechanism of excretion. *Journal of Experimental Biology* 190:179-193
- Vargas-Romero, 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. Tesis de licenciatura. UABCS. 41

- Vega, A., G. Espinoza y C. Gómez-Rojo. 1996. Pesquería de langosta. En: Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur, Vol. I. (Eds: M. Casa-Valdez y G. Ponce-Díaz). México. CIBNOR. 227-262
- Vega, A., Lluch-Belda, D. Muciño, M., León, M., Hernández, G. Lluch-Cota, S., Ramade, M. & Espinoza, G. 1997. Development perspectives and management of lobster and abalone fisheries off northwest México, under a limited access system. En: Developing and Sustaining World Fisheries Resources: The state of science and management. (Eds: D.A. Hancock, D.C. Smith, A. Grant and J. P. Beumer.). Victoria, Australia: CSIRO Publishing. 136-142
- Webster, S.G. 1996. Measurement of crustacean hyperglycaemic hormone levels in the edible crab *Cancer pagurus* during emersion stress. *Journal of Experimental Biology* 199: 1579-1585
- Winterbourn, C.C., T. Chan, I.H. Buss, T.E. Inder, N. Mogridge y B.A. Darlow. 2000. Protein Carbonyls and lipid peroxidation products as oxidation markers in preterm infant plasma: Associations with chronic lung disease and retinopathy and effects of selenium supplementation. *Pediatric Research* 48(1): 84-90
- Wright, P.A. 1993. Nitrogen excretion: Three end products, many physiological roles. *Journal of Experimental Biology* 198: 273-281
- Yancey, P.H.; M.E. Clark, S.C. Hand, R.D. Bowlus. y G.N. Somero. 1982. Living with water stress: Evolution of osmolyte systems. *Science* 217: 1214-1222

Anexo



Figura 20. Colocación de langostas en “recibas” después de la captura.



Figura 21. Inmersión de langostas por 1 minuto en agua marina a 5°C (Shock térmico)



Figura 22. Cajones de madera utilizados para la simulación del transporte